

STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

ANALIZA WYSTĘPOWANIA SWOISTYCH PRZECIWCIAŁ IgE OCENIANYCH TECHNIKĄ PRECYZYJNEJ DIAGNOSTYKI MOLEKULARNEJ U DZIECI Z PODEJRZENIEM ALERGII ORAZ U DZIECI Z ROZPOZNANĄ CELIAKIĄ

Alergia zależna od immunoglobulin E (A-IgE) związana jest z produkcją przeciwciał w klasie IgE wobec uczulających substancji. W diagnostyce serologicznej A-IgE od wielu lat stosuje się badania swoistych IgE (sIgE) wobec ekstraktów alergenowych. Nowatorskim podejściem w diagnostyce A-IgE, które zostało wykorzystane w pracy doktorskiej, jest ocena występowania sIgE wobec molekuł alergenowych w oparciu o diagnostykę molekularną (test ALEX®). Do tej pory nie przeprowadzono kompleksowej analizy profilu uczulenia sIgE wobec molekuł alergenowych u dzieci w Polsce, dlatego ten obszar badań stał się głównym tematem pracy doktorskiej. Dodatkowo oceniono profil uczulenia sIgE w grupie dzieci z celiakią (CD) – chorobą o podłożu autoimmunizacyjnym, tj. chorobą o przeciwstawnym do A-IgE patomechanizmie.

Cel: Głównym celem pracy doktorskiej była ocena profilu uczulenia na podstawie występowania sIgE wobec alergenów pokarmowych u polskich dzieci z podejrzeniem alergii w zależności od wieku oraz w grupie dzieci z nowo rozpoznaną CD. Metody

Metody: Ocena występowania sIgE była przeprowadzona za pomocą multipleksowego testu III generacji ALEX®, który umożliwia ocenę tych przeciwciał wobec niemal 300 alergenów, w tym wobec ekstraktów i molekuł alergenowych pochodzących z różnych źródeł alergenowych (wziewnych i pokarmowych).

Wyniki: W pierwszej części rozprawy doktorskiej dokonano przeglądu literatury w zakresie zmian w profilu uczulenia związanych z wiekiem dziecka w procesie marszu alergicznego (*Knyziak-Mędrzycka i wsp., Nutrients 2023*) oraz w zakresie zagadnienia współwystępowania CD i uczulenia lub A-IgE (*Majsiak i wsp. Nutrients 2023*). W drugiej części rozprawy przeprowadzono analizy opublikowane w 2 artykułach oryginalnych (*Knyziak-Mędrzycka i wsp. Int. J. Mol. Sci. 2024* oraz *Knyziak-Mędrzycka i wsp.*) oraz opisie przypadku (*Knyziak-Mędrzycka i wsp., J Asthma Allergy 2022*).

W pracy „*The Sensitization Profile for Selected Food Allergens in Polish Children Assessed with the Use of a Precision Allergy Molecular Diagnostic Technique*” (*Knyziak-Mędrzycka i wsp., Int. J. Mol. Sci. 2024*) wykonano kompleksową ocenę profilu uczulenia w oparciu o sIgE wobec alergenów pokarmowych ze szczególnym uwzględnieniem ekstraktów i molekuł alergenów pokarmowych “wielkiej ósemki” (mleko krowie, jajo kurcze, pszenica, soja, ryby i owoce morza, orzechy drzewne oraz orzech arachidowy). Do analizy wykorzystano

wyniki pobrane z wybranych laboratoriów z wybranych regionów w Polsce, które od 2019 do 2022 roku wykonywały test ALEX[®]. Uzyskano wyniki od 3715 dzieci. Średnia wieku badanych wynosiła 7.0 lat. Wyniki dzieci analizowano w następujących przedziałach wiekowych: <12mcy (3.63%), 1-5 lat (39.54%), 6-13 lat (46.32%), 14-18 lat (10.0%). Najczęściej sIgE występowały wobec ekstraktów alergenów pokarmowych orzecha arachidowego (29.20%), orzecha laskowego (28.20%) oraz jabłka (23.60%) oraz wobec molekuł dla podrodziny PR10 (rCor a 1.0401 (23.77%), rMal d 1 (22.37%) i rAra h 8 (16.93%). Najrzadziej sIgE odnotowano dla ekstraktów truskawki (0.40%), oregano (0.30%) oraz płaszczki kolczystej (0.16%), a dla molekuł alergenowych wobec nMal d 2 (0.27%) (rodzina białek taumatynopodobnych, TLP), rAni s 1 (0.30%) (inhibitor proteazy serynowej typu Kunitz) oraz rChe a 1 (po 0.43%) (rodzina białek Ole e 1). Zaobserwowano istotnie statystyczny ($p < 0.05$) spadek częstości uczulenia wraz z wiekiem wobec molekuł alergenów białek zapasowych: orzecha ziemnego (nAra h 1, rAra h 2, nAra h 3), soi (nGly m 6), orzechów drzew (nCor a 9, nJug r 4). Istotny statystycznie spadek częstości uczulenia wraz z wiekiem był obserwowany również dla molekuł mleka krowiego (nBos d 4, nBos d 5, nBos d 6, nBos d 8) i jaja kurzego (nGal d 1, nGal d 2). Istotnie statystyczny wzrost częstości uczulenia zaobserwowano wobec białek podrodziny PR10 (rAra h 8, rCor a 1.0401). Obserwowana zmiana profilu uczulenia w zależności od wieku została również ukazana w opisie przypadku 9. miesięcznego pacjenta, u którego początkowo stwierdzono alergię pokarmową, manifestującą się między innymi wstrząsem anafilaktycznym, a w ciągu 2 lat obserwacji stwierdzono rozwój astmy związanej z alergią wziewną co widoczne było również w jego profilu molekularnym (Knyziak-Mędrzycka i wsp., *J Asthma Allergy* 2022).

W pracy „*Sensitization profile in children with celiac disease assessed with the use of multiplex molecular diagnostic technique*” (Knyziak-Mędrzycka i wsp.) skoncentrowano się na ocenie występowania sIgE w grupie pacjentów z CD. Do badań włączono 108 dzieci (63% dziewcząt i 37% chłopców, średnia wieku 9.4 lat) z nowo rozpoznaną CD. Za pomocą testów multipleksowych stwierdzono występowanie sIgE wobec ekstraktów i/lub molekuł alergenów u prawie połowy dzieci (53/108; 49.1%). Najwięcej dzieci (22/53, 41.5%) było uczulonych jednocześnie na alergeny wziewne i pokarmowe. Wśród najczęstszych 10 alergenów uczulających dzieci z CD znalazło się 7 alergenów wziewnych i 2 alergeny pokarmowe. Trzy najczęściej występujące alergeny wziewne (pyłki tymotki łąkowej (26.9%), życica (24.1%), brzoza brodawkowata (18.5%)) to molekuły alergenowe Phl p 1, Lol p 1 (obydwie z rodziny B-ekspansyn) i Bet v 1 (podrodzina PR10). Najczęstsze alergeny pokarmowe (orzech laskowy, jabłko i orzech arachidowy) były molekułami (Cor a 1, Mal d 1 i Ara h 8) należącymi do podrodziny PR10. U badanych pacjentów nie wykazano uczulenia na alergeny zbóż

zawierające gluten. Analiza korelacji metodą rang Spearmana wśród pacjentów uczulonych wykazała istotną dodatnią zależność ($r=0.31$) między wiekiem badanych a liczbą pozytywnych sIgE (≥ 0.3 kU_A/L) dla molekuł alergenów wziewnych ($p=0.045$). Analiza kliniczna wybranych pacjentów z CD i uczuleniem wykazała, że w tej grupie pacjentów najczęściej występuje alergia wziewna, np. alergiczny nieżyt nosa, astma oskrzelowa.

Podsumowanie i wnioski: Przeprowadzone badania wykazały, że:

1. Profil uczulenia oparty na oznaczeniach sIgE wobec ekstraktów i molekuł alergenowych ze szczególnym uwzględnieniem alergenów pokarmowych wielkiej ośsemki u dzieci w Polsce różnił się w porównaniu do innych krajów.
2. U polskich dzieci z podejrzeniem alergii na podstawie występowania sIgE najczęściej stwierdzano uczulenie na ekstrakt orzecha arachidowego, orzecha laskowego oraz jabłka, a wobec molekuł dla podrodziny PR10 (rCor a 1.0401, rMal d 1 i rAra h 8), na miejscu 4. znalazła się globulina 7/8S (nAra h 1).
3. Profil uczulenia wobec alergenów pokarmowych, analizowany na podstawie występowania sIgE zmieniał się wraz z wiekiem. Obserwowano wraz z wiekiem spadek uczulenia na alergeny pokarmowe oraz tendencje wzrostową uczulenia na alergeny wziewne. We wczesnym dzieciństwie dominowało uczulenie na białka zapasowe, a w późniejszych latach na białka z podrodziny PR10 z dominacją uczulenia na Bet v 1 z podrodziny PR10 pyłku brzozy.
4. Dzieci z CD były współuczulone na alergeny wziewne i pokarmowe.
5. Prawie połowa dzieci z nowo rozpoznaną CD była uczulona na minimum jeden alergen, przy czym nie stwierdzono u nich uczulenia na alergeny zbóż zawierających gluten.
6. Najczęstszymi alergenami pokarmowymi, które uczulały dzieci z CD były molekuły z podrodziny PR10 (Cor a 1, Mal d 1 i Ara h 8) co może wynikać z reakcji krzyżowych na brzozę, której marker pierwotnej alergii Bet v 1 (podrodzina PR10) był w trójce najczęstszych alergenów wziewnych, po tymotce łąkowej i życicy (Phl p 1, Lol p 1).

Na podstawie przeprowadzonych badań i analizy wyników wyciągnięto następujące wnioski:

1. Kompleksowa molekularna analiza uczuleń dzieci z podejrzeniem alergii zamieszkujących wszystkie regiony Polski pokazała, że profil uczulenia na alergeny pokarmowe w tej grupie różni się od profili obserwowanych w innych krajach; uzyskane wyniki badań mogą stanowić podstawę dla opracowania strategii profilaktyki oraz

leczenia alergii zarówno w aspekcie lokalnym w naszym kraju oraz globalnym w skali światowej.

2. Molekularna analiza uczulenia w wyselekcjonowanej grupie u dzieci z CD pozwala stwierdzić, że pomimo odmiennych mechanizmów immunologicznych A-IgE i CD współistnieją, oraz że istnieje potrzeba diagnostyki A-IgE u pacjentów z CD, nie tylko w zakresie alergii pokarmowej, ale również alergii wziewnej.

Słowa kluczowe: alergia; alergia IgE-zależna; sIgE; anafilaksja; marsz atopowy/alergiczny; PAMD@; precyzyjna diagnostyka molekularna alergii; multipleksowe testy molekularne; celiakia