

Streszczenie

Kacper Packi

Tytuł rozprawy: Diagnostyka alergii pokarmowej u małych dzieci z wykorzystaniem metod proteomicznych i metabolomicznych

Chorzy z alergią na pokarmy stanowią heterogenną grupę. Zróznicowane są przyczyny, patogeneza i obraz kliniczny. Jednym z istotnych czynników ryzyka rozwoju alergii pokarmowej jest atopowe zapalenie skóry (AZS). Według statystyk 30% dzieci, u których rozwinęła się umiarkowana lub ciężka postać AZS, cierpi dodatkowo na alergię pokarmową. Podstawą podejrzenia alergii pokarmowej jest wywiad. Tylko część objawów można ocenić obiektywnie w oparciu o badanie przedmiotowe. Testy *in vitro* i *in vivo* weryfikują IgE-zależny mechanizm nadwrażliwości, ale nie ma między nimi pełnej korelacji. Niedostępne są metody laboratoryjnej weryfikacji alergii niezależnej od IgE. Dodatkowo u dzieci z AZS rozpoznanie alergii pokarmowej często utrudniają zmiany skórne, różnorodność spożywanych produktów, zmienność ich właściwości alergizujących oraz występowanie reakcji krzyżowych pomiędzy homologicznymi alergenami. Tych problemów nie rozwiązują nawet stosowane od kilku lat nowe systemy diagnostyczne oparte na diagnostyce molekularnej. Wciąż zauważalna jest potrzeba wprowadzenia nowych markerów diagnostycznych, umożliwiających personalizację zaleceń terapeutycznych.

Celem rozprawy doktorskiej była analiza profilu uczulenia pacjentów pediatrycznych w wieku 0-5 lat z AZS oraz identyfikacja i analiza zmian w profilu metabolitów i białek pacjentów. Na podstawie przeprowadzonych badań naukowych osiągnięto również cel wdrożeniowy projektu, tj. stworzenie precyzyjnego algorytmu diagnostycznego dla dzieci w wieku 0-5 lat z AZS i podejrzeniem alergii pokarmowej.

Zakres badań realizowanych w ramach projektu obejmował diagnostykę głównych alergii pokarmowych wieku dziecięcego od 0 do 5 roku życia. Do udziału w badaniu włączono pacjentów pediatrycznych, u których obserwowano związek występowania przewlekłych objawów AZS lub ich zaostrzeń z ekspozycją na pokarmy (L20). Dodatkowo u części pacjentów wystąpiły ostre objawy po ekspozycji na pokarmy pod postacią pokrzywki (L50), obrzęku naczynioruchowego (T78.3) i/lub anafilaksji (T78.0). Uczestnicy badania zostali poddani dogłębnej diagnostyce w kierunku IgE-zależnej alergii pokarmowej. Poprzez wyselekcjonowanie najczęściej alergizujących molekuł istotnych klinicznie został stworzony pokarmowy panel diagnostyczny optymalny dla dzieci z AZS w wieku 0-5 lat. Następnie została podjęta próba scharakteryzowania alergii pokarmowej zależnej i niezależnej od IgE na poziomie proteomiczno-metabolomicznym. Założenia pracy zostały w pełni zrealizowane

dzięki wykorzystaniu zaawansowanych technik przygotowania próbek, nowoczesnych metod spektrometrii mas oraz szerokiego wachlarza narzędzi bioinformatycznych i statystycznych.

Nasze wyniki dowodzą, że alergia pokarmowa stanowi poważny problem w grupie dzieci 0-5 lat z przewlekłymi objawami AZS. Poznanie wzajemnych relacji alergenów należących do grupy białek zapasowych roślin stanowi podstawę prawidłowego rozpoznania wielu groźnych dla pacjentów uczuleń oraz oceny ryzyka wystąpienia reakcji anafilaktycznej. Przeprowadzone badania doprowadziły do identyfikacji zmian w profilu metabolitów oraz białek pacjentów. Analiza metabolomiczna wykazała, że wystąpienie alergii pokarmowej oraz jej mechanizm wpływa na poziom wolnych aminokwasów w surowicy pacjentów pediatrycznych z AZS. Zastosowana strategia proteomiczna pozwoliła zidentyfikować cztery białka, tj. *cell cycle control protein 50A* (CDC50A/TMEM30A), *DENN domain-containing protein 5A* (DENND5A), *SKI family transcriptional corepressor 2* (SKOR2) oraz *testis-expressed sequence 13B* (TX13B), różnicujące pacjentów z pierwotną alergią na pokarmy pochodzenia roślinnego. Konstatacja zmian na poziomie proteomu najmłodszych pacjentów uczulonych na białka zapasowe roślin daje nadzieję na wczesne rozpoznanie pierwotnej alergii pokarmowej oraz stwarza możliwość oceny ciężkości reakcji alergicznej i przewidywania wystąpienia anafilaksji po spożyciu pokarmów roślinnych. Poprzez określenie profilu cytokin zaangażowanych w szlak odpowiedzi immunologicznej komórek T pomocniczych typu 17 u dzieci z AZS i alergią na pokarmy zrewidowany został paradygmat Th1/Th2 choroby alergicznej. Przedstawione wyniki są kolejnym ważnym krokiem w zrozumieniu molekularnych podstaw alergii pokarmowej. Rozszerzenie grupy badawczej i zintegrowanie podejścia metabolomiczno-proteomicznego z rutynową metodą diagnostyczną IgE-zależnej alergii pokarmowej może być znaczące w procesie diagnozy, wyborze efektywnej terapii oraz monitorowaniu przebiegu i leczenia alergii. W rozprawie doktorskiej poruszony został również temat diagnostyki różnicowej w przypadku alergii pokarmowej. Ekwiwalencja objawów alergii i pasożytozy wskazuje na konieczność prowadzenia równoległej diagnostyki różnicującej obu schorzeń u pacjentów pediatrycznych o fenotypie atopowym. Na podstawie literatury fachowej w dziedzinie alergologii i pasożytologii wnikliwie przeanalizowano wzajemne powiązania między alergią pokarmową i infestacją pasożytniczą oraz omówiono zagadnienie diagnostyki różnicowej obu schorzeń. Tożsamość mechanizmów inicjujących stan zapalny i przebieg reakcji obronnych organizmu w alergiach oraz zarażeniach pasożytniczych stwarza konieczność weryfikacji dotychczas obowiązujących standardów diagnozowania.

24.10.2023

Joanna Pady