

© Н.В. Вохмянина<sup>1</sup>,  
И.П. Гаврилюк<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургское государственное казенное учреждение здравоохранения «Диагностический (медико-генетический) центр»;

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова Академии сельскохозяйственных наук, Санкт-Петербург

**Резюме.** Большинство современных исследований показывают хорошую переносимость овсов больными целиакией. Однако до сих пор считается возможным, что разные сорта овсов могут определять разные биологические и иммунологические свойства, влияющие на патогенез целиакии. Целью данного исследования было изучение двух сортов овсов с определением безопасных для здоровья больных целиакией. Наши данные определили разную иммуногенность этих овсов для больных целиакией. Это требует нового серологического тестирования на антиавениновые антитела для индивидуализации безглютеновой диеты.

**Ключевые слова:** целиакия; безопасные сорта овсов; сывороточное определение антител к авенинам.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ИММУНОГЕННОСТИ РАЗНЫХ СОРТОВ ОВСОВ У ДЕТЕЙ БОЛЬНЫХ ЦЕЛИАКИЕЙ С РАСШИРЕНИЕМ БЕЗГЛЮТЕНОВОЙ ДИЕТЫ

Целиакия (coeliacia; греч: koilikos — кишечный, страдающий расстройством кишечника; син.: глютенная болезнь, глютенная энтеропатия, нетропическая спру, болезнь Ги-Гертера-Гейбнера и др., англ. — coeliac disease; шифр по МКБ X-K 90.0) — хроническое, прогрессирующее заболевание, которое характеризуется пожизненным отсутствием толерантности к глютену, приводящим к развитию обратимой атрофической энтеропатии. Современные представления о патогенезе определяют целиакию (ЦЛ) как мультифакторное (комплексное, полигенное) заболевание, когда развитие болезни контролируется множественными взаимодействующими факторами как генетической, так и средовой природы. Совокупность многочисленных вариантов генетической экспрессии и средовых факторов дает сочетание большого количества малых эффектов, итогом которых является стойкая непереносимость глютена, определяющая развитие патологических иммунных процессов [1]. Глютен, являясь основным внешним триггером целиакии, относится к клейковинным белкам эндосперма зерна, предназначен для питания зародыша при его прорастании и состоит из сложной смеси водонерастворимых белков [5]. В зависимости от разновидности злака белки ржи получили название секалины, ячменя — гордеины, овса — авенины, кукурузы — зеины, риса — оризенины, пшеницы — глиадины. Для всех клейковинных белков характерно большое число повторяющихся аминокислотных последовательностей с преимущественным содержанием пролина и глутамина (проламины), которые являются токсичными для больных ЦЛ [6]. Такая гомология аминокислотных последовательностей соответствует систематической близости злаков, высокая степень которой была выявлена у белков пшеницы, ржи, ячменя, при наибольшей разнице в отношении риса, кукурузы и проса, наименьшей — в отношении овса. Это объясняет, помимо пшеницы, токсичность для больных целиакией ячменя, ржи и безопасность риса, кукурузы и проса. Возможность употребления в пищу овса больными целиакией обсуждается до сих пор, так как реакция на овес у больных целиакией неоднозначна [2]. Остается непонятным механизм разного иммунного ответа у больных целиакией на авенины овса, который является ключевым и может приводить к деструкции слизистой оболочки тонкого кишечника при его употреблении [3, 4].

### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести изучение разных сортов овса с определением безопасных (неиммуногенных) для возможности их последующего употребления в питании больных ЦЛ, большего разнообразия продуктов и лучшей социальной адаптации больных ЦЛ при пожизненном соблюдении безглютеновой диеты (БГД).

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследованы больные с установленным диагнозом «целиакия», находящиеся на безглютеновой диете (28 пациента) и группа сравнения (30 пациентов). Возрастная медиана составила  $7,8 \pm 5,6$  лет. В качестве контроля использовалась сыворотка человека без антиглиадиновых антител.

УДК: [616.34+616-056.7]-053.2

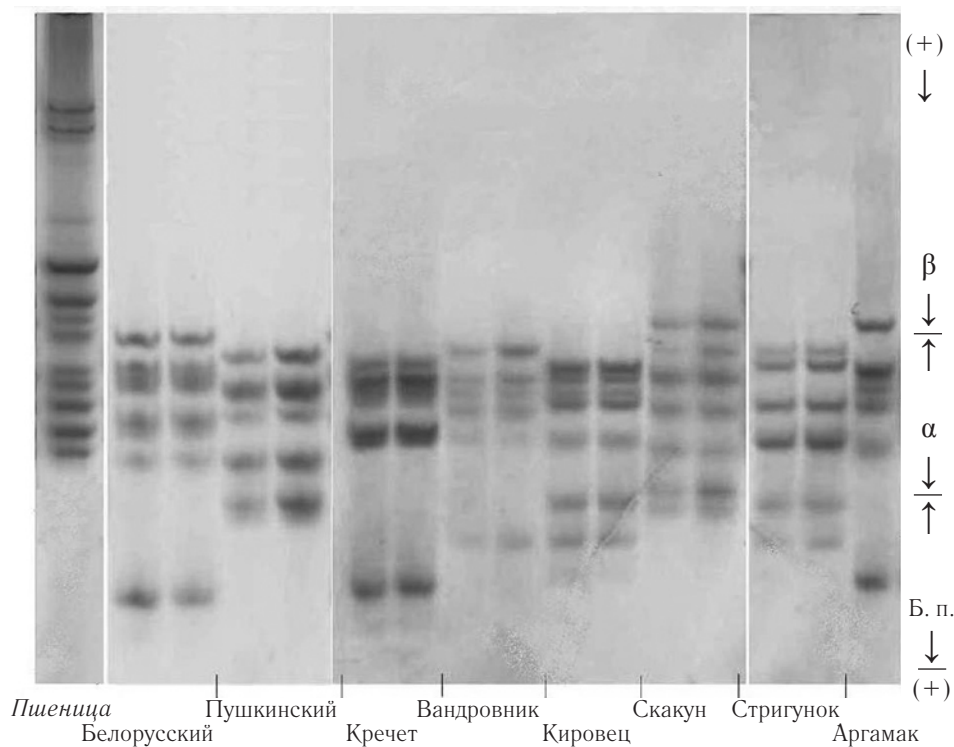


Рис. 1. Электрофореграммы глиадина пшеницы и авенинов различных сортов овса: α и β – фракции проламинов, Б.п. – фракция быстрых проламинов

Метод электрофореза проводился в кислом (рН=3,1) полиакриламиде для изучения компонентов и сортовой чистоты различных сортов овсов. Иммуноферментный анализ применялся для определения интенсивности иммунной реакции на авенины разных сортов овсов, которую выражали в оптической плотности (о.п.). В качестве антигена использовали очищенные фракции проламинов разных сортов овсов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Совместно со Всероссийским НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова предварительно были проведены исследования разных сортов овса для

определения состава фракций и компонентов, а также сортовой чистоты (рис. 1). Электрофоретический анализ авенинов исследованных сортов овса показал, что все сорта различаются по составу компонентов авенина, однако связи между компонентным составом и интенсивностью реакции с белками авенинов не было обнаружено. Результаты изучения фракций и компонентов авенинов у различных сортов овсов выявили такие сорта, у которых антигенные эпитопы резко отличались от глиадиновых и, что очень важно, не вызывали патологического иммунного ответа у больных ЦЛ (табл. 1), что согласуется с результатами зарубежных исследований [9].

Интенсивность иммунной реакции в группах сравнения и больных ЦЛ на разные авенины в оптической плотности (p<0,005) Таблица 1

Сорт овса	Интенсивность(IgG) реакции в о.п.	
	Больные целиакией	Группа сравнения
Пушкинский	0,38	0,23
Hja7603N	1,4	0,43
Rhiannon	0,47	0,1
Nuprine	1,4	0,43
Бер-3	1,17	0,33
Местный (Монголия)	>2,0	0,5
Таежник	1,5	0,17
Аргамак	0,3	0,1
Пшеница	>2,0	0,1

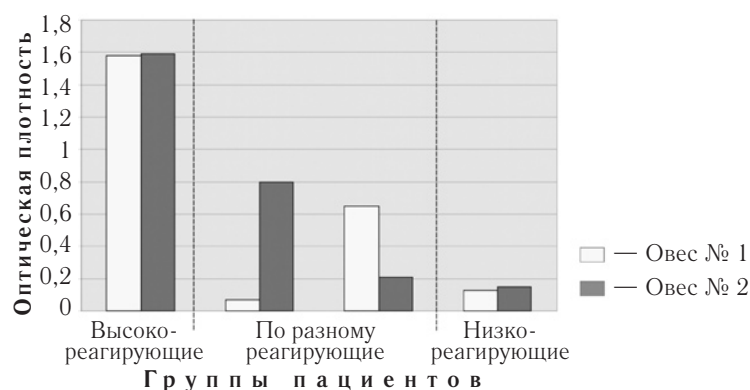


Рис. 2. Разная иммунная реакция на авенины овса у больных целиакией

95%-й доверительный интервал в группе сравнения составил 0,265 (0,201–0,377), порог отсеечения (cut-off)  $\geq 0,485$  о. п.

Таким образом, по результатам проведенного исследования не иммуногенными оказались такие сорта овсов, как Пушкинский, Рианнон и Аргмак. Для дальнейшего изучения были выделены «Пушкинский» (отечественная селекция) и «Аргмак» (зарубежная селекция), имеющие технологические преимущества для приготовления диетических продуктов. Обработка результатов, полученных в группе больных ЦЛ, выявила разную интенсивность реакции (рис. 2, табл. 2), что позволило выделить три группы пациентов:

- высоко реагирующие на оба сорта овса (42 %);
- высоко реагирующие только на один сорт овса (10 %);
- низко реагирующие на авенины (48 %).

Полученные результаты показали, что почти половина больных ЦЛ (48 %) не давала патологического иммунного ответа на авенины, но 52 % имела реакцию на овес, что подтвердило возможность разного иммунного ответа на авенины у больных ЦЛ.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что наследственная предрасположенность к целиакии в настоящее время определяется генами D-региона (DQA1, DQB1, DRB1) HLA-системы II класса, нарушение работы которых приводит к развитию патогенеза целиакии. Именно HLA-молекулы (DQ2, DQ8) определяют возможность представления и распознавания пептидов глютена Т-клетками, после чего происходит активация Т-клеток и формирование патологического иммунного ответа. Проведен-

ные генетические исследования показали, что почти все больные ЦЛ (99,3 %) экспрессируют эти гены, и они необходимы для манифестации ЦЛ. Сегодня HLA-гены признаны главными генами ЦЛ [8]. Однако наглядно показанная разная реакция на авенины у больных ЦЛ, не позволяет сделать такой же вывод, который установлен для представления глютена, определяющий однозначную токсичность глютена. Разный механизм ответной реакции на авенины может быть в настоящее время объяснен результатами, полученными полногеномным анализом ассоциаций (Genome Wide Association Studies — GWAS), выявившим ассоциированные с ЦЛ генетические изменения на уровне однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism, SNP). Такие маркерные (ассоциированные с ЦЛ) изменения в нуклеотидной последовательности SNP, как показали проведенные геномные исследования, могут влиять на экспрессию как близлежащего гена (*Cis*-eQTL), так и на экспрессию гена в любом другом генетическом локусе (*Trans*-eQTL) [10]. Изменения в экспрессии генов могут, помимо других изменений, менять цитокиновый и хемокиновый профили, что влечет за собой изменения в работе STAT/JAK-систем транскрипционного фактора NF-κB (ядерный фактор «каппа-би»; nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), контролирующих экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза, клеточного цикла. Такое формирование множества новых путей передачи сигналов, участники которых начинают взаимодействовать друг с другом, приводит к образованию уже не пути, а сети передачи сигналов. В этой сложной сети передачи сигналов могут формироваться разные нарушения, в том числе в представлении и распознавании таких антигенов, как авенины, антигенные эпитопы которых могут ошибочно восприниматься как глютенотопы. [7].

Нужно отметить, что разная иммунная реакция на авенины определяет целесообразность разработки диагностических тест-систем для определения антител к авенинам, что поможет провести индивидуализацию диеты больного целиакией. Так, в про-

Таблица 2

Результаты обследования больных целиакией на иммуногенность овсов

Пациенты, %	Интенсивность реакции IgG (о.п.)	
	Аргмак	Пушкинский
42	0,7–2,0	0,8–2,0
10	0,7–1,5	0,2–0,45
48	0,1–0,3	0,1–0,4

о.п. — оптическая плотность

веденном исследовании 48% больных ЦЛ могли расширить БГД без отрицательного воздействия авенинов на здоровье пациентов.

Кроме того, дальнейшее изучение сортовой коллекции овсов позволит определить группу нетоксичных для больных ЦЛ, с включением их в новые продукты, что существенно разнообразит диету и увеличит продуктовый ассортимент больных ЦЛ. Так, мука овса по ряду пищевых и технологических свойств не уступает пшеничной и может заменить ее в производстве, например, кондитерских изделий. Реализация производства таких продуктов будет способствовать развитию новой отрасли пищевой промышленности, обеспечивающей выращивание и переработку зерна нетоксичных сортов овса в специализированных хозяйствах, предназначенных для производства безопасных для здоровья больных ЦЛ продуктов.

## ВЫВОДЫ

1. Подтвержден разный иммунный ответ на авенины овсов у больных ЦЛ.
2. Выявлены нетоксичные для больных ЦЛ сорта овсов (Пушкинский и Аргмак).
3. Показана необходимость разработки и стандартизации тест-систем для определения антител к авенинам у больных целиакией с целью индивидуализации диетотерапии.
4. Включение в диетотерапию продуктов, содержащих нетоксичные авенины, будет способствовать селекции новых неиммуногенных сортов овсов и развитию производства новых продуктов питания, что положительно отразится на повышении социальной адаптации больных ЦЛ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Di Sabatino A., Corazza G.* Coeliac disease // *Lancet*. — 2009. — Vol. 373. — P. 1480–1493.
2. *Dickey W.* Making oats safer for patients with coeliac diseases // *Eur. J. Gastroenterol Hepatol*. — 2008. — Vol. 20. — P. 494–495.
3. *Guttormsen V., Løvik A. et al.* No induction of anti-avenin IgA by oats in adult, diet-treated coeliac disease // *Scand. J. Gastroenterol*. — 2008. — Vol. 43 (2). — P. 161–165.
4. *Haboubi N., Taylor N., Jones S.* Coeliac disease and oats: a systematic review // *Postgrad. Med. J.* — 2006 October. — Vol. 82 (972). — P. 672–678.
5. *Jonas F. Ludvigsson and Alessio Fasano* Timing of Introduction of Gluten and Celiac Disease Risk // *Ann. Nutr. Metab.* — 2012. — Vol. 60 (suppl 2). — P. 22–29.
6. *Koning F.* Toxicity of prolamins in celiac disease // *International Celiac Disease Meeting, Maribor*, 13–16 September. — 2007. — P. 49–54.
7. *Kumar V., Wijmenga C., Withoff S.* From genome-wide association studies to disease mechanisms: celiac disease as a model for autoimmune diseases // *Semin. Immunopathol.* — 2012. — Vol. 34. — P. 567–580.
8. *Lionetti E., Catassi C.* New Clues in Celiac Disease, Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Manifestations, and Treatment // *International Reviews of Immunology*. — 2011. — Vol. 30. — P. 219–231.
9. *Mazzarella G., Barone M., Gianfrani C. et al.* Immunogenicity of two oat varieties, in relation to their safety for celiac patients // *Scand. J. Gastroenterol.* — 2011, Aug 15. [Epub ahead of print].
10. *Trynka G., Wijmenga C., A van Heel D.* A genetic perspective on coeliac disease *Trends // Mol. Med.* — 2010. — Vol. 16 (11). — p. 537–550.

## CORRELATION OF IMMUNOGENICITY THE DIFFERENT OAT VARIETIES FROM CHILDREN WITH CELIAC DISEASE AND EXPANSION GLUTEN-FREE DIET

*Vokhmyanina N. V., Gavriluk I. P.*

◆ **Resume.** Most of the recent studies suggest that oats are well tolerated by celiac disease patients. However, it is still possible that different oat cultivars may display different biological properties relevant for celiac disease pathogenesis. The aim of this study was to investigate biological and immunological properties of two oat varieties, in relation to their safety for CD patients. Our data show different immunological properties of two oat varieties for celiac disease patients. It is necessary update on serologic testing for anti-avenin antibodies for individualization gluten-free diet.

◆ **Key words:** celiac disease; safe oat varieties, serologic.

## ◆ Информация об авторах

*Вохмянина Наталья Васильевна* — к. м. н., зав. лабораторией. СПб ГКУЗ Диагностический центр (медико-генетический). 194044, Санкт-Петербург, ул. Тобольская, д. 5. E-mail: spbnat@yandex.ru.

*Гаврилюк Инна Павловна* — д. б. н., профессор. Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова Академии сельскохозяйственных наук. 194000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д. 42-44. E-mail: saidakubalova@mail.ru..

*Vokhmyanina Natalya Vasilyevna* — PhD, Chief of Laboratory. St. Petersburg State medical establishment «Diagnostic Medical Genetic Center». 5, Tobolskaya St., St. Petersburg, 194044, Russia. E-mail: spbnat@yandex.ru.

*Gavriluk Inna Pavlovna* — MD, PhD, Professor, Department of Cereals. St. Petersburg Academy of Agricultural Sciences. 42-44, Bolshaya Morskaya St., St. Petersburg, 194000, Russia. E-mail: saidakubalova@mail.ru.