

Molekularne cechy alergenów pokarmowych

The molecular traits of food allergens

Zbigniew Bartuzi

Katedra i Klinika Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych Collegium Medicum w Bydgoszczy
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu,
kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. n. med. Zbigniew Bartuzi

Post Dermatol Alergol 2009; XXVI, 5: 310–312

Słowa kluczowe: alergen, struktura alergenu, alergia pokarmowa.

Abstract

Allergens are defined as environmental agents that induce IgE-mediated immediate hypersensitivity reactions following inhalation, ingestion or injection. Purified allergens are named using the systematic nomenclature of the Allergen Nomenclature Sub-Committee of the World Health Organization and International Union of Immunological Societies. Major allergens may have special aerobiological properties and allergenic structures. Allergens are derived from proteins with a variety of biological functions, including proteases, ligand-binding proteins, structural proteins, pathogenesis-related proteins, lipid transfer proteins, profilins, and calcium-binding proteins. Biological function, such as the proteolytic enzyme allergens of dust mites, might directly influence the development of IgE responses and might initiate inflammatory responses in the lung that are associated with asthma. Intrinsic structural or biological properties might also influence the extent to which allergens persist in indoor and outdoor environments or retain their allergenicity in the digestive tract. Structural biology and proteomics define recombinant allergen targets for diagnostic and therapeutic purposes and identify motifs, patterns, and structures of immunological significance. The development of any new treatment will require in-depth structural and biochemical knowledge of the food allergens that precipitate the clinical symptoms.

Key words: allergen, structure of allergens, food allergy.

Alergeny pokarmowe są białkami o masie cząsteczkowej 15–40 kDa lub glikoproteinami o masie cząsteczkowej 10–70 kDa, które spożywane w ilościach dobrze tolerowanych przez osoby zdrowe u alergików wywołują immunologicznie uwarunkowaną, nieprawidłową odpowiedź organizmu. Wiele alergenów pokarmowych wykazuje zdolność wiązania ligandów, np. jonów metali, lipidów, steroidów. Ligandy wpasowują się w trójwymiarową strukturę białka, często „chowają się” głęboko wewnątrz cząsteczki bądź znajdują się na jej powierzchni. Utrata liganda często prowadzi do utraty pożądanego struktury całości lub części białka. Przyłączenie liganda prowadzi do zmniejszenia ruchomości szkieletu polipeptydowego, co powoduje zwiększenie odporności na proteolizę i temperaturę [1].

O wystąpieniu alergii decyduje wiele okoliczności, w tym m.in. tzw. predyspozycja genetyczna danej osoby, stopień ekspozycji na określony pokarm, a także molekularne cechy alergenu. Struktura oraz biochemiczne i fizykochemiczne właściwości alergenu decydują o jego sile alergizującej. Niezwykle istotną rolę we właściwym zrozumieniu znaczenia molekularnej struktury alergenów odgrywają **epitopy**, czyli determinanty antygenowe, które są fragmentami antygeny, łączące się bezpośrednio z przeciwciałem. Najbardziej ścisłe określenie epitopu oznacza tylko i wyłącznie miejsce bezpośredniej interakcji antygeny z przeciwciałem (a konkretnie z paratopem). Dany epitop może silniej lub słabiej pobudzać układ odpornościowy. Te epitopy danego antygeny, które wywołują najsilniejszą odpowiedź odpornościową u danego gatunku lub osobnika, noszą nazwę determinant immunodominujących. Epitopy mogą mieć charakter sekwencyjny – w tym przypadku mówi się o układzie kolejnych aminokwasów w łańcuchu peptydowym, które są rozpoznawane przez przeciwciało – lub przestrzenny. Aminokwasy nie

larne cechy alergenu. Struktura oraz biochemiczne i fizykochemiczne właściwości alergenu decydują o jego sile alergizującej. Niezwykle istotną rolę we właściwym zrozumieniu znaczenia molekularnej struktury alergenów odgrywają **epitopy**, czyli determinanty antygenowe, które są fragmentami antygeny, łączące się bezpośrednio z przeciwciałem. Najbardziej ścisłe określenie epitopu oznacza tylko i wyłącznie miejsce bezpośredniej interakcji antygeny z przeciwciałem (a konkretnie z paratopem). Dany epitop może silniej lub słabiej pobudzać układ odpornościowy. Te epitopy danego antygeny, które wywołują najsilniejszą odpowiedź odpornościową u danego gatunku lub osobnika, noszą nazwę determinant immunodominujących. Epitopy mogą mieć charakter sekwencyjny – w tym przypadku mówi się o układzie kolejnych aminokwasów w łańcuchu peptydowym, które są rozpoznawane przez przeciwciało – lub przestrzenny. Aminokwasy nie

Adres do korespondencji: prof. dr hab. n. med. Zbigniew Bartuzi, Katedra i Klinika Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, ul. Ujejskiego 75, 85-168 Bydgoszcz, e-mail: zbartuzi@cm.umk.pl

muszą wtedy wchodzić w skład jednej, ciągłej sekwencji łańcucha peptydowego, ale muszą tworzyć odpowiednią strukturę przestrzenną, rozpoznawaną przez przeciwciała. Mogą mieć także charakter nakładający się. Wówczas aminokwasy wchodzące w skład danej determinanty (np. sekwencyjnej) wchodzą także w skład innego epitopu, np. przestrzennego [2].

Jedną ze strukturalnych cech białka odpowiedzialnych za stabilność cząsteczki są **mostki disiarczkowe**. Występują zarówno wewnątrz łańcucha polipeptydowego, jak i między łańcuchami. Powodują one „skrępowanie” trójwymiarowej struktury cząsteczki, co ogranicza wpływ na białko czynników chemicznych i temperatury. Przykładem jest białko gorczycy Sin a 1 mające 4 mostki disiarczkowe powodujące wysoką termostabilność, odporność na skrajne pH i proteolizę. Innym przykładem jest białko kukurydzy nsLTP mające 8 mostków, co powoduje utrzymanie właściwości wiązania IgE po gotowaniu w temp. 100°C [3].

Istotnym elementem w molekularnej strukturze alergenów są **białka reomorficzne**. Nazwę tę użyto po raz pierwszy w 1993 r. (Holt i Sawyer) do określenia budowy i właściwości kazeiny. Terminem tym określa się białka zawierające duże regiony o nieuporządkowanej strukturze. Białka te mają „dynamiczną naturę”. Bardzo trudno zmienić ich strukturę pod wpływem temperatury – skutkiem tego jest bardzo duża liczba epitopów termostabilnych [4].

Bardzo ważną rolę we właściwościach fizykochemicznych alergenów odgrywają tzw. **struktury powtarzalne**. Przykładem jest tropomiozyna (alergen skorupiaków) występująca głównie w komórkach mięśniowych, gdzie wraz z aktyną i miozyną odgrywa kluczową rolę w skurczu mięśni. Zawiera powtarzające się fragmenty złożone z 7 reszt aminokwasowych (powtórzenia nawet 40 razy). Jest alergenem termostabilnym. Innym przykładem jest białko krewetek Pen i 1, mające struktury powtarzalne, które nie traci właściwości alergizujących pod wpływem temperatury.

Niektóre białka (zwłaszcza zawarte w ziarnach zbóż) mają skłonność do tworzenia **agregatów**, tj. dużych struktur składających się z trimerów oraz heksamerów. Między nimi występują wiązania niekowalencyjne. Prowadzi to do wytworzenia licznych dużych agregatów i następnie sieci. Obecność dużych agregatów w żywności może zwiększać właściwości alergizujące.

Ostatnio zidentyfikowano i scharakteryzowano wiele alergenów pokarmowych, których implikacją kliniczną jest występowanie wielu objawów dotyczących różnych narządów i tkanek. Nadal trwają badania mające na celu określenie ich wspólnych cech i właściwości odpowiedzialnych za ich potencjał alergizujący. Aktualnie Podkomitet ds. Nazewnictwa Alergenów działający pod auspicjami Międzynarodowej Unii Towarzystw Immunologicznych (*Alergen Nomenclature Sub-Committee of the International Union of Immunological Societies*) i Światowej Organizacji Zdrowia opracował listę ponad 400 alergenów

i ok. 200 izoalergenów. W większości z nich udało się określić dokładną sekwencję cDNA, a w niektórych przypadkach także ich strukturę trójwymiarową [2, 5].

Alergeny owoców i warzyw są największą grupą alergenów pokarmowych, których znaczenie kliniczne wyraźnie się zwiększa w ostatnich latach. W obrębie tej grupy stwierdza się wysoką skłonność do występowania reakcji krzyżowych zarówno między owocami i warzywami, jak i z pyłkami traw, drzew i chwastów. Wspólne cechy pierwszorzędowe i trzeciorzędowe białek, a zwłaszcza podobieństwo ich strukturalnej sekwencji decyduje o wystąpieniu reakcji [6–8]. Wykazano, że gdy zgodność sekwencyjna białek osiąga 70%, wystąpienie reakcji krzyżowej jest bardzo realne. Przy zgodności poniżej 50% zjawisko to obserwuje się rzadko. Podobieństwo w sekwencji alergenów do ludzkich homologów jest również istotną kwestią, ponieważ może prowadzić do autoreaktywnego wytwarzania przeciwciał klasy IgE, czego przykładem bywa obecność tych przeciwciał skierowanych przeciwko ludzkiej profilinie i dysmutazie nadtlenku manganowego u chorych z objawami pyłkowicy i alergii na grzyby. Znaczna większość z nich wykazuje homologię budowy lub ma podobne właściwości [9]. Powstał więc nowy podział alergenów roślinnych oparty nie na źródle ich pochodzenia, ale kryteriach ich właściwości biochemicznych.

W tym nowym podziale wyróżnia się trzy główne grupy alergenów pokarmowych.

1. Alergeny z nadrodzin cupin i prolamin:

- nadrodzina cupin:
 - viciliny – białka spichrzeniowe nasion, 7S globuliny (Ara h 1, Jug r 2, Len c 1, Ses i 3, Pis s 1),
 - leguminy – białka spichrzeniowe nasion, 11S globuliny (Ara h 3, Ara h 4, Cor a 9, Ber e 2);
- nadrodzina prolamin:
 - 2S albuminy – białka spichrzeniowe (Ber e 1, Ses i 1, 2, Bra j 1, Bra n 1, Sin a 1, Ryc c 1, Ana o 3, Jug n 1, Jug r 1, Ara h 2, 6, 7),
 - nsLTP – niespecyficzne białka przenoszące lipidy (Pru p 3, Cor a 8, Zea m 14, Mal d 3, Pru av 3, Pru d 3, Aspa o 1, Lac s 1, Vit v 1, Jug r 3, Pru ar 3, Pru p 3),
 - zbożowe α -amylazy i inhibitory proteaz (ryżowy inhibitor α -amylazy, Hor v 15, Sec c 1),
 - zbożowe prolaminy (Tri a 19, Sec c 20).

2. Alergeny związane z systemem obronnym roślin:

- białka PR (*pathogenesis related*):
 - PR-2 (glukanaza bananowa),
 - PR-3 (Pers a 1, Cas s 5),
 - PR-4 (Bra r 2),
 - PR-5 (Pru av 2, Mal d 2, Cap a 1, Act c 2),
 - PR-9 (Tri a Bd 36K),
 - PR-10 (Api g 1, Mal d 1, Ara h 8, Gly m 4),
 - PR-14 – homologiczne z nsLTP;
- proteazy:
 - cysteinowe podobne do papainy (Act c 1),
 - serynowe (Cuc m 1);

- inhibitory proteaz:
 - typu Kunitz (sojowy inhibitor trypsyny, Sola t 2),
 - zbożowe α -amylazy/inhibitory proteaz (ryżowy inhibitor α -amylazy).
- 3. Inne alergeny związane z białkami strukturalnymi i metabolicznymi roślin:**
- białka strukturalne:
 - profiliny (Api g 4, Pru av 4, Dau c 4, Cor a 2, Pyr c 4, Pru p 4, Mus xp 1, Ana c 1, Lit c 1, Gly m 3, Ara h 5, Cap a 2, Lyc e 1, Cuc m 2),
 - oleozyny (oleozyna orzeszków ziemnych);
- białka spichrzeniowe:
 - patatyna (Sola t 1);
- enzymy:
 - reduktaza eteru bezylo-phenylcoumaranu (Pyr c 5),
 - cyklofiliny (cyklofiliny marchwi),
 - β -fruktofuranazydazy (Lyc e 2),
 - oksydaza flavin-adenina-zależna (Api g 5).

Do najczęściej spotykanych alergenów odpowiedzialnych za występowanie reakcji krzyżowych zalicza się: Bet v 1 – istniejące w ponad 20 izoformach, profiliny – wszędobylską rodzinę białek o ciężarze właściwym 15–18 kDa, kontrolującą wiązanie aktyny w komórkach eukariotycznych, chitinazę (PR-3) – występującą w dwóch grupach białek, lipidowe białka transferowe – LTP, szeroko rozpowszechnione, wysoce stabilne i odporne na trawienie pepsyną, tropomiozynę – główne białko mięśni krewetek, krabów i ostryg, cyklofiliny – białka o ciężarze właściwym 18 kDa, białka taumatynowe – TLP – należące do PR-5, reduktazę izoflawonową IFR o ciężarze właściwym 33–35 kDa; lipokalinę – jest białkiem o słodkim smaku i ciężarze właściwym 23–31 kDa, należy do PR-5, 2S albuminy, enolazę – enzym o ciężarze właściwym 48 kDa, który katalizuje wewnętrzną konwersję substratów w procesie glikolizy. Podobieństwo białek może dotyczyć roślin zbliżonych gatunkowo oraz tych bez znamiennej bliskości gatunkowej [10].

Dokonujący się w ostatnich latach postęp w zakresie biochemii, immunologii klinicznej, inżynierii genetycznej, naukach podstawowych sprawia, że wiedza o zjawiskach związanych z nadwrażliwością typu alergicznego na pokarmy stale się poszerza i w konfrontacji z obrazem klinicznym staje się koniecznością dla alergologów.

Piśmiennictwo

1. Aalberse RC. Structural biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 228-8.
2. Chapman MD, Pome's A, Breiteneder H, Ferreira F. Nomenclature and structural biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 414-20.
3. Aalberse RC, Akkerdaas J, van Ree R. Cross-reactivity of IgE antibodies to allergens. *Allergy* 2001; 56: 478-90.
4. Ferreira F, Hawranek T, Gruber P, et al. Allergic cross-reactivity: from gene to the clinic. *Allergy* 2004; 59: 243-67.
5. Thomas WR, Hales BJ, Smith WA. Structural biology of allergens. *Curr Allergy Asthma Rep* 2005; 5: 388-93.
6. Hoffman DR. Structural biology of allergens from stinging and biting insects. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008; 8: 338-42.

7. Albrecht M, Kühne Y, Ballmer-Weber B, et al. Relevance of IgE binding to short peptides for the allergenic activity of food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124: 328-36.
8. Breiteneder H, Mills EN. Molecular properties of food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 14-23.
9. Radauer C, Bublin M, Wagner S, et al. Allergens are distributed into few protein families and possess a restricted number of biochemical functions. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 847-52.
10. Weber RW. Patterns of pollen cross-allergenicity. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 229-39.