

Dr n. med.  
**Barbara  
Wróblewska**

Instytut Rozrodu  
Zwierząt i Badań  
Żywności PAN  
Oddział Nauki  
Żywności, Zakład  
Enzymów i  
Alergenów Żywności  
w Olsztynie

# WIELKA ÓSEMKA ALERGENÓW POKARMOWYCH

**Alergia pokarmowa stanowi coraz poważniejszy problem współczesnych społeczeństw, głównie państw wysoko rozwiniętych. Stwierdzono, że ok. 90% wszystkich IgE - zależnych alergii pokarmowych wywoływanych jest pod wpływem spożywania żywności bądź surowców pochodzących ze ściśle określonych źródeł. Sklasyfikowano 8 grup stanowiących główne źródła antygenów: mleko krowie, jaja, ryby, skorupiaki, orzechy, orzeszki arachidowe, soja i pszenica. W 1995 r. grupa ekspertów Food and Agriculture Organization pracująca w Stanach Zjednoczonych po raz pierwszy określiła te pokarmy jako najczęściej wywołujące alergię u ludzi na całym świecie. Lista ta została potwierdzona przez Codex Alimentarius Commission w 1999 r. i zyskała miano "Wielkiej ósemki". Ponad 160 innych rodzajów żywności i dodatków znacznie rzadziej wpływa na pojawienie się objawów alergicznych.**

## Alergeny mleka krowiego

Mleko krowie zawiera ok. 30 różnych białek o potencjalnym charakterze alergennym, stanowiących ok. 30-35 g masy w litrze. W wyniku koagulacji mleka prowadzonej przy użyciu chymozyny uzyskuje się dwie frakcje - kazeinę i białka serwatkowe, stanowiące odpowiednio ok. 80 i 20%. W skład kazeiny wchodzi cztery różne frakcje: a S1, a S2, b i k, tworzące micelle. Budowa miceli nie jest jednorodna. Część centralna ma charakter hydrofobowy, zaś część peryferyjną stanowią składniki hydrofilowe z wyeksponowanymi C-końcowymi fragmentami cząstek k-kazeiny. Poszczególne frakcje kazeiny mają zróżnicowaną budowę I-rzędową oraz charakteryzują się różnymi właściwościami funkcjonalnymi, a S1, a S2, b-kazeina są podatne na działanie jonów wapnia, zaś k-kazeina nie. Cząsteczka kazeiny jest odporna na działanie wysokich temperatur, ale wrażliwa na obecność proteinaz i egzoptydaz; łatwo ulega hydrolizie proteolitycznej podczas procesów trawiennych. Homologi kazeiny mleka krowiego występujące w mleku innych zwierząt, np. kozy czy kobyły, są w 80-90% identyczne pod względem budowy chemicznej, co wskazuje na bezzasadność wprowadzania tych rodzajów mleka do diety alergików (36). Jednoznaczne stanowisko w tej kwestii zajmują eksperci ESPACI i ESPGHAN, zabraniający stosowania zarówno mleka zwierząt innych gatunków niż krowa, jak i tzw. "częściowo" hydrolizowanych odżywek w przypadku reakcji alergicznych (11).

Pacjenci uczuleni na kazeinę są z reguły alergikami wrażliwymi na wszystkie cztery frakcje tego białka. Immunologiczna obrona organizmu wyrażająca się powstawaniem przeciwciał antykazeinowych klasy IgE wiąże się ze zjawiskiem reakcji krzyżowych pomiędzy epitopami poszczególnych frakcji kazeinowych. Stwierdzono, że jednym z epitopów o charakterze immunoreaktywnym oraz odpornym na procesy trawienne jest miejsce fosforylacji obecne w obrębie zarówno a S1, a S2, jak i b-kazeiny. Spuergin (32) opisał trzy sekwencje peptydowe (19-30, 86-103, 141-150), które reagowały z surowicami pobranymi od 15 alergicznych pacjentów. Peptydy te ulokowane były w hydrofobowym rejonie cząsteczki i dostępne dla przeciwciał dopiero wówczas, gdy kazeina ulegała denaturacji.

Wśród białek serwatkowych najsilniejszymi alergenami są b-laktoglobulina (b-Ig) i a-laktoalbumina (a-la). Białko b-Ig występuje w mleku krowim w postaci dimerów o masie 36 kDa. Jest reprezentowana przez dwie formy genetyczne, A i B, różniące się mutacjami w pozycjach 64 i 118 (forma A posiada w swoim składzie kwas aspartamowy i walinę, a forma B glicynę i alaninę). W cząsteczce znajdują się 2 mostki siarczkowe i 3 wolne grupy cysteinowe. Taka struktura pozwala na interakcje z kazeiną podczas stosowania procesów termicznych. b-Ig jest relatywnie odporna na hydrolizę kwasową i działanie proteaz, dlatego też w dużym stopniu pozostaje niestrawiona podczas obecności w układzie pokarmowym, głównie w śluzówce jelita. b-Ig należy do rodziny lipokalin, których charakterystycznymi cechami jest wiązanie i transfer hydrofobowych

ligandów oraz retinolu, a także wysoki potencjał alergenny. Bardzo korzystnym zjawiskiem jest możliwość wzbudzenia tolerancji organizmu poprzez podawanie niewielkich dawek antygeny w postaci np. wybranych zhydrolizowanych frakcji b-Ig. Pecquet (26) opisała doświadczenie przeprowadzone na myszach Balb/c, którym podawano trypsynowy hydrolizat b-Ig. Pomiaru uzyskanej tolerancji dokonano poprzez określenie miana specyficznej IgE w surowicach i próbach treści jelitowej. Stwierdzono, że częściowo zhydrolizowany produkt ma zdolność pobudzania tolerancji organizmu, zaś hydrolizaty o głębokim stopniu hydrolizy, składające się z aminokwasów, nie posiadają takich właściwości. b-Ig nie występuje w naturalnym mleku krowim, ale może być wykryta jako zanieczyszczenie obecne w wyniku diety, w składzie której znajduje się mleko krowie.

Białko a-Ia jest monometrycznym globularnym białkiem serwatkowym składającym się ze 123 reszt aminokwasowych z 4 mostkami siarczkowymi o masie cząsteczkowej wynoszącej 14,4 kDa. b-Ig wykazuje silne powinowactwo z wiązaniem jonów wapnia, które mają zdolność stabilizowania II-rzędowej struktury białka. a-Ia stanowi składnik systemu enzymatycznego transferazy galaktozydowej odpowiedzialnej za proces syntezy laktozy. a-Ia pochodząca z mleka krowiego wykazuje duże podobieństwo w budowie do a-Ia pochodzenia ludzkiego. W badaniach na zwierzętach stwierdzono (10), że najsilniejszy antygenowy region stanowi pętla aminokwasowa znajdująca się pomiędzy aminokwasami (60-80): S-S: (91-96). Sekwencje aminokwasowe ze zdolnością do wiązania IgE są również ułożone w silnie hydrofobowym rejonie cząsteczki a-Ia, np. pomiędzy 99 i 108 aminokwasem, gdzie antygenowość praktycznie jest trudna do przewidzenia, a także w rejonie cząsteczki 17-58 i 108-123, o dużym stopniu podobieństwa do ludzkiej a-Ia i na poziomie odpowiednio 81% i 87%.

Badania Jarvinen i współpracowników dotyczące problemu identyfikacji pacjentów z utrzymującą się długotrwałą postacią alergii na mleko oraz pacjentów cierpiących na przemijającą formę tejże choroby pozwoliły na sformułowanie pewnych wniosków. Stwierdzono, że pięć epitopów wiążących się z receptorami IgE, tj. dwa znajdujące się na powierzchni aS1-kazeiny, jeden aS2-kazeiny i dwa na k-kazeinie, nie są rozpoznawalne przez układ immunologiczny pacjentów, którzy są dotknięci krótkotrwałą formą alergii na mleko. Obecność przynajmniej jednego z trzech epitopów, tj. 123-132 a S1-kazeiny, 171-180 aS2-kazeiny i 155-164 k-kazeiny, może świadczyć o formie długotrwałej alergii na mleko (13).

## Alergeny jaja

Jaja są często spożywane przez ludzi i stanowią drugi w kolejności po mleku krowim, pokarm obcogatunkowy wprowadzany do diety dziecka. Najwięcej uczuleń na jajko spotyka się w 4+5 roku życia, raczej nie później niż w pierwszej dekadzie. Jajo składa się w 56-61% z białka i w 27-32% z żółtka, resztę stanowi skorupka (ok. 8-12%). Białko jaja to głównie woda (ok. 88%) i część białkowa (~ 10%), która stanowi najważniejsze źródło alergenów. Żółtko zaś składa się z wody (50%), lipidów (34%) i białka (16%). Stosując wiele metod badawczych (western blot, krzyżowa radio-immunoelektroforeza, dot-blot) stwierdzono, że najczęściej uczulającym białkiem jest owotransferyna (53%), owomukoid (38%), owoalbumina (32%) oraz lizozym (15%). Wśród białek obecnych w żółtku jaja zwraca uwagę a-liwityna, która może uczulać poprzez drogi oddechowe (29). Owomukoid (Gal d 1) to glikoproteina, o masie cząsteczkowej 28 kDa, składająca się z 186 reszt aminokwasowych. Stanowią one trzy podwójne domeny reagujące jako natywne białka globularne.

Owoalbumina (Gal d 2) jest monometryczną fosfoglikoproteina o masie cząsteczkowej ~ 43+45 kDa, zbudowaną z 385 aminokwasów. Wyizolowano trzy rodzaje owoalbuminy: A1, A2, A3, różniące się liczbą grup fosforowych w cząsteczce (A1 - dwie grupy, A2 - jedna grupa, A3 - bez grupy fosforowej). Z reguły 100% badanych pacjentów-alergików uczulonych na jajo kurze wykazuje pozytywną reakcję na obecność owoalbuminy (15, 16). Owotransferyna (konalbumina, Gal d 3) to białko o masie cząsteczkowej 77 kDa, zbudowane z 686 aminokwasów. Wykazuje właściwości antymikrobiologiczne oraz ma zdolność wiązania jonów żelaza. Badania Langelanda (16) udowodniły, że na 68 przebadanych surowic pacjentów uczulonych na alergen jaja, 48 reagowało pozytywnie na obecność owomukoidu, a 35 na owotransferynę.

Apowitelina jest alergenem wyizolowanym z frakcji lipoproteinowej żółtka jaja kurzego. Stwierdzono, że apowitelina I i VI są głównymi alergenami jaja (37). Do alergenów o mniejszym znaczeniu immunologicznym zalicza się lizozym, owomucynę i foswitynę. Lizozym (Gal d 4) jest białkiem zbudowanym z 129 aminokwasów o masie cząsteczkowej 14,3 kDa. Pojedynczy polipeptydowy łańcuch jest połączony czterema

mostkami siarczkowymi. Dane dotyczące alergenicności tego białka nie są jednoznaczne. Alergia na jaja może być również chorobą zawodową pracowników zatrudnionych w przetwórstwie jaj. Pomiary stężenia alergenu w pomieszczeniach zakładu pracy wskazywały na ich obecność zarówno w miejscu bezpośredniego kontaktu w obrębie linii technologicznych, jak i w przyległych pomieszczeniach biurowych. Dlatego też zalecany jest środowiskowy monitoring stężenia alergenu jaja w przetwórnictwie (39).

## Alergeny ryb

Alergia spowodowana spożywaniem ryb odegrała historyczną rolę w pionierskich badaniach dotyczących tzw. opacznych reakcji organizmu. To właśnie białko wyizolowane z tkanki mięsnej ryb posłużyło Prausnitzowi i Kustnerowi do udowodnienia istnienia w surowicy krwi czynnika, który wiele lat później zdefiniowano jako immunoglobulinę klasy IgE. Białko to było pierwszym alergenem, którego sekwencja aminokwasowa została opisana, a alergen nazwano Cod M, zapoczątkowując tym samym stosowanie nowej nomenklatury dla alergenów. W późniejszej systematyce nazwę zmieniono na Gad c1. Alergia na ryby zdarza się częściej w krajach, gdzie spożycie ryb jest wyższe (Norwegia, Japonia) niż obserwowane przeciętnie w pozostałych państwach. Gad c 1 jest głównym alergenem, który został wyizolowany z tkanki mięsnej dorsza i sklasyfikowany jako parwalbumina. Białka należące do tej grupy kontrolują ruch jonów wapnia z i do komórki. Stwierdzono ich obecność w mięśniach ryb (0,05-0,1%) i gadów. Obecność białka zbliżonego w swojej strukturze do Gad c 1 została potwierdzona w tkance mięsnej innych gatunków ryb, np. karpia czy szczupaka. Masa cząsteczkowa alergenu Gad c 1 wynosi 12,3 kDa. Jest on zbudowany ze 113 reszt aminokwasowych i jednej cząsteczki glukozy. Trzeciorzędowa struktura obejmuje trzy domeny: AB, CD i EF, z czego dwie ostatnie odpowiadają za transfer jonów wapnia w komórce. Stwierdzono przynajmniej pięć miejsc wiązania IgE uwidocznionych w strukturze Gad c 1. (5), przy czym dominującą rolę odgrywa arginina znajdująca się w pozycji 75. Cząsteczka glukozy ulokowana obok Cys-18 nie ma wpływu na alergenicność całego związku. Hydroliza z trypsyną pozwoliła na wskazanie bardzo aktywnego miejsca o charakterze alergennym (33-44) oraz miejsca o słabszym potencjale (88-96). Wyizolowano również białka w mniejszym stopniu odpowiedzialne za alergenicność ryb. Są to Ag-17-cod, siarczan protaminy oraz białko o masie cząsteczkowej 63 kDa wyizolowane podczas prac badawczych nad surimi (20). Bieżące doniesienia literaturowe wskazują na wyizolowanie nowego alergenu z ekstraktu uzyskanego ze świeżego mięsa dorsza - o masie cząsteczkowej 41 kDa, który jest homologiem dehydrogenazy aldehydowo-fosforanowej (3). Jedne z ostatnich badań pozwoliły na wyizolowanie i scharakteryzowanie cDNA kodującego parwalbuminę karpia, dzięki zastosowaniu immunoskriningu biblioteki białek mięśni karpia. Uzyskane klony mogą być korzystnym narzędziem w diagnozowaniu in vitro i in vivo alergii wywoływanej przez ryby (34).

## Alergeny skorupiaków

Spożywanie skorupiaków w Polsce ogranicza się do szczególnych okazji i nie jest powszechne. Na świecie jednak stanowi to istotny problem, że skorupiaki trafiły na listę "wielkiej ósemki" jako rodzaj pożywienia o wysokim potencjale alergennym. W Stanach Zjednoczonych rozróżnia się ok. 30 jadalnych gatunków skorupiaków, m. in. krewetki, kraby, langusty i raki. Alergeny krewetki należą do najlepiej scharakteryzowanych. Dwa pierwsze alergeny (Antygen I i II) zostały wyizolowane i opisane przez Hoffmana (9). Antygen I jest dimerem o masie cząsteczkowej 45 kDa, zbudowanym ze 189 reszt aminokwasowych i 0.5% węglowodanów. Wyizolowano go z surowych krewetek i ekstraktów panczerzyków. Antygen II wyekstrahowano z gotowanych krewetek jako kwasową, stabilną termicznie glikoproteinę o masie cząsteczkowej 38 kDa, zbudowaną z 341 reszt aminokwasowych i 4% węglowodanów. W późniejszych badaniach Nagpala (21) opisano również dwa alergeny, które nazwano SA-I (o masie cząsteczkowej 8,2 kDa) i SA-II (o masie cząsteczkowej 34 kDa), zaś Dual (1992) wyizolował alergeny Pen a 1 z gotowanych krewetek (*Panaeus aztecus*) o masie cząsteczkowej 36 kDa i Pen i 1 (*Panaeus indicus*). Porównując skład aminokwasowy alergenów Pen a 1, Antygenu II i Sa-II, stwierdzono znaczne ich wzajemne podobieństwo i określono to białko tropomiozyną krewetkową. Oszacowano, że spożycie 1÷2 krewetek średniej wielkości jest w stanie pobudzić reakcję anafilaktyczną u uczulonych osób. Uczulenia na alergeny krabów zauważono głównie w środowiskach

zawodowo związanych z przetwarzaniem mięsa krabów. Reakcje IgE-zależne dotyczą głównie ekstraktów uzyskanych podczas gotowania krabów, nie zaś podczas kontaktu z surowcem w stanie nieprzetworzonym. Wyizolowano białko o ciężarze molekularnym w zakresie 37-42 kDa, poddając analizie SDS - PAGE wodę po gotowaniu krabów bądź ekstrakt gotowanego mięsa krabów. Tropomiozyna została również określona jako alergen langusty, Pan s 1 (*Panulirus stimpsoni*) i Hom a 1, homara amerykańskiego (*Homarus americanus*). Obydwa te białka zostały sklonowane, przebadano ich sekwencje i stwierdzono, że są homologiczne do alergenu krewetki Pen a 1 (33). Zastosowanie nowoczesnej techniki laboratoryjnej pozwoliło na poznanie biblioteki cDNA kraba *Chabrydis feriatas*, którą poddano skринingowi z surowicami pacjentów uczulonych na mięso krabów, z dobrze udokumentowanym mechanizmem powstawania reakcji I-rzędowej. Wybrano klony, które poddano ekspresji w organizmie *Escherichia coli*. Wyprodukowano rekombinowany alergen Ch f 1 o masie cząsteczkowej 31 kDa, który reagował z przeciwciałami klasy IgE alergików cierpiących w wyniku spożywania mięsa krabów. Badana tropomiozyna Ch f 1 wykazała znaczną homologię z tropomiozyną krewetki (18).

## Alergeny orzechów

Grupa ta obejmuje orzechy rosnące na drzewach w różnych strefach klimatycznych, m. in. migdały, orzechy brazylijskie, orzechy laskowe czy pistacje. Poltonieri i wsp. (27) przeprowadzili badania mające na celu określenie frakcji białkowych odpowiedzialnych za reakcję alergiczną na migdały. Wykorzystano surowicę pacjentów uczulonych na migdały. Stwierdzono, że alergenami są dwa białka, zidentyfikowane jako 2S albumina (homologiczna pod względem budowy z alergenem orzecha włoskiego Jug r 1), oraz konglutyna gamma w 60% homologiczna z konglutyną gamma nasion łubinu *Lupinus albus* i z białkiem 7S soi *Glycine max*. Obydwa alergeny migdałów reagowały krzyżowo z alergenami orzechów włoskich i laskowych. Orzechy brazylijskie także posiadają w swojej strukturze białka o potencjale alergennym. Najsilniejszym alergenem jest białko 2S albumina o masie cząsteczkowej 9 kDa (Ber e 1), o dużej zawartości metioniny, składające się z dwóch podjednostek (każda zbudowana z 77 reszt aminokwasowych). Analizując IgE uczulonych na orzechy pacjentów stwierdzono, że ich surowica reaguje także ze składnikami o masach cząsteczkowych 25 i 58 kDa, które stanowią alergeny o mniejszym znaczeniu klinicznym (24).

Najwięcej uczuleń w Europie wśród reakcji na orzechy jest spowodowanych spożywaniem orzechów włoskich (*Corylus avallena*). W wielu ośrodkach naukowych trwają badania dotyczące określenia białek alergennych. Pierwszym, głównym alergenem orzecha włoskiego, wyizolowanym przez Hirschwehra (8), był alergen Cor a 1 o masie cząsteczkowej 17 kDa, który reagował w 100% z IgE z surowic pacjentów uczulonych na ten gatunek orzecha. Rozpoznano także jeszcze jeden alergen o masie cząsteczkowej 14 kDa, który był profiliną pyłkową, a pozytywne reakcje wykazało wówczas 16% z 25 przebadanych pacjentów. Badania z roku 2002 (25) potwierdziły istnienie dwóch alergenów - 18 kDa i 14 kDa, które są homologami odpowiednio alergenów pyłków brzozy Bet v 1 i Bet v 2. Stwierdzono także istnienie innych alergenów: 9 kDa, najprawdopodobniej należący do grupy LTP (Lipid-transfer protein, białka transportujące lipidy); 32 kDa - należące do 2S albumin, 35 kDa określone jako legumina i 47 kDa - glikoproteina. Beyer (2002) wykonał badania pyłku drzew orzecha włoskiego; stosując dwukierunkowy proteomics (PAGE i analiza immunometryczna) wyizolował białko o masie cząsteczkowej 40 kDa, które zidentyfikował jako Cor a 9. Białko to zaliczane jest do 11S globulin, tzw. białek przechowalniczych. Jest to pierwszy alergen orzecha włoskiego który został wyizolowany, poznano jego dokładną sekwencję aminokwasową i przygotowano jego bibliotekę cDNA w oparciu o charakterystykę oligonukleotydów, co może stanowić bazę do wyprodukowania alergenu rekombinowanego, aby móc w przyszłości zastosować te odkrycia w swoistej immunoterapii. Poznanie struktury epitopów pozwoliło na stwierdzenie ich podobieństwa do alergenu orzeszków ziemnych Ara h 3 i soi, co może być pomocnym narzędziem w przewidywaniu reakcji krzyżowych (1). Badania Luttkopfa (19) pozwoliły na uzyskanie czterech rekombinowanych wariantów głównego alergenu orzechów włoskich, a następnie porównano ich immunoreaktywność z głównym alergenem pyłkowym orzecha włoskiego, wykorzystując surowicę pacjentów uczulonych na ten rodzaj orzecha. Analizę RNA orzecha i transkrypcję do cDNA przeprowadzono przy wykorzystaniu techniki PCR, zaś reaktywność względem IgE testowano stosując metody ELISA, EAST, immunoblotting i test wydzielania histaminy.

Wariant rekombinowanego alergenu Cor a 1.04 o niskim poziomie wiązania IgE zaproponowano jako składnik mogący być czynnikiem do specyficznej immunoterapii w alergii na białko orzecha włoskiego.

Dane literaturowe potwierdzają coraz częstsze przypadki alergii z powodu spożycia nerkowców, pistacji czy mango, należących do tej samej botanicznej rodziny *Anacardiaceae*. Badania Garcii (6) na grupie pacjentów dowiodły, że najsilniejsze reakcje IgE-zależne występowały z frakcjami białek o masach cząsteczkowych 15, 30 i 60 kDa, co wykazała analiza SDS - PAGE z immunoblottingiem. Wang (38) wyizolował główny alergen nerkowca (*Anacardium occidentale*) Ana o 1, o masie cząsteczkowej 50 kDa, oraz stwierdzonych 11 linearnych epitopach, z których 3 były immunodominujące. Ana o 1 jest białkiem należącym do rodziny wicilin.

Teuber (35) wykonując badania na grupie 15 pacjentów uczulonych na białko nerkowca stwierdził, że dominującymi antygenami wiążącymi IgE są białka w zakresie 31-35 kDa, w skład których wchodzi podjednostki białek 13S globuliny podobnych do legumin. Niskocząsteczkowe peptydy z rodziny 2S albumin, zbliżone do głównego alergenu orzechów włoskich Jug r 1, również reagują w sposób IgE-zależny.

Charakterystyczną cechą dla alergenów pochodzących z orzechów rosnących na drzewach oraz dla wielu nasion jest to, że głównymi białkami mogącymi powodować uczulenia są białka należące do grupy legumin i 2S albumin. Może to stanowić cenną wskazówkę dla dalszych badań nad identyfikacją alergenów roślinnych oraz występowaniem reakcji krzyżowych, a co się z tym wiąże - prawidłowym diagnozowaniem klinicznym alergii.

## Alergeny orzeszków ziemnych

Orzechy arachidowe (*Arachis hypogaeae*) należą do rodziny roślin strączkowych. Stanowią wartościowy składnik żywności, ale jednocześnie są popularnym źródłem wielu silnych alergenów. Około 7-10% białka ogółem zawiera substancje białkowe o stwierdzonym charakterze alergennym. Dwoma najbardziej znanymi, wyizolowanymi i scharakteryzowanymi alergenami orzechów arachidowych są białka Ara h 1 i Ara h 2. Alergen Ara h 1 posiada masę cząsteczkową 65 kDa i charakteryzuje się obecnością 4 immunodominujących epitopów oraz 20 determinant o mniejszym znaczeniu immunologicznym. Stwierdzono także, że jest on również całkowicie odporny na działanie wysokiej temperatury. Drugi bardzo silny alergen, Ara h 2, jest białkiem o masie cząsteczkowej 17 kDa, następny zaś, Ara h 3, jest homologiem białka 11 S. Ostatnio wyizolowane alergeny występujące w składzie orzeszków arachidowych oznaczono kolejno Ara h 4 (36 kDa), Ara h 5 (14 kDa), Ara h 6 (16kDa), Ara h 7 (14,5 kDa). Pons (28) wyizolował nowy alergen orzeszków ziemnych należący do oleozyn, rodziny niskocząsteczkowych białek biorących udział w formowaniu ciał tłuszczowych arachidów. Analizując surowicę pacjentów przy użyciu immunoblottingu stwierdzono najsilniejsze reakcje w stosunku do białek arachidowych o masach cząsteczkowych ok. 34, 50 i 68 kDa, które mogą odpowiadać oligomerom oleozynowym. Reakcje IgE-zależne były silniejsze dla ekstraktów uzyskanych dla orzeszków prażonych, niż dla natywnych. Częstotliwość występowania alergii na orzeszki arachidowe wynosi ok. 0,5 ÷ 0,7% populacji ogółem. Ten rodzaj alergii pokarmowej jest najpowszechniejszy w Stanach Zjednoczonych (ok. 2 mln pacjentów), a w Europie w takich krajach jak Wielka Brytania, Holandia, Francja. Problem alergii na orzeszki ziemne praktycznie nie występuje w Niemczech, chociaż badania wykonywane w tym kierunku wskazują na pojawienie się symptomów chorobowych wśród pacjentów, zbliżonych do zanotowanych wcześniej w Ameryce czy Wielkiej Brytanii (17). W krajach o odmiennych preferencjach pokarmowych problem ten przedstawia się jeszcze inaczej, i tak np. w Arabii Saudyjskiej ok. 20% pacjentów-alergików cierpi na ten rodzaj alergii. Uczulenia na arachiidy są tam najczęściej występującą formą choroby, powodującą częste przypadki anafilaksji. Nie została określona w sposób jednoznaczny ilość progowa dawki białka arachidowego, która może pobudzić organizm do walki z alergenem. U niektórych pacjentów dawka 100 mg białka arachidowego jest w stanie sprowokować reakcję alergiczną, u innych zaś reakcja taka pojawia się dopiero po spożyciu 200 mg białka. Zauważono także, że są pacjenci niereagujący na obecność arachidów nawet po spożyciu 50 mg arachidów (14). Praktycznie jedyną skuteczną ochroną dla osób cierpiących na alergię pokarmową wywołaną spożyciem arachidów jest unikanie kontaktów z potencjalnym alergenem. Często jednak jest to trudne. Śladowe ilości orzeszków arachidowych mogą znajdować się w różnych produktach pokarmowych, co nie zawsze jest deklarowane na etykiecie towaru, w tym także napojów i kosmetyków. Rozpatrywane jest noszenie bransoletki wskazującej na orzeszki arachidowe jako przyczynę ewentualnego szoku

anafilaktycznego, oraz zestawu ratunkowego z epinefryną do natychmiastowego podania (4). Uczulenie może nastąpić nie tylko na drodze bezpośredniego spożycia, ale również poprzez inhalacje. Symptomy choroby pojawiają się niemal natychmiast ze strony systemu immunologicznego skóry, układu pokarmowego czy oddechowego. Częstym przypadkiem kontaktu z alergenami orzeszków jest astma.

## Alergeny soi

Soja jest popularnym źródłem białka wprowadzanym do diety dziecka już w okresie niemowlęcym w postaci specjalnych odżywek, szczególnie dla tych, które wykazują alergię na mleko krowie. Okazało się jednak, że w 50% dzieci reagujących alergicznie na mleko jest również uczulone na soję. Dlatego też podjęto badania dotyczące immunoreaktywności białek i innych składników występujących w soi. Głównym scharakteryzowanym alergenem soi jest Gly m 1, białko o masie cząsteczkowej 30 kDa, występujące we frakcji 7S ekstraktu soi. Oznaczono jego linearne epitopy i stwierdzono, że spośród 16 rozpoznanych, aż 5 ma charakter immunodominujący (31). Sekwencja aminokwasowa cząsteczki Gly m1, N-końcowa jest identyczna z występującą w 34 kDa białku nasion soi i zbliżona do budowy papainy oraz proteiny tiolowej. Alergen Gly m1 w 30% posiada identyczną budowę jak Der p1, główny alergen kurzu, który także jest proteazą tiolową. Stwierdzono również obecność innych alergenów, które oznaczono jako Gly m2, Gly m3, Gly m Bd30k (23).

Aby dokładnie scharakteryzować pod względem budowy molekularnej alergeny soi, zastosowano metodę PCR, stosując cDNA nasion soi jako wyjściowy materiał do badań. Uzyskane fragmenty rekombinowanej profiliny soi poddano inhibicji z IgE. Tylko rGly m3 rozpoznawana była przez IgE pacjentów w 69%, pozostałe fragmenty profilinowe nie reagowały z IgE. Stwierdzono, że nowy rekombinowany alergen reaguje poprzez epitopy o budowie konformacyjnej (30). Zidentyfikowano również alergeny występujące w lecytynie sojowej, która jest stosowana powszechnie jako emulgator w procesach technologicznych przemysłu spożywczego, farmacji i produkcji kosmetyków. Lecytyna składa się głównie z fosfolipidów, aczkolwiek potwierdzono także obecność białek powodujących reakcje IgE-zależne. W wyniku SDS - PAGE stwierdzono obecność białek o masach cząsteczkowych 7, 12, 20, 39, 57 kDa. Analiza N-końcowych fragmentów pozwoliła określić przynależność poszczególnych białek do odpowiednich klas. Białko 12 kDa zidentyfikowano jako 2S albuminę o wysokiej zawartości metioniny, białko - 20 kDa to inhibitor trypsyny Kunitza, zaś molekula o masie cząsteczkowej 39 kDa nie została rozpoznana, a więc może to być nowy alergen. Lecytyna soi może być również źródłem tzw. ukrytych alergenów (7).

## Alergeny pszenicy

Pszenica to zboże, które należy do podstawowych w diecie każdego człowieka. Uczulenia powodowane kontaktem z pszenicą dotyczą głównie osób zawodowo narażonych na ekspozycję alergenami zbóż. Taką grupę stanowią np. pracownicy przetwórci zbóż i piekarze. W Holandii wykonano badania epidemiologiczne, przeprowadzone na grupie 393 pracowników 21 piekarni. Stwierdzono, że poziom specyficznego IgE we krwi był bezpośrednio uzależniony od ilości alergenu pszenicy obecnego w otaczającym środowisku. W wyniku obserwacji zauważono, że obniżenie stężenia alergenu pszenicy do 0,2 mg/m<sup>3</sup> w otoczeniu lub 0,5 mg/m<sup>3</sup> we wdychanym powietrzu podczas pracy wpływało pozytywnie na obniżenie poziomu specyficznego IgE w surowicy pracowników piekarni (12).

Późniejsze badania dowiodły, że głównym alergenem mogącym przyczynić się do anafilaksji jest Tri a 19 (omega - 5 gliadyna). To właśnie białko odpowiada za natychmiastową reakcję alergiczną u dzieci. Zaproponowano, aby stosować białko omega - 5 gliadynę podczas testów IgE, co pozwoli pominąć niezbędną w obecnej diagnozie ustną prowokację przy użyciu pszenicy (22).

Uczulenia na pszenicę nie należy mylić z celiakią, czyli chorobą trzewną, która jest enteropatią glutenową. Gluten występujący najobficiej w pszenicy, ale też i w życie, jęczmieniu oraz owsie, jest główną przyczyną zmian w obrębie jelita czczego. Jedynie dieta bezglutenowa pozwala na pozbycie się symptomów celiakii. Za bezglutenowe uważa się prolaminy ryżu, kukurydzy, prosa i sorga, a także grykę (2).

# Podsumowanie

Artykuł zawiera informacje o najważniejszych alergenach pokarmowych, które mogą stanowić zagrożenie zdrowotne dla ludzi na całym świecie. Wiedza na ten temat jest cały czas poszerzana i aktualizowana. Zdobycze techniki laboratoryjnej pozwalają na coraz bardziej wnikliwe poznawanie mechanizmów biorących udział w procesach alergicznych oraz wskazują na nowe możliwości diagnostyki klinicznej. Dlatego też niezbędne wydają się być wspólne działania dyscyplin naukowych dotyczących zagadnienia alergii pokarmowej.

## Piśmiennictwo

1. Beyer K., Grishina G., Bardina L. i wsp., Identification of an 11S globulin as a major hazelnut food allergen in hazelnut-induced systemic reactions. *Journal Of Allergy And Clinical Immunology* 2002; 110 (3): 517-523.
2. Cybulska A., Nekando-Treoke A., Choroby jelita cienkiego - znaczenie i leczenia w etiopatogenezie i leczeniu. *Nowa Medycyna* 1999; rok VI, zeszyt 94, nr 10: 18-23.
3. Das Dores S., Chopin C., Romano A. i wsp., IgE-binding and cross-reactivity of a new 41 kDa allergen of codfish. *Allergy* 2002; 57: 84-87.
4. Dutan G., Rance F., Peanut allergy. *Revue Francaise D Allergologie Et D Immunologie Clinique* 2001; 41 (2): 187-198.
5. Elsayed S., Apold J., Immunochemical analysis of cod fish allergen M: locations of immunoglobulin binding sites as demonstrated by the native and synthetic peptides. *Allergy* 1983; 38: 447.
6. Garcia F., Moneo I., Fernandez B., Garcia-Menaya J. M. i wsp., Allergy to Anacardiaceae: Description of cashew and pistachio nut allergens. *Journal Of Investigational Allergology & Clinical Immunology* 2000; 10 (3): 173-177.
7. Gu X. L., Beardslee T., Zeece M. i wsp., Identification of IgE-binding proteins in soy lecithin. *International Archives of Allergy and Immunology* 2001; 126 (3): 218-225.
8. Hirschwehr R., Valenta R., Ebner C. i wsp., Identification of common allergenic structures in hazel pollen and hazelnuts: a possible explanation for sensitivity to hazelnuts in patients allergic to tree pollen. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1992; 90: 927.
9. Hoffman D. R., Day E. D., Miller J. S., The major heat stable allergen of shrimp. *Ann. Allergy* 1981; 47: 17.
10. Hopp T. P., Woods K. R., Immunochemical studies on b-lactalbumin. *Mol. Immunol.* 1982; 19: 1453-1463.
11. Host A., Koletzko B., Dreborg S. i wsp., Dietary products used in infants for treatment and prevention of food allergy. *Arch. Dis. Child* 1999; 81: 80-84.
12. Houba R., Heederik D., Doekes G., Wheat sensitization and work-related symptoms in the baking industry are preventable - An epidemiologic study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1998; 158 (5): 1499-1503.
13. Jarvinen K. M., Beyer K., Vila L. i wsp., B-cell epitopes as a screening instrument for persistent cow's milk allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2002; 110 (2): 293-297.
14. Keck-Gassenmeier B., Benet S., Rosa C., Hischenhuber C., Determination of Peanut Traces in Food by a Commercially-available ELISA Test. *Food and Agricultural Immunology* 1999; 11: 243-250.
15. Langeland T., A clinical and immunological study of allergy to hen's egg white. III. Allergens in hen's egg white studied by cross radio - immunoelectrophoresis. *Allergy* 1983; 37: 521.
16. Langeland T., A clinical and immunological study of allergy to hen's egg white. IV. Specific IgE-antibodies to individual allergens in hens' egg white related to clinical and immunological parameters in egg-allergic patients. *Allergy* 1983; 38: 492.
17. Lepp U., Schocker F., Suhr M. i wsp., Peanut allergy a problem in Germany as well: results of a random sample. *Allergologie* 2002; 25 (6): 314-320.
18. Leung P. S. C., Chen Y. C., Gershwin M. E., Identification and molecular characterization of *Charybdis feriatius* tropomyosin, the major crab allergen. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1998; 102 (5): 847-852.
19. Luttkopf D., Muller U., Skov P. S. i wsp., Comparison of four variants of a major allergen in hazelnut (*Corylus avellana*) Cor a 1.04 with the major hazel pollen allergen Cor a 1.01. *Molecular Immunology* 2002; 38 (7): 515-525.
20. Mata E., Favier C., Moneret - Vautrin D. A. i wsp., Surimi and native codfish contain a common allergen identified as 63-kDa protein. *Allergy* 1994; 49: 442.
21. Nagpal S., Rajappa L., Metcalfe D. D., Isolation and characterization of heat - stable allergens from shrimp (*Penaeus indicus*). *J. Allergy Clin. Immunol.* 1989; 83: 26.
22. Palosuo K., Varjonen E., Kekki O. M Pecquet S., Bovetto L., Maynard F., Fritsche R., Peptides obtained by tryptic hydrolysis of bovine b-lactoglobulin induce specific oral tolerance in mice. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000; 105 (3): 514-521.
27. Poltronieri P., Cappello M. S., Dohmae N. i wsp., Identification and characterization of the IgE-binding proteins 2S albumin and conglutinin gamma in almond (*Prunus dulcis*) seeds. *International Archives of Allergy and Immunology* 2002; 128 (2): 97-104.
28. Pons L., Chery C., Romano A. i wsp., The 18 kDa peanut oleosin is a candidate allergen for IgE-mediated reactions to peanuts. *Allergy* 2002; 57: 88-93.
29. Poulsen L. K., Hansen T. K., Norgaard A. i wsp., Allergens from fish and egg. *Allergy* 2001; 56: 39-42.
30. Rihs H. P., Chen Z. P., Rueff F. i wsp., IgE binding of the recombinant allergen soybean profilin (rGly m 3) is mediated by conformational epitopes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1999; 104 (6): 1293-1301.
31. Sicherer S. H., Sampson H. A., Burks A. W., Peanut and soy allergy: a clinical and therapeutic dilemma. *Allergy* 2000; 55: 515-521.
32. Spuerger P., Walter M., Schiltz E. i wsp., Allergenicity of a-casein from cow, sheep and goat. *Allergy* 1997; 52: 293-298.
33. Stanley J. S., Bannon G. A., Biochemical aspects of food allergens, immunology and allergy clinics of North America 1999; 19 (3): 605-617.
34. Swoboda I., Bugajska-Schretter A., Valenta R., Spitzauer S., Recombinant fish parvalbumins: Candidates for diagnosis and treatment of fish allergy. *Allergy* 2002; 57: 94-96.
35. Teuber S. S., Sathe S. K., Peterson W. R., Roux K. H., Characterization of the soluble allergenic proteins of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) *Journal Of Agricultural And Food Chemistry* 2002; 50 (22): 6543-6549.
36. Wal J. M., Structure and function of milk allergens. *Allergy* 2001; 56: 35-38.
37. Walsh B. J., Barnett D., Burley R. W. i wsp., New allergens from hen's egg white and egg yolk; in vitro study of ovomucin apovitellin I and VI, and phosvitin. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 1988; 87: 81.
38. Wang F., Robotham J. M., Teuber S. S. i wsp., Ana o 1, a cashew (*Anacardium occidentale*) allergen of the vicilin seed storage protein family. *Journal Of Allergy And Clinical Immunology* 2002; 110 (1): 160-166.
39. Zanoni G., Martini S., Zedde A. i wsp., Specific immune response to occupational antigens in asymptomatic egg processing workers. *American Journal Of Industrial Medicine* 2002; 41 (6): 490-497.

## The big eight of food allergens

In this paper are describe foods and food groups which cause more than 90% of IgE-mediated food allergies in the overall population. The list named a ?Big Eight?encompasses milk, eggs, fish, crustacea, peanuts, soybeans, tree nuts and wheat. The knowledge about their detailed structure, especially immunodominant epitopes, is still in progress and will help to explain the clinical symptoms.