Biokemijska podloga razvoja alergije na hranu

Arić, Ivona

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:466545

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Ivona Arić

Biokemijska podloga razvoja alergije na hranu

Završni rad

Osijek, 2018. godine

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA **Završni rad**

Sveučilište Josipa Jurja Storssmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Znastveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Biologije

BIOKEMIJSKA PODLOGA RAZVOJA ALERGIJE NA HRANU

Ivona Arić

Rad je izrađen: na Zavod za biokemiju i ekofiziologiju biljaka

Mentor: doc.dr.sc.Senka Blažetić

Sažetak

Alergija na hranu je visoko na ljestvici zastupljenosti autoimunih bolesti, posebno u dobro razvijenim zemljama. Bolest je u većini slučajeva nasljedna. Nastaje potaknuta vanjskim ili unutarnjim faktorima. Unutarnji faktori su genetički i na njih ne možemo utjecati, no vanjski faktori su izloženost alergenu, količina stresa, način prehrane i slično što možemo kontrolirati. Nakon unošenje hrane dolazi do provjere učinka njenih proteina. U slučaju da protein u tijelu ne izaziva alergiju uključuje se kaskada imune tolerancije, no ako dolazi do bilo kakve reakcije uključuje se kaskada protuupalnih odgovora potaknuta djelovanjem prvenstveno histamina. Zbog nemogućnosti liječenja ovog stanja, jedina mogućnost je tretiranjem antihistaminicima, točnije inhibitorima djelovanja histamina koji smanjuju upalni odgovor. Kod reakcija većih razmjera i anafilatičkog šoka potrebna je stručna medicinska pomoć. Prilikom nastanka alergijske reakcije dolazi do spajanja antigena, alergena, sa specifičnim antitijelom imunoglobulinom. Ovisno o tipu reakcije sudjeluju IgE, IgG, IgA, IgM ili IgD antitijela. T stanice se vežu na alergen, pomoću imunosnih stanica putuju u limfni čvor gdje počinje kaskadna reakcija obrambenog sustava.

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: imunotolerancija, alergija, mastocit, bazofil, IgE-receptor

Rad je pohranjen u:

Na mrežnim stranicama Odjela za biologiju te u Nacionalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice u Zagrebu.

BASIC DOCUMENTATION CARD **Bachelor tesis**

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek

Department of biology

Undergraduate university study programme in Biology

Scientific area: Natural science

Scientific field: Biology

BIOCHEMICAL DEVELOPMENT OF FOOD ALLERGY

Ivona Arić

Thesis performed at: Department of biochemistry and plants physiology

Supervisor: Senka Blažetić, PhD, Asst. Prof

Short abstract:

Food allergies are high on the scale of autoimmune diseases representation, especialy in the well developed countries. In most cases, the disease is genetic. It is created by stimulation of outter and inner factors. Inner factors are genetic and they can't be affected upon, but outter factors are exposure to the allergen, amount of stress, diet etc. which can be controlled. After food input, checking of the affect of its proteins begins. In case the protein doesn't cause an allegry, cascade of imune tolerance begins, but if it does come to any kind of reaction, cascade of antiinflamatory responses begins encouraged by activity histamines. Because of inability to treat this condition, the only possibility is treatment with antihistamines, which are inhibitors of activity of histamines that reduce inflamatory response. With reactions of bigger scales and anaphylactic shock, medical help is needed. At the moment of allergic reaction, the antigen, allergen and specific antibody immunoglobulin bind together. Depending on the type of reaction, participants can be IgE, IgG, IgA, IgM or IgD antibodies. T cells bind to the allergen, and with the help of immune cells they travel to lymph node where cascade of reactions of the defence sistem begins.

Original in: Croatian

Key words: immune tolerance, allergy, mast cell, basophil, IgE-receptor

Thesis deposited in: On the Department of Biology website and the Croatian Digital Theses Repository of the National and University Library in Zagreb.

Popis kratica

Ig- imunoglobulin

IL- interleukin

CX3CR1- tip kemokinskih receptora

LP- lamina propria

CCR- od engl. C-C chemokine receptor type

mLN- mezenterički limfni čvor

Th- od engl. type of helper T cell

CD- od engl. cluster of differentiation

TCR- od engl. T cell receptor

LTB- leukotrieni B

LTC- leukotrieni C

MHC- od engl. major histocompatibility complex

IFNγ- od engl. Interferon gamma

TNF- od engl. tumor necrosis factor

GALT- od engl. gut associated lymphoid tissue

DS- dendritiČka stanica

Treg- regulatory T cell

TGFβ- od engl. transforming growth factor β

AEE- alergijski eozinofilni ezofagitis

APT- atopijski patch test

SADRŽAJ:

1. UVOD 1
2. OSNOVNI DIO 2
2.1. ORALNA TOLERANCIJA 2
2.1.1. Mehanizmi oralne tolerancije 2
2.1.1.1. Dendritičke stanice 4
2.1.1.2. Regulatorni T limfociti 5
2.1.1.3. Sekretorni IgA 6
2.2. TIPOVI ALERGIJA 6
2.2.1. Preosjetljivost tipa I 7
2.2.1.1. Biokemijski mehanizam preosjetljivosti tipa I 8
2.2.2. Preosjetljivost tipa IV 9
2.2.2.1. Biokemijski mehanizam preosjetljivosti tipa IV 10
2.3.ALERGENI 11
2.3.1. Alergeni tipa 1 11
2.4. SIMPTOMI 12
2.4.1. Gastrointestinalni simptomi 12
2.4.2. Ekstraintestinalni simptomi 12
2.4.3. Anafilaksija 13
2.5. METODE DIJAGNOSTICIRANJA ALERGIJA NA HRANU 13
2.5.1. Ispitivanje kože 13
2.5.2. Intradermalni testovi 14
2.5.3. Testovi in vitro 15
2.5.4. Test zakrpama 15
3. ZAKLJUČAK 16
4. LITERATURA 17

1. UVOD

Alergija je reakcija obrambenog sustava kod ljudi koji imaju genetičku uputu za pretjeranu reakciju na bjelančevine koje kod većine ljudi ne izazivaju imunološki odgovor. Riječ alergija je nastala od grčkih riječi „allos“ što znači drugi i „ergon“ što znači reaktivnost. Alergijska reakcija na hranu se definirao kao poremećaj nastao izlaganjem specifičnom proteinu koji izaziva imunološki odgovor posredovan imunoglobulinom E kojeg slijedi brza uzročno posljedična reakcija (Johansson i sur., 2004.). Kada se antigen veže na IgE antitijelo mastociti otpuštaju histamine, prostaglandine i leukotriene što dovodi do alergijske reakcije. Prvi doticaj s antigenom ima probavni sustav koji ima najveću aktivnu površinu. Limfno tkivo crijeva se sastoji od stanica prirođene i stečene imunosti, epitelnih stanica, enzima, sloja sluzi i žučnih soli koji uz peristaltičko gibanje crijeva pokušavaju eliminirati patogene, ako ne uspiju, predaju ih imunološkom sustavu (Mayer, 2003.). Unatoč unosu brojnih bjelančevina koje su potencijalni alergeni, ljudski organizam je razvio mehanizam oralne tolerancije koji nastoje zaustaviti svaki odgovor imunološkog sustava (Sampson, 2004.; MacDonald i Monteleone, 2005.; Spiekermann i Walker, 2001.). Dođe li do mutacije prilikom razvoja ili bilo kojeg drugog poremećaja u mehanizmima indukcije oralne tolerancije dolazi do razvijanja preosjetljivosti na određenu hranu (Sampson, 1999.). Proteini dolaze u doticaj s površinom crijevnih resica u kojima se nalaze T stanice (Chehade, 2005.). U slučaju da antigeni narušavaju vitalne funkcije organizma, CD4 (eng. *cluster of differentiation*) T stanica vrše brzi upalni odgovor u svrhu zaštite, ali ako se radi o bezopasnim molekulama T regulatorne stanice: Th3 (eng. *type of helper cell*) Th1, CD4+ i CD25+ potiču mehanizam imuno tolerancije (Mowat i sur., 2004., Sampson 2005.). Alergeni su tvari na koje organizam pretjerano reagira. To su organizmu strane tvari, antigeni, koji potiču trenutnu ili odgođenu alergijsku reakciju. Alergije se javljaju u raznim oblicima i razlikuju se težinom. Procjenjuje se da 6 - 8% djece te 3 - 4% odraslih pretjerano reagira na neki protein hrane. Postoje blagi oblici koji se manifestiraju kao osip i oticanje kože i oni intenzivniji gdje dolazi do anafilatičkog šoka koji može izazvati smrtan ishod ako osoba pravovremeno ne dobije hitnu medicinsku pomoć. Alergija može biti posljedica složenih genetskih faktora, okoline u kojoj osoba obitava većinu vremena ili nekih drugih specifičnih faktora (Sicherer i Sampson, 2006.). Ne postoji lijek za alergije, osim izbjegavanja određenog alergena raznim eliminacijskim dijetama, postoji i mogućnost primjene oralne imunoterapije i cjepiva (Sicherer i Sampson, 2010.).

2. OSNOVNI DIO

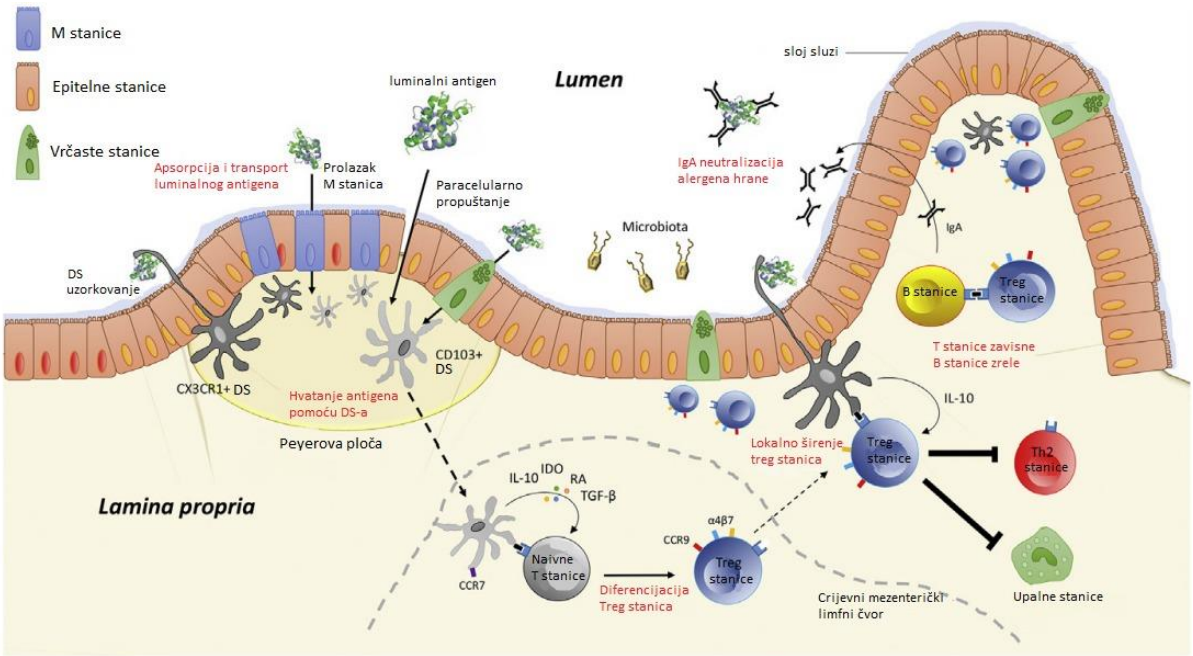
2.1. ORALNA TOLERANCIJA

Epitel crijeva neprestano je izložen velikom broju stranih molekula što podrazumijeva hranjive tvari s kojima dolaze i brojne bakterije. Potencijalni alergeni se probave u crijevu zbog dobro razvijenog mehanizma oralne tolerancije na hranjive tvari (Chechade i Mayer, 2005.). Određene biokemijske značajke zajedničke pojedinim skupinama namirnica uvjetuju rezistenciju na razgradnju u probavnom traktu i nerazgrađene u tankom crijevu mogu uzrokovati alergiju (Vickery i sur.,2011.). Površina gastrointestinalnog trakta je najveća površina u ljudskom tijelu (Chechade i Mayer, 2005.). Građena je od fiziološke i imunološke komponente koje zajedno čine gastrointestinalnu pregradu. Imunološku komponentu barijere predstavljaju imunološke stanice i mehanizmi smješteni intraepitelno i u rahloj vezivnoj stromi subepitelno. Fiziološku barijeru čini jednoslojni cilindrični epitel, u kojem su stanice međusobno povezane tijesnim vezama i prekrivene tankim mukoznim slojem koji sprječava prolazak bakterija, virusa i ostalih čestica. Unatoč nepropusnoj barijeri mali peptidi ipak uspijevaju proći paracelularno do lamine proprije i potaknuti imunološki odgovor organizma (Sicherer i Sampson, 2010.).

2.1.1. Mehanizmi oralne tolerancije

Spajanjem antigena i imunoloških stanica inducira se imunološki odgovor. Pri razvoju oralne tolerancije ključnu ulogu imaju obrambene stanice koje se nalaze u limfnom tkivu crijeva GALT (eng. *gut associated lymphoid tissue*), a to su dendritičke stanice, T limfociti i epitelne stanice (Sicherer i Sampson, 2010.). GALT čine Peyerove ploče, limfoidne strukture raspoređene duž tankog crijeva i rektuma, limfni folikuli, stanice u lamini propriji, mezenterički limfni čvorovi i intraepitelni limfociti. Dobro organizirana građa GALT-a je ključna u imunološkom prepoznavanju antigena (Sampson, 2004.). Nakon unosa hrane i probavnih procesa, luminalni antigen se apsorbira i prolazi kroz epitelne stanice crijeva što ga čini dostupnim imunološkim stanicama. Ovaj složeni proces može uključivati paracelularnu difuziju i endocitozu putem M stanica i vrčastih stanica.

Dendritičke stanice koje eksprimiraju integrin Cd11b i kemokinske receptore CX3CR1 također mogu izravno uzimati luminalni sadržaj kroz transepitelne dendrite. U specifičnom području epitela, zvanom PP, luminalni antigen preuzimaju specijalizirane stanice koje zatim migriraju u područje mezenteričkog limfnog čvora (mLN) gdje iniciraju aktivaciju i diferencijaciju efektora ili regulatorne T stanice ovisno o vrsti citokina. U lamini propriji (LP) dendritičke stanice eksprimiraju integrine CD103 i CD11c, potiču proizvodnju imunoglobulima A (IgA) koji sudjeluju u diferencijaciji T stanica u *regulatory T cell* (Treg). Integrin CD103 proizvodi vitamin A, indolamin 2,3-dioksigenazu, interleukin-10 i TGF- β koji stvaraju pogodan okoliš za ulazak antigena u mLN područje. Naivne T stanice se diferencijacije u Treg stanice i imaju sposobnost pojačavanja djelovanja integrina α4β7 i kemokinskog receptora 9 (CCR9) koji osiguravaju povratak aktiviranih T stanica u LP. Treg stanice se zatim razmnožavaju pod utjecajem IL-10 koji je proizveo kemokinski receptor CX3CR1. U ovom proces Treg stanice imaju glavnu ulogu u poticanju nastanka zamjenskih B stanica koje ne izazivaju upalni odgovor pomoću IgA i induciraju T-stanica koje oduzimaju energiju efektorskim stanicama i inhibiraju nizvodne upalne procese (Slika1.) (Du Toit i sur., 2016.; Raghavan i sur., 2003.).

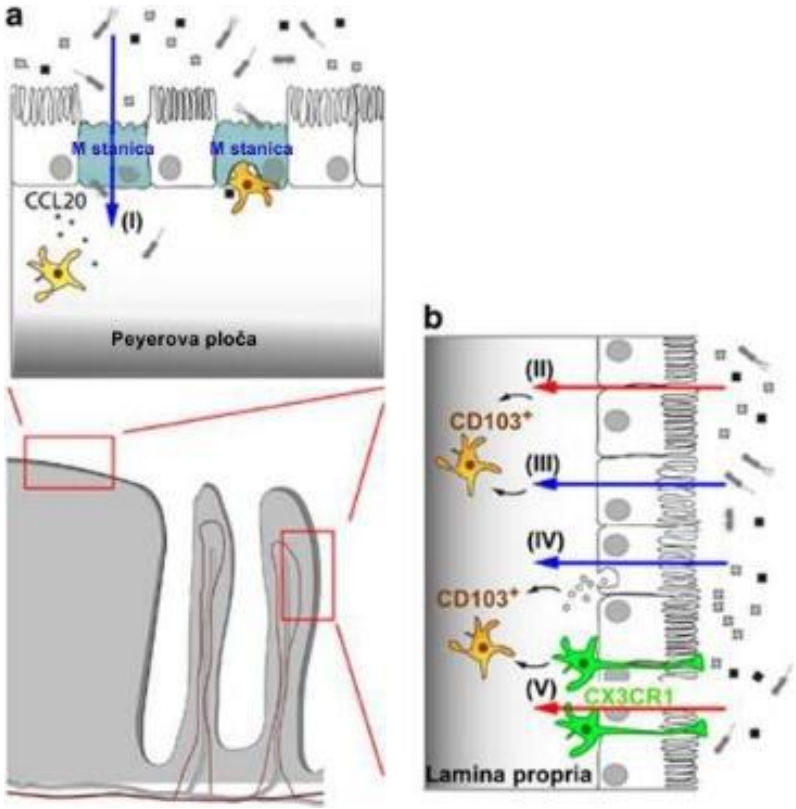


Slika 1. Shematski prikaz koraka mehanizma u nastanku oralne tolerancije

(Preuzeto i izmjenjeno prema Wambre i Jeong , 2017.)

2.1.1.1. Dendritičke stanice

Dendritičke stanice su dobri stimulatori B i T limfocita. One su antigen prezentirajuće stanice koje se u crijevu nalaze u Peyerovim pločama, lamini propriji i mezenteričkim limfnim čvorovima. One eksprimiraju integrin CD-llb i receptore kemokina CX3CR1. Mogu se nalaziti i između epitelnog sloja stanica lumena crijeva gdje doprinose integritetu epitelne barijere. Neprobavljena hrana u lumenu crijeva dolazi u kontakt s mukoznim epitelom i obrambenim imunosnim stanicama koje se nalaze ispod njega. Susret dendritičkih stanica s antigenom se može se dogoditi na više načina (Chechade i Mayer, 2005.).



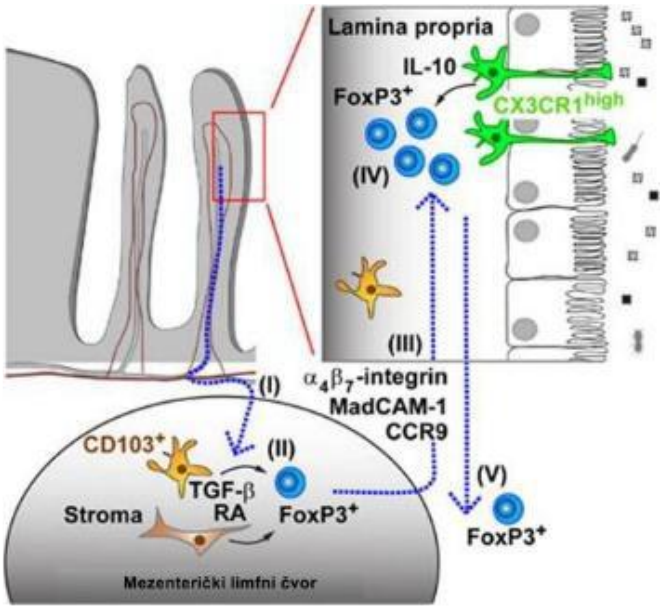
Slika 2. Mogući putevi susreta antigena i dendritičkih stanica
(Preuzeto i izmjenjeno prema Pabst and Mowat, 2012.)

Prvi način je da CX3C1 pozitivne dendritičke stanice pruže svoje dugačke izdanke kroz epitel u lumen crijeva kako bi uspostavile direktni kontakt s antigenom (slika 2.b). Drugi način je da M-stanice epitela sa izraženim receptorima za antigen transcelularno prenose antigen do dendritičkih stanica subepitelno (slika 2.a). Posljednji način je da vodotopivi mali antigeni prođu paracelularnim putem samostalno kroz epitel (Chechade i Mayer, 2005.). Prolaskom antigena do LP počinje kaskada imunosnih mehanizama.

CD103 dendritičke stanice su ključne u uspostavi imunološke tolerancije na proteine iz hrane. Stanice CD103 u mukozi crijeva se razlikuju od CD103 stanica u ostalim organima. U crijevnom epitelu se odvija razvoj i diferencijaciju CD103 stanica koje su ključne prilikom razvoja oralne tolerancije i ne razvijaju upalni odgovor kao ostale dendritičke stanice. Retinoična kiselina razvija odgovarajući fenotip CD103 stanica. Nakon migracije CD103 stanica u mezenteričke limfne čvorove, limfatičke folikule i Peyerove ploče antigen se prebacuje T limfocitima. Prelazak je ovisan o signalu CCR7 i ostalim lokalnim faktorima (Brandtzaeg, 2011.).

2.1.1.2. Regulatorni T limfociti

Regulatorni T limfociti pripadaju CD4 stanicama, razlikujemo dva tipa: prirođene (naivne) i inducirane stanice iTreg. Prirđene Treg, CD4 i CD25, stanice nastaju u prsnoj žlijezdi timus i specifične su po Foxp3 genu. Imaju protuupalni učinak jer suprimiraju Th1, Th2 i Th17 imunosni odgovor pomoću citokina TGF-β (engl. *transforming growth factor β*) i IL-10 (interelukin 10) . S druge strane djelovanjem induciranih Treg stanica dolazi do supresije efektorskih stanica u Th1, Th2 i Th17 odgovorima u LP. One nastaju u mezenteričkom čvoru iz svojih prirodnih prekurzora nakon povezivanja s antigenom (citokini IL-4, IL-10 i TGF-β), i u limfnim folikulima i Peyerovim pločama (Izcue i Powrie, 2007.).



Slika 3. Migriranje CD103+ DS u mezenterijski limfni čvor i razvoj iTreg
(Preuzeto i izmjenjeno prema Pabst and Mowat, 2012.)

Specifična diferencijacija tkiva unutar mezenteričnih limfnih čvorova je odgovorna za stvaranje jedinstvenog mikrookoliša stanice, koji se očituje produkcijom citokina IL-4, IL-10 i TGF-β. Njihovim djelovanjem dolazi do supresije efektorskih stanica u sklopu Th1, Th2 i Th17 odgovora u LP (Slika 3.) (Brandtzaeg, 2011.).

2.1.1.3. Sekretorni IgA

IgA protutijela uz T limfocite i dendritičke stanice također imaju ključnu ulogu u uvođenju tolerancije na pojedine bjelančevine u hrani. Diferenciraju se u mezenteričkim limfnim čvorovima, limfnim folikulima i Peyerovim pločama putem TGF-β i retinoične kiseline. Nakon lučenja IgA protutijela iz plazma stanica, ona se vežu za polimerni Ig receptor koji se nalazi na površini epitelnih stanica te se nakon dimerizacije prenose u lumen probavne cijevi. Sekretorna IgA protutijela upravljaju kolonizacijom mikroorganizama u crijevima, inhibiraju prodiranje potencijalno opasnih antigena, smanjuju ekspresiju protuupalnih odgovora, mijenjaju pH antigena u LP i sudjeluju prilikom uklanjanja mikroorganizama (Brandtzaeg, 2011.).

2.2. TIPOVI ALERGIJA

Alergijska reakcija započinje spajanjem alergena s imunološkim stanicama u crijevnoj mukozi ili na koži. Mehanizam alergijskih reakcija može biti IgE zavisan i IgE nezavisan (Vujošević, 2002.).

Tipovi alergijskih reakcija na hranu:
tip I ili anafilaktički koji je posredovan IgE protutijelima
tip II ili citotoksična preosjetljivost koji je posredovan IgG i IgM protutijela
tip III koji je posredovan IgG protutijelima
tip IV koji je posredovan T limfocitima (Vujošević, 2002.).

Od četiri navedena tipa, samo se prvi i četvrti tip odnose na preosjetljivost na hranu. Citotoksična preosjetljivost dovodi do uništenja stanica specifičih za pojedina tkiva ili organe. Ovaj mehanizam se javlja kod osoba koje su alergične na penicilin što za posljedicu ima nastanak hemolitičke anemije, trombocitopenije ili neutropenije.

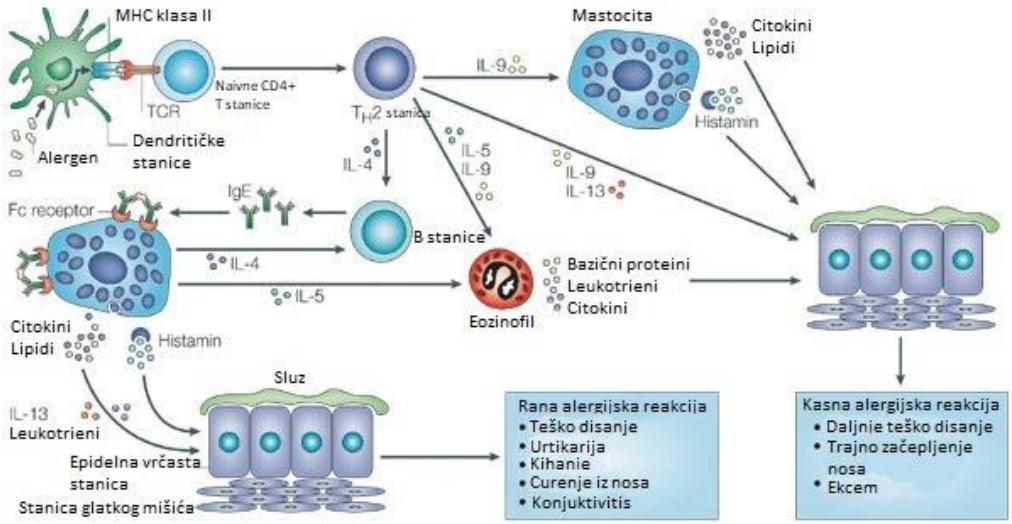
Odvija se i kod osoba koje imaju Goodpastureov sindrom gdje se antitijela vežu na unutrašnje antigene kolagena, bazalne membrane, glomerule u bubrezima ili na aleveole u plućima. Treći tip preosjetljivosti nastane kada se kompleksi antigen-antitijelo talože na zidove krvnih žila što uzrokuje upale i oštećenje tkiva. Ovaj tip je specifičan kod osoba koje imaju bolest lupus gdje imunološki sustav ne prepoznaje razliku između stranog sadržaja i vlastitih stanica te stvara antitijela koja napadaju i uništavaju vlastiti organizam. Treći tip preosjetljivosti pojavljuje se i kod serumske bolesti koja se pojavljuje nakon primjene seruma protiv zmijskog otrova, tada u krvi dolazi do stvaranja kompleksa antigen-protutijelo što dovodi do upale krvnih žila (Lipozenčić i Ljubojević, 2007.).

2.2.1. Preosjetljivost tipa I

Kod imunološkog odgovora posredovanog IgE preosjetljivošću, naivni T limfociti usmjeravaju imunološki odgovor prema Th2 limfocitima, diferenciranimi B limfocitima te produkciji antigen specifičnih IgE protutijela, što u prvom kontaktu s alergenom hrane dovodi do senzibilizacije domaćina, a u svakom sljedećem do njihovog vezanja za membranu mastocita i bazofila, te otpuštanja upalnih medijatora. Primarno izlaganje alergenu izaziva povećanu osjetljivost dok sekundarno izlaganje alergenu može imati smrtan ishod. T limfociti prepoznaju antigen pomoću svog TCR1 (engl. *T cell receptor*) receptora. Izlučuju citokine koji potiču Th2 odgovor. Mastociti su stanice urođene imunosti. Smješteni su u koži i sluznicama što im omogućava brzi odgovor na podražaje iz okoliša. Njihova uloga je otklanjanje patogena i razgradnja potencijalno toksičnih peptida. Bazofili su stanice slične mastocitima. Zbog mogućnosti brzog otpuštanja alergijskih citokina nakon stimulacije, imaju ulogu u skretanju imunološkog odgovora u Th2 reakciju. Aktivacija mastocita i bazofila posredovana je signaliziranjem putem visokoafinitetnog IgE receptora. Signaliziranje započinje vezanjem alergena za IgE protutijela vezanih na receptor u membrani stanica. Unutar stanice nastaje signalna kaskada koja u konačnici dovede do stvaranja upalnih medijatora. Brojnim učincima oslobođenih medijatora razvija se upalna reakcija u okolnom tkivu (Wang i sur. 2000.).

2.2.1.1. Biokemijski mehanizam preosjetljivosti tipa I

Nakon što je osoba pojela hranu na koju je alergična, specifične T stanice se vežu na molekule te hrane i označuju ju kao alergen. Alergen prolazi kroz polupropusnu membranu i dospijeva u krvotok gdje se veže na imunološke stanice i migrira u limfni čvor (Kalish i Askenase, 1999.).



Slika 4 Shematski prikaz biokemijskog mehanizma preosjetljivosti tipa 1
(Preuzeto i izmijenjeno prema Web 1.)

Imunološke stanice su antigen prezentirajuće stanice jer predstavljaju antigen T stanicama u limfnom čvoru. Najčešće su to dendritičke stanice ili makrofagi. Kada je osoba alergična antigen prezentirajuće stanice eksprimiraju kostimulirajuće molekule koje su ključne u početnom koraku formiranja imunološke reakcije. T stanice prije vezanja na antigen zovu se naivne T stanice. Nakon vezanja T stanice na antigen i kostimulirajući receptor postaju Th2. IL-4, IL-5 i IL-10 koji se nalaze u okolnom sadržaju su citokini koji pomažu lakši prelazak T stanicama u Th2 stanice. Th2 stanice otpuštaju IL-4 koji mijenjaju mehanizam funkcioniranja B stanica te one ne proizvode IgM nego IgE antitijela. Th2 stanice otpuštaju IL-5 koji stimuliraju produkciju i aktivaciju eozinofila, granulocita, tip bijelih krvnih stanica čija uloga je degranulacija. Oni ispuštaju toksične molekule koje oštećuju strane molekule i molekule domaćina. IgE antitijela imaju veliki afinitet za Fcε receptore na mastocitima, drugom tipu granulocita. IgE antitijela se nazivaju citotropička antitijela jer imaju veliki afinitet za vezanje na površinu stanice. Ovim korakom završava faza osjetljivosti. Sekundarno izlaganje antigenu počinje nakon nekoliko mjeseci.

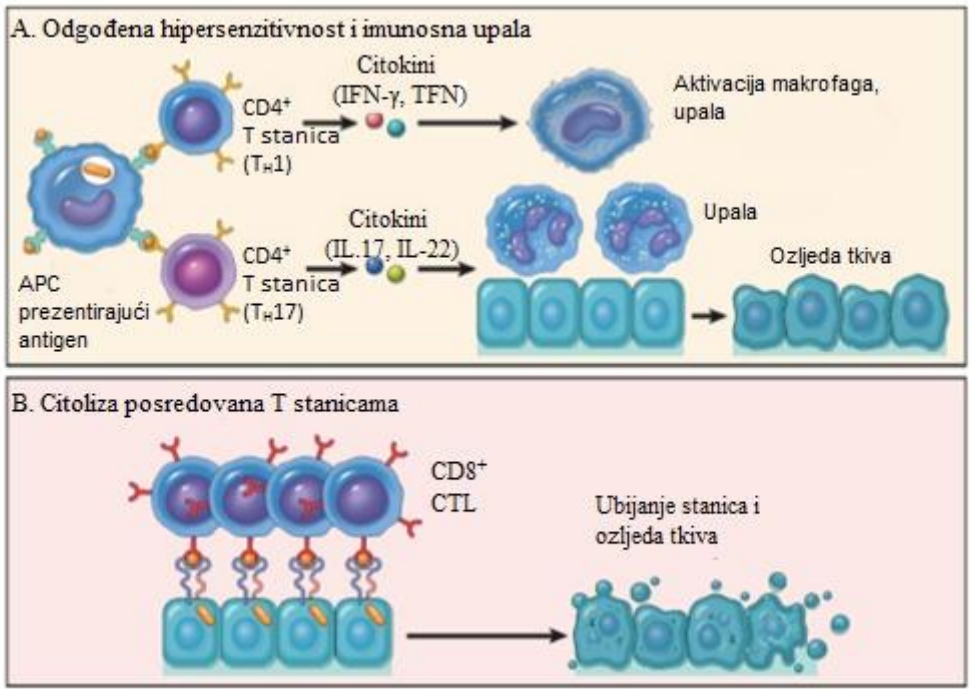
Mastociti uz pomoć antitijela na svojoj površini stvaraju križnu vezu sa antigenom što je signal mastocitima da se degranuliraju, ispuštaju mnoštvo upalnih molekula koje zovemo medijatori i započinje alergijska reakcija. Glavni medijator alergijskih reakcija je histamin koji se veže na H1 receptore i uzrokuje kontrakciju glatkog mišićnog tkiva u bronhima. Zračni putovi postaju manji i osoba otežano diše. Također uzrokuje dilataciju krvnih žila i povećava propusnost stjenki krvnih žila. Zbog povećanja promjera krve žile, krv brže dospijeva u to područje, plazma prodire u međustanični prostor kroz propusne stjenke što uzrokuje otekline, edeme, urtikarije i osip. Mastociti otpuštaju i druge medijatore kao što su aktivirani eozinofili i proteaze koje razgrađuju velike proteine u male peptidne lance. Ovim korakom završava rana faza sekundarnog izlaganja koja se događa u minuti nakon izlaganja antigenu. Kasna faza sekundarne reakcije se odvija 8-12 sati nakon rane faze. Tada se na mjestu alergijske reakcije regrutira još imunoloških stanica kao što su Th2, eozinofili i bazofili zbog citokina i upalnih molekula iz rane faze. Gomilaju se IL-4, IL-5, IL-10 i leukotrieni, male molekule građene od masnih kiselina koje olakšavaju komunikaciju između lokalne skupine stanica. Dva leukotriena su specifična, LTB4 i LTC4, koji uzrokuju kontrakciju glatkog mišićja i imaju sposobnost pojačavanja imunološkog odgovora dovođenje neutrofila, mastocita i eozinofila (Slika 4.) (Kalish i Askenase, 1999.).

2.2.2. Preosjetljivost tipa IV

Alergijska reakcija četvrtog tipa preosjetljivosti uzrokovana je T limfocitima ili T stanicama koje su svoj naziv dobile po mjestu nastanka, prsnoj žlijezdi timus. Dva tipa T stanica koja uzrokuju oštećenje tkiva u ovom tipu preosjetljivosti su CD8, znane kao stanice ubojice ili citotoksične stanice, i CD4, znane kao pomoćnici T stanica. CD8 stanice su tihi ubojice koje ubijaju vrlo specifične stanice. CD4 stanice lokalno otpuštaju citokine, to su mali proteini koji mogu stimulirati ili inhibirati ostale stanice, oni upravljaju stanicama imunološkog sustava. Kod nekih osoba samo dodir kože s određenom hranom može uzrokovati ovaj tip alergijske reakcije. Preosjetljivost tipa 4 je uključena u sustavne bolesti kao što su reumatoidni artritis gdje dolazi do upale zglobova, multiple skleroze gdje Th1 stanice oštećuju mijelinsko vlakno koje obavija živčana vlakna i kod upalne bolesti crijeva gdje Th1 stanice uzrokuju upalu crijeva (Sampson, 1997.; Bicher i sur.,1990.).

2.2.2.1. Biokemijski mehanizam preosjetljivosti tipa IV

Površinske molekule određene namirnice na koju je osoba alergična mogu kroz epidermu ljudske kože doći do derme gdje se povezuju s malim molekulama te taj kompleks odnose Langerhansove stanice znane kao dendritiče stanice koje predstavljaju antigen imunosnu stanicu (Czarnobilska i sur., 2007.).



Slika 5. Shematski prikaz biokemijskog mehanizma preosjetljivosti tipa IV
(Preuzeto i izmijenjeno prema Web 2.)

Dendritička stanica migrira u najbliži odvodni limfni čvor, gdje iznose antigen na svoju površinu pomoću MHC II molekula koja ima ulogu privući CD4 T stanice. Ako TH stanice prepoznaju antigen vezuju se na MHC II (engl. *major histocompatibility complex*) pomoću receptora. Kada dođe do vezanja CD4 stanice na svoju površinu eksprimiraju CD28 proteine koji se vezuju na B7 proteine na površini dendritičkih stanica. Nakon stvaranja kompleksa dendritičke stanice ispuštaju IL-12, citokini koji signaliziraju naivnoj T stanici da postane zrela i diferencira se u Th1. Th1 stanica je efektorska stanica koja ima sposobnost otpuštanja citokina IL-2 koji potiču umnožavanje stanice koja ih je otpustila i ostalih Th1 stanica. Th1 stanice ispuštaju i IFNγ (engl. *Interferon gamma*) koji aktivira fagocite kao što su makrofagi i proizvodi još Th1 stanica.

Aktivirani makrofagi otpuštaju protuupalne citokine kao što su TNF, IL-1 i IL-6 koji uzrokuju propuštanje endotelne barijere i propuštaju mnogo imunih stanica u to područje što dovodi do lokalnog oteknuća ili edema, crvenila, zagrijavanja, pojave vrućice. Aktivirani makrofagi također ispuštaju lizosomalne enzime i reaktivne kisikove vrste koje oštećuju tkivo u određenom području. Sve navedene reakcije na koži izazivaju dermatitis, odnosno upalu kože. Naivne T stanice se mogu diferencirati u Th1 i Th17 stanice. Th17 stanice potiču dendritičke stanice da izlučuju drugačije citokine, IL-6 i TGFβ. Citokini dendritičkih stanica potiči Th17 stanice na lučenje IL-17 koji je izrazito važan u regrutaciji neutrofila. Tkivo može biti oštećeno i pomoću citotoksičnih T stanica, CD8, koje stanicu uništavaju direktno. CD8 stanice mogu uništiti antigen samo ako je prisutna MHC-I molekula koja je prisutna kod svih stanica u tijelu koje imaju jezgru. MHC-I molekule sadržavaju antigen unutar stanice što je osobito važno kada stanicu napadne virus ili rak stanica. Ako dođe do napada efektorska citotoksična T stanica specifična za taj antigen koristi TCR receptor za povezivanje s MHC molekulom što uzrokuje otpuštanje perforina i granizama. Perforini stvaraju pore u ciljnoj stanici i omogućavaju prolaz granzimima koji uzrokuju apoptozu ili programiranu smrt stanice. Citotoksični mehanizam se odvija pri uništenju tkiva kod dijabetesa tipa 1 gdje CD8 T stanice napadaju Langerhansove otočiće gušterače i kod hashimotovog tireoiditisa gdje CD8 T stanice napadaju epitelne stanice tiroidne žlijezde (slika 5.) (Czarnobilska i sur., 2007.).

2.3.ALERGENI

2.3.1. Alergeni tipa 1

Alergeni tipa I su vodotopivi glikoproteini koji zadržavaju svoju strukturu na visokim temperaturama, u prisustvu želučane kiseline i proteaza (Johansson i sur., 2004). Zbog sposobnosti zadržavanja strukture kod alergičnih osoba mogu izazvati kaskadne alergijske reakcije. Alergeni s navedenim karakteristikama se nazivaju kompletnim nutritivnim alergenima. Najčešći alergeni u mlijeku su α-laktoglobulin, β-laktoglobulin te kazein. Tvari u jajetu koje izazivaju alergije su ovalbumin, parvalbumin i lizozimi. Alergeni sadržani u žitaricama su glijadin, a u ribama i lignjama tropomiozin te protein parvalbumin.

Ako se na proteinski nosač vežu tvari male molekularne težine, one mogu vršiti ulogu alergena iako to nisu. Takve molekule nazivamo haptenima. To su najčešće kemijske molekule kao što su lijekovi, zatim konzervansi, aditivi, boje i slično (Čvorišćec i sur., 2001.).

2.4. SIMPTOMI

Nakon izlaganja određenom alergenu simptomi se javljaju nakon par minuta do pola sata. Alergija se manifestira akutnom i kroničnom obliku. Gastrointestinalni simptomi nisu specifični za pojedini alergen, javljaju se u obliku oticanja jezika i bolova u želudcu. Ekstraintestinalni simptomi su svrbež kože i sluznice, rinitis i astma. Rana alergijska reakcija se javlja u obliku anafilaktičkog šoka ili povraćanja, a kasna se javlja nakon šesnaest do dvadeset i četiri sata (Astwood i sur., 1996.; Čvorišćec i sur. 2002.).

2.4.1. Gastrointestinalni simptomi

Prvi od simptoma se javlja oralni alergijski sindrom (OAS) koji se manifestira kroz svrbež, otjecanje usta, peckanje i stezanje u grlu. Nakon njih stupa gastrointestinalna anafilaksija koja se manifestira povraćanjem, bolovima u trbuhu i mučninom (Sampson H.A., 1999.). Posljednji od simptom je alergijski eozinofilni ezofagitis (AEE). Kod ovog simptoma dolazi do sumnje na intoleranciju na hranu zbog bolova u trbuhu, no ne može se liječiti terapijom za refluksne bolesti i tako se otkriva. Alergija na hranu je 4-8% učestalija kod djece mlađe od osam godina (Kelly i sur., 1995.).

2.4.2. Ekstraintestinalni simptomi

Kožni simptomi se manifestiraju kao suha koža, mjehurići, otekline i svrab. Jedan od simptoma je atopijski dermatitis, nasljedna bolest koja se manifestira kao kronična upalna kože (Judd L., 1994.). Najintenzivniji je na pregibima udova zbog intenzivnijeg znojenja kože, a zbog povećane količine bakterija koje ulaze u krv kroz oštećenja na koži dolazi do dodatnog oticanja. Čest simptom je akutna urtikarija koja se manifestira pojavom urtika, to su izdignute, crvenkaste ili blijede pjege različite veličine i oblika. Ključnu ulogu u nastanku urtike ima mastocit iz kojeg se oslobađaju histamin i drugi medijatori upale prostaglandini i leukotrieni (Lipozenčić, 2007.).

2.4.3. Anafilaksija

Nakon interakcije antigena s IgE, bazofili i mastociti dovode do otpuštanja histamina, leukotriena i drugih medijatora. Kaskadno dolazi do kontrakcije glatkih mišića dišnih putova, povećava se vaskularna propusnost, plazma izlazi u tkivne prostore, tijelo ne uspijeva snabdijevati vitalne organe krvlju, te mozak ostaje bez kisika. Takvo stanje nazivamo anafilatički šok. Anafilaksija je brzo progresivan poremećaj opasan po život, to je maksimalno izražena reakcija organizma. Često se ne prepoznaje i podcjenjuje. Rano otkrivanje, visok indeks sumnje, rano uklanjanje potencijalnih aktivacija i primjena epinefrina može spasiti život (Lipozenčić i Ljubojević, 2007.).

2.5. METODE DIJAGNOSTICIRANJA ALERGIJA NA HRANU

Znanje i prikladna uporaba alergijskih testiranja, važna je komponenta kod sprječavanja alergijskih poremećaja. Alergijsko testiranje može pomoći u eventualnoj identifikaciji pojedinog alergena koji je uključenu alergijsku reakciju te može pomoći u smanjenju smrtnost alergičnih osoba. Ključan korak je anamneza u kojoj se registriraju svi simptomi, njihova učestalost, težina i vrijeme pojavljivanja što pomaže u postavljanju dijagnoze (Johansson i sur., 2001.; Host i sur., 2003.).

2.5.1. Ispitivanje kože

Testiranje alergije na koži je najstariji postupak dijagnosticiranja alergija. To je siguran postupak i rijetko može uzrokovati sustavne reakcije kao što je anafilaksija. Započinje čišćenjem kože 70%-tnom otopinom alkohola. Nakon toga se na kožu stavlja alergen koncentracije od 1 do 10 ili 1 do 20 g/L. Kada su kapi postavljene, koža se probode i kapi alergena dolaze ispod kože. Odgovarajuće kontrole su važne, pa test treba sadržavati pozitivnu i negativnu kontrolu kako bi se potvrdilo da koža pacijenta reagira na odgovarajući način. Pozitivna kontrola je općenito 10 g/ L koncentracije histamindiklorida. Negativna kontrola je identična koncentracija glicerirane otopine soli. Pozitivni rezultati ispitivanja su otekla koža s okolnim crvenilom. Pozitivan test mora biti barem iste veličine ili veće od histaminske kontrole. Mjerenja veličine odvijaju se nakon 10 minuta za kontrolu i 15 do 20 minuta za same alergene (Oppenheimer i Nelson, 2006.).



Slika 6. Shematski prikaz izvođena kožnog testa alergije na hranu.
(Preuzeto i izmijenjeno prema Web 3.)

2.5.2. Intradermalni testovi

Zbog problema s točnošću testiranja na koži, koristi se intradermalni test. Ovi testovi nose znatno veći rizik od sustavnih reakcija, uključujući anafilaktički šok, međutim, rizik ostaje nizak. Intradermalno testiranje je osjetljivije i otkriva imunosne reakcije na alergene s mnogo većom točnošću. Međutim, češći su lažno pozitivni rezultati. Tehnika za primjenu testa je jednaka testu na tuberkulozu. Alergen se ubrizgava u kožu, Th1 stanice migriraju u područje antigena, nastaje upala i zadebljanje kože (Gadde i sur., 1993.).



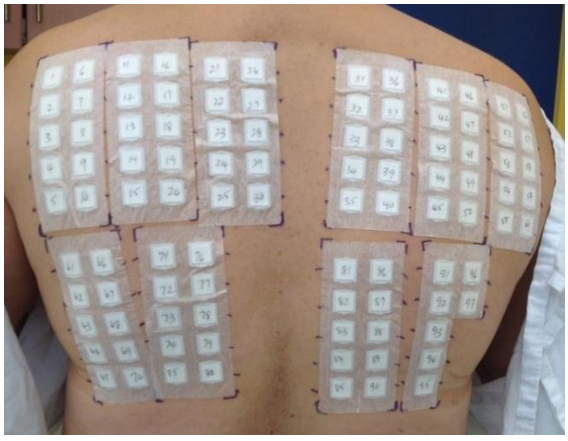
Slika 7. Izvođenje intradermalnog testa.
(Preuzeto i izmijenjeno prema Web 4.)

2.5.3. Testovi in vitro

Drugi mogući načina testiranja alergija je testiranje in vitro za specifična IgE antitijela u krvi, kao što je radioallergosorbent test i enzimski povezan imunosorbentni test. Ovo je prihvatljiv način testiranja na alergije kada pojedinac ne može pristupiti testovima na koži zbog kontraindikacija. Osjetljivost i specifičnost je puno značajnija nego kod testova na koži. Vrlo pozitivni rezultati i povijest tipičnih alergijskih simptoma pokazuju alergijsku reakciju na taj određeni alergen. Kad je malo pozitivnih rezultata i nema povijesti simptoma, to obično zahtijeva dodatno testiranje. Negativan test u prisutnosti simptoma ne isključuje alergiju i najbolje je obaviti probni test kože. U slučajevima gdje su pojedinci doživjeli neki simptomi, a potencijalna alergija je opasna po život, in vitro testiranje može biti korisno za potvrdu negativnog testiranja kože (Aas, K. i Johansson S.G., 1971.).

2.5.4. Test zakrpama

Testiranje zakrpama je specifičan oblik testiranja za određivanje alergijskog kontaktnog dermatitisa. Temelj testiranja jest da će pojedinci koji su osjetljivi na određeni antigen moći proizvesti alergijsku reakciju čak i kada je koncentracija antigena vrlo niska (Bourke i sur., 2009.). Na gornji dio leđa se nanose zakrpe s alergenima koji ostanu 2 dana, zatim se koža analizira i utvrđuje alergijska reakcija. Potrebno je provesti dva čitanja rezultata. Početno čitanje se odvija od 15 do 60 minuta nakon uklanjanja flastera. Drugo čitanje se obavlja kako bi se uočila razlika između nadražujućih reakcija i istinske alergijske reakcije (Uter i sur.,1996.).



Slika 8. Prikaz izvođenja patch testa.

(Preuzeto i izmijenjeno prema Web 5.)

3. ZAKLJUČAK

Broj oboljelih osoba od alergijskih reakcija na hranu je u sve većem porastu. Kao brojni razlozi navode se: kvaliteta života, globalno zatopljenje, genetički modificirana hrana, izloženost zračenju telekomunikacijskih uređaja, neprestana izloženost alergenu i visoka stopa stresnih čimbenika. Ova činjenica nam govori o važnosti istraživanja potencijalnih alergena i uzroka nastanka alergijskih reakcija, prevenciji i pronalasku novih mogućnosti liječenja. Alergija na hranu puno je veći i izraženiji problem kod dječje populacije gdje predstavlja veliki problem u otkrivanju i liječenju. Dijagnostika alergije na hranu nije jednostavna jer detekcija specifičnih IgE protutijela i kožna reaktivnost ne znače nužno i klinički značajnu alergiju. Specifičnu imunoterapiju za sada je moguće provoditi samo primjenom alergenskih ekstrakata, no u budućnosti se očekuje i primjena rekombinantnih alergena. Nutritivne alergije zanimljivo su i još nedovoljno istraženo područje moderne alergologije, koje ostavlja brojna otvorena pitanja i daje široke mogućnosti daljnjeg istraživačkog rada. Preventivnim mjerama, ranim otkrivanjem bolesti i odgovarajućim liječenjem život alergičnih osoba može se učiniti kvalitetnijim.

4. LITERATURA

Aas, K., Johansson, S.G.O., (1971) The radioallergosorbent test in the in vitro diagnosis of multiple reaginic allergy, Vol. 48, x0. 3, pp. 234-148

Bircher, A.J., Fluckiger R., Buchner, S.A. (1990) Eczematous infiltrated plaques to subcutaneous heparin: a type IV allergic reaction, British Journal of Dermatology 123, 507-514.

Bourke, J., Coulson, I., English, J., (2009) Guidelines for the management of contact dermatitis: an update. Br J Dermatol 160:946–54.

Brandtzaeg, P. (2011) The gut as communicator between environment and host: Immunological consequences. European Journal of Pharmacology;668:S16-S32.

Chechade, M., Mayer, L. (2005) Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. J Allergy Clin. Immunol.;115:3-12.

Čvorišćec, B., Stipić-Marković, A., Ostojić, V. (2001) Genetički preinačene namirnice-novi izvor alergena? Knjiga radova sa znanstvenog simpozija Genetički preinačena hrana-zdravstveni rizik, da ili ne?

Čvorišćec, B., Marković-Stipić, A., Ostojić, V. (2002) Genetički preinačene namirnice - novi izvor alergena, Zbornik radova: Genetički preinačena hrana-zdravstveni rizik, da ili ne?

Czarnobilska, E., Obtulowicz, K., Wsolek, K. (2007)Type IV of hypersensitivity and its subtypes, Przegl Lek. 64(7-8):506-8.

Du Toit, G., Sayre, P.H., Roberts, G., et al. (2016) L.-O. S. T. Immune Tolerance Network. Effect of avoidance on peanut allergy after early peanut consumption. N. Engl. J. Med.;374:1435–43.

Gadde, J., Spence, M., Wheeler, B., Adkinson, N.F.(1993) Jr. Clinical experience with penicillin skin testing in a large innercity STD clinic. JAMA 270:2456-63

Høst, A., Andrae, S., Charkin, S., Diaz-Vázquez, C., Dreborg, S., Eigenmann, P.A., Friedrichs, F., Grinsted, P., Lack, G., Meylan, G., Miglioranzi, P., Muraro, A., Nieto, A., Niggemann, B., Pascual, C., Pouech, M.G., Rancé, F., Rietschel, E., Wickman, M., (2003) Allergy testing in children: why, who, when and how? Allergy 58:1-11.

Izcue, A., Powrie, F. (2007) Special regulatory T-cell review: regulatory T-cells and the intestinal tract- patrolling the frontier. Immunology;123:6-10.

Judd L. (1994) A descriptive study of occupational skin disease. N Z Med J 107:147-9.

Johansson, S.G., Bieber, T., Dahl, R., Friedmann, P.S., Lanier, B.Q., Lockey, R.F. (2004) Revised nomenclature for allergy for global use: report of the Nomenclature Review Commitee of the World Allergy Organization. J Allergy Clin Immunol;113:832-6.

Johansson, S.G.O., Hourihane, J.O.B., Bousquet, Bruijnzeel-Koomen, C., Dreborg, S., Haahtala, T., Kowalski, M.L., Mygind, N., Ring, J., van Cauwenberge, P., van Hage-Hamsten, M., Wuthrich, B., (2001) Position paper: A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. Allergy 56:813-24.

Kalish, R., Askenase, P., (1999) Molecular mechanisms of CD8+ T cell–mediated delayed hypersensitivity: Implications for allergies, asthma, and autoimmunity, J. Allergy Clin. Immunol.;103:192-9.

Kelly, K.J., Lazenby, A.J., Rowe, P.C., Yardley, J.H., Perman, J.A., Sampson, H.A. (1995) Eosinophilic esophagitis attributed to gastroesophageal reflux: improvement with an amino-acid based formula. Gastroenterology;109:1503-12.

Lipozenčić, J., Ljubojević, S.(2007) Alergijske reakcije na lijekove – dijagnoza, liječenje i testiranja, Medicus Vol. 16, No. 1, 33 - 36

Mayer, L. (2003) Mucosal immunity. Pediatr.; 111: 1595-600.

MacDonald, T., Monteleone, G. (2005) Immunity, Inflammation, and Allergy in the Gut. Science; 307 (5717): 1920-5.

Mowat, A.M., Parker, L.A., Beacock-Sharp, H., Millington, O.R., Chirdo, F. (2004) Oral tolerance: overview and historical perspectives. Ann. NY Acad, Sci,; 1029: 1-8.

Oppenheimer, J., Nelson, H.S. (2006) Skin testing: a survey of allergists. Ann. Allergy Asthma Immunol.;96:19–23.

Raghavan, S.,Fredriksson, M., A.M. Svennerholm, et al., (2003) Absence of CD4+CD25+ regulatory T cells is associated with a loss of regulation leading to increased pathology in Helicobacter pylori-infected mice, Clin. Exp. Immunol. 132 (3)393–400.

Sampson, H.A. (1999) Food Allergy. Part 1: Immunopathogenesis and clinical disorders. J. Allergy Clin. Immunol.;103:717-28

Sampson, H.A., (1997) Food Allergy , Jama Vol-273, No. 22

Sampson, H.A. (2005) Food allergy: When mucosal immunity goes wrong. J. Allergy Clin. Immunol.; 115: 139-41.

Sampson, H.A. (2004) Update on food Allergy. J. Allergy Clin. Immunol.;113:805-19.

Sicherer, S.H., Sampson, H.A. (2006) Food allergy. J. Allergy Clin. Immunol.; 117: 470-5.

Sicherer, S.H., Sampson, H.A. (2010) Food Allergy. J. Allergy Clin. Immunol.;125:S116-25.

Spiekermann, G.M., Walker, W.A. (2001) Oral tolerance and its role in clinical disease. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.; 32 (3): 237-55.

Uter, W.J., Geier, J., Schnuch, A., (1996) Good clinical practice in patch testing: readings beyond day 2 are necessary: a confirmatory analysis. Members of the Information Network of Departments of Dermatology. Am J Contact Dermatitis 7:231–7.

Vickery, B.P., Scurlock, A.M., Jones, S.M., Wesley Burks, A. (2011) Mechanisms of immune tolerance relevant to food allergy. J. Allergy Clin. Immunol.;127:576-84.

Vujošević, M., Ljaljević, J., Mićić, J., Suţić, I., Đukanović, Lj., Šulović, V. (2002) Klinička imunologija. SEZAM Medico;509-648.

Wambre, E., Jeong, D. (2017) Oral Tolerance Development and Maintenance. Immunol Allergy Clin N Am. 0889-8561/17/

Wang, B., Fujisawa, H., Zhuang, L., Freed, I., Howell, B., Shahid, S., Shivji, G., Mak, W., Sauder, D. (2000) CD41 Th1 and CD81 Type 1 Cytotoxic T Cells Both Play a Crucial Role in the Full Development of Contact Hypersensitivity, The Journal of Immunology, 165: 6783–6790.

Web izvori

Web 1 http://www.humpath.com/spip.php?article14517

Web 2

https://www.memorangapp.com/flashcards/129958/1114+Immunopathology+1+%26+2+%28Hypersensitivity+rxns%29/

Web 3

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMHT0030660/?figure=1

Web4

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/f/fa/Mantoux_tuberculin_skin_test.jpg/250px-Mantoux_tuberculin_skin_test.jpg

Web 5 https://www.dermcoll.edu.au/atoz/allergy-patch-testing