

Tolerancja doustna – czynniki prognostyczne, patomechanizm, czynniki immunomodulujące

Oral tolerance – prognostic factors, patomechanism, immunomodulatory factors

IZABELA SARDECKA, ANETA KROGULSKA

Klinika Alergologii, Gastroenterologii i Żywienia Dzieci III Katedry Pediatrii UM w Łodzi

Streszczenie

Choroby alergiczne są istotnym problemem zdrowotnym współczesnego społeczeństwa. Występują u ok. 30-40% dzieci i zazwyczaj pierwszą manifestacją jest alergia na pokarmy, którą określa się jako defekt nabywania naturalnej tolerancji na alergeny pokarmowe. Większość dzieci nabywa tolerancję na białka mleka krowiego do 4-5 r.ż. Tolerancja pokarmowa warunkuje tolerancję immunologiczną całego organizmu. Wykazano, że tolerancja na alergeny pokarmowe jest związana z rozwojem antygenowo-specyficznych limfocytów Treg CD4+CD25+. Za najlepszy marker limfocytów Treg uznano czynnik transkrypcyjny FOXP3. Mechanizm nabywania tolerancji nie jest dokładnie poznany. Istotne znaczenie w tym procesie ma GALT oraz nabłonek jelita. Ponadto, nabywanie tolerancji zależy od szeregu czynników, takich jak m.in.: predyspozycja genetyczna, wiek, dojrzałość jelita oraz rodzaj karmienia (naturalne/sztuczne). Elementami, które dodatkowo mogą w istotny sposób modulować rozwój naturalnej tolerancji są dietetyczne czynniki, takie jak: probiotyki, witaminy A, C, D oraz kwasy omega 3. Alergia na białka mleka krowiego stanowi istotny czynnik ryzyka rozwoju alergii na inne alergeny pokarmowe, jak również zwiększa prawdopodobieństwo ujawnienia się astmy w późniejszym okresie życia. Stąd poznanie czynników, mających wpływ na rozwój choroby, jak również na jej ustępowanie, czyli nabywanie naturalnej tolerancji stanowią wyzwanie współczesnej medycyny.

Słowa kluczowe: *alergia pokarmowa, doustna tolerancja, patomechanizm, limfocyty Treg*

Summary

Allergy is a significant health problem in modern ages. It affects about 30-40 per cent of children and at first, it is usually manifested as food allergy, which is thought to represent the failure to acquire the natural tolerance to food proteins. The majority of children acquire cow milk protein tolerance before they are 4-5 years old. Oral tolerance determines systemic immune tolerance and is connected with antigen-specific lymphocytes TregCD4+CD25+. The transcription factor Foxp3 is the best marker of Treg lymphocytes. The mechanisms of oral tolerance have not been yet completely elucidated. Gut-associated lymphoid tissue (GALT) and gut epithelium play a major role in these mechanisms. Besides, the ability to acquire the tolerance depends on many factors, such as genetic predisposition, child's age, maturity of the intestine, the way of feeding (natural/artificial). Dietary factors, such as probiotics, vitamins A, C, D and omega3 acid also play an important role in oral tolerance. Cow's milk allergy is the major risk factor for allergy to other food proteins and for the asthma in adulthood. Identification of the factors which can modulate the development and remission of the symptoms of food allergy is a challenge to the contemporary medicine.

Keywords: *food allergy, oral tolerance, pathomechanism, Treg lymphocytes*

© *Alergia Astma Immunologia* 2015, 20 (2): 94-100

www.alergia-astma-immunologia.eu

Przyjęto do druku: 27.11.2014

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Dr hab. n. med. Aneta Krogulska

Klinika Alergologii, Gastroenterologii i Żywienia Dzieci

III Katedry Pediatrii UM w Łodzi

91-738 Łódź, ul. Sporna 36/50

tel. 42 617 77 27

e-mail: izabela.sardecka@onet.pl

Wstęp

Choroby alergiczne stanowią istotny problem zdrowotny współczesnego społeczeństwa, szczególnie w populacji wieku rozwojowego. Szacuje się, że występują u ok. 30-40% dzieci. Zazwyczaj pierwszą manifestacją chorób alergicznych jest alergia na pokarmy (AP), którą określa się jako defekt rozwoju lub utratę naturalnej tolerancji na alergeny pokarmowe.

Dane epidemiologiczne dotyczące częstości występowania AP są zróżnicowane: w USA dotyczy ona od 6 do 8% dzieci [1], w Europie od 0,3 do 10,8% dzieci [2], natomiast w Polsce od 0,5 do 4,8% niemowląt [3]. Kluczową postacią AP jest alergia na białka mleka krowiego, której częstość

w wieku niemowlęcym wynosi 2-7,5% [4,5]. Oprócz szerokiego rozpowszechnienia alergii na pokarmy, badania wskazują na wzrost częstości jej występowania o prawie 20% w ciągu ostatniej dekady, co zaowocowało określeniem jej mianem „drugiej fali epidemii alergii” [4,6,7]. Ponadto wykazano, że AP, podobnie jak np. cukrzyca, znacznie obniża jakość życia pacjentów i ich rodzin [8]. Co więcej, stanowi ona podstawowy czynnik anafilaksji u dzieci, odpowiadając za 57% reakcji anafilaktycznych, w tym 13% reakcji śmiertelnych [9]. Choć dane z końca XX wieku wskazywały, że ok. 80% dzieci nabywa tolerancję na białka mleka krowiego, czyli „wyrasta” z AP do 4-5 r.ż., to obecnie obserwuje się wydłużanie czasu osiągnięcia tolerancji na pierwotnie uczulające trofoalergeny [10]. Ostatnio obserwuje się również

narastający trend występowania alergii pokarmowej u osób dorosłych. Wg danych ECAP AP obejmuje w Polsce 5-13% osób dorosłych [11]. Jednocześnie alergią na białka mleka krowiego stanowi istotny czynnik ryzyka rozwoju alergii na inne alergeny pokarmowe, jak również wziewne oraz zwiększa ryzyko ujawnienia się astmy w późniejszym okresie życia [12].

Stąd poznanie czynników mających wpływ na rozwój choroby, jak również na jej ustępowanie, czyli nabywanie naturalnej tolerancji stanowi wyzwanie współczesnej medycyny.

Tolerancja doustna – czynniki prognostyczne

Tolerancja doustna jest fragmentem ogólnoustrojowej tolerancji immunologicznej, której cechą charakterystyczną jest brak reakcji na antygeny własne. Jej celem jest rozpoznanie obcych antygenów, np. alergenów pokarmowych dostających się do organizmu przez błonę śluzową jelita, jako własnych. Dane na temat czynników prognostycznych rozwoju tolerancji są zróżnicowane. Zależą one od wieku badanych pacjentów, rodzaju alergizującego pokarmu, patomechanizmu choroby, typu klinicznej manifestacji, jak również stopnia uczulenia (stężenia swoistych przeciwciał IgE we krwi i wielkości bąbla w punktowym teście skórny). W 1990 r. wykazano, że 78% dzieci z alergią na białka mleka krowiego nabyło tolerancję w 6 r.ż. [13], podczas gdy w 2007 r. taki sam odsetek badanej populacji nabył tolerancję dopiero w 16 r.ż. [10]. Ponadto stwierdzono, że tempo nabywania tolerancji jest różne w zależności od wieku. Choć dzieci szybciej „wyrastają” z alergii pokarmowej niż dorośli, to ci ostatni również mogą rozwinąć tolerancję na pokarmy. Wykazano, że po zastosowanej diecie eliminacyjnej 60-80% dzieci nabywa tolerancję, a tylko 38% dorosłych [14]. Istotne znaczenie dla historii naturalnej choroby ma również rodzaj alergizującego pokarmu. Badania wskazują, że znacznie łatwiej osiągnąć tolerancję w przypadku alergii na białka mleka krowiego, czy na jajko, podczas gdy alergią na rybę czy orzeszki ziemne wykazuje tendencję do przetrwania. Jednakże okazało się, że ok. 20% pacjentów z alergią na orzeszki ziemne czy rybę również ma szansę nabyć na te pokarmy tolerancję [15]. Ponadto stwierdzono, że rozwój tolerancji uzależniony jest od patomechanizmu alergii. Wykazano, że dzieci z alergią IgE-niezależną szybciej nabywają tolerancję niż dzieci z alergią IgE-zależną. Wg Vanto tolerancję na białka mleka krowiego w 4 r.ż. nabyło 63% dzieci z alergią IgE-zależną oraz 96% z alergią IgE-niezależną [16]. Co więcej wykazano, że wyjściowe wysokie stężenie swoistych IgE we krwi wiąże się wydłużeniem czasu nabywania tolerancji w stosunku do dzieci z niskim stężeniem swoistych IgE [10]. Garcia-Ara zaobserwował, że wyższe stężenie sIgE przeciwko kazeinie mleka (Bos d 8) zwiększa ryzyko przetrwania alergii na białka mleka krowiego [17]. Stwierdzono również, że pacjenci z wyższym stężeniem sIgE przeciwko epitopom konformacyjnym częściej wykazują kliniczną tolerancję, niż z sIgE przeciwko epitopom sekwencyjnym [18]. Jednakże choć próbuje się oceniać przydatność diagnostyki molekularnej w przewidywaniu historii naturalnej alergii, to badania są często

sprzeczne i wciąż niejednoznaczne [19]. Ciekawe i istotne badania zarówno pod względem rokowania, jak i terapii AP przeprowadzono ostatnio w USA. Wykazano, że dzieci poddane ekspozycji na zmodyfikowane termicznie alergeny pokarmowe szybciej nabywają tolerancję i mają łagodniejszy przebieg choroby [20]. Ok. 75% dzieci z alergią na białka mleka krowiego lub alergią na białka jaja kurzego toleruje przetworzone produkty mleka i jajek, tj. produkty poddane obróbce termicznej a nie toleruje „surowego mleka” czy „surowego jajka” [20,21]. Badania nad znaczeniem różnych czynników dla prognozowania rozwoju tolerancji trwają.

Tolerancja doustna a bariera jelitowa

Nabłonek jelita jako bariera immunologiczna

Ze względu na fakt absorpcji antygenów w jelicie cienkim, badania nad mechanizmami regulującymi tolerancję doustną skupiają się głównie na nabłonku jelita. Pełni on podwójną funkcję: bariery mechanicznej, jak również immunologicznej, związanej z GALT (*gut-associated lymphoid tissue*, tkanka limfatyczna związana z błoną śluzową i podśluzową przewodu pokarmowego). GALT jest jedną ze składowych MALT (*mucosa-associated lymphoid tissue*, tkanka limfatyczna związana z błonami śluzowymi). Na MALT składają się także: BALT (*bronchus-associated lymphoid tissue*, tkanka limfatyczna związana z oskrzelami), NALT (*nasopharynx/nose-associated lymphoid tissue*, tkanka limfatyczna związana z nosem i gardłem), MGALT (*mammary gland-associated lymphoid tissue*, tkanka limfatyczna związana z kanałami mlecznymi), SALT/DALT/LDALT (*salivary gland- /duct- /lacrimal drainage-associated lymphoid tissue*, tkanka limfatyczna związana z gruczołami ślinowymi i łzowymi), GUALT (*genitourinary-associated lymphoid tissue*, tkanka limfatyczna związana z układem moczowo-płciowym) oraz TALT (*Eustachian tube-associated lymphoid tissue*, tkanka limfatyczna związana z trąbką słuchową [22,23]. Pod względem aktywności immunologicznej układu MALT największe znaczenie ma GALT, w skład którego wchodzi ponad 75% komórek limfatycznych całego układu odpornościowego. W organizmie człowieka około 80% wszystkich immunoglobulin jest wytwarzanych w jelicie, a co najmniej 50% wszystkich limfocytów jest umiejscowionych w GALT.

Wiadomo, że utrzymanie tolerancji wymaga zaangażowania zarówno komórkowych, jak i humoralnych procesów immunologicznych. Są one indukowane w jelitowej blaszce właściwej oraz krezkowych węzłach chłonnych na drodze aktywnych procesów, które inicjowane są od najwcześniejszego okresu życia z udziałem limfocytów T i składowych GALT. GALT pełni zasadniczą rolę w utrzymaniu homeostazy ogólnoustrojowej, tj. pozwala na różnicowanie między patogenami a antygenami „nieszkodliwymi”, znajdującymi się w świetle jelita, rozwijając odpowiedź immunologiczną na patogeny a tolerancję na antygeny niepatogenne. GALT stanowi istotną barierę przed szkodliwymi antygenami, dostającymi się do organizmu dzięki jego mikrośrodkowi, na które składają się: flora bakteryjna, pH soków trawienych, enzymy proteolityczne, laktoferyna, lizozym, defensyny i śluz.

Struktura GALT:

- A. zorganizowany GALT: składający się z grudek limfatycznych, odpowiedzialnych za indukcję odpowiedzi immunologicznej,
- B. rozsiany GALT: składający się z limfocytów rozproszonych w nabłonku i blaszce właściwej, stanowiących miejsca efektorowe [24].

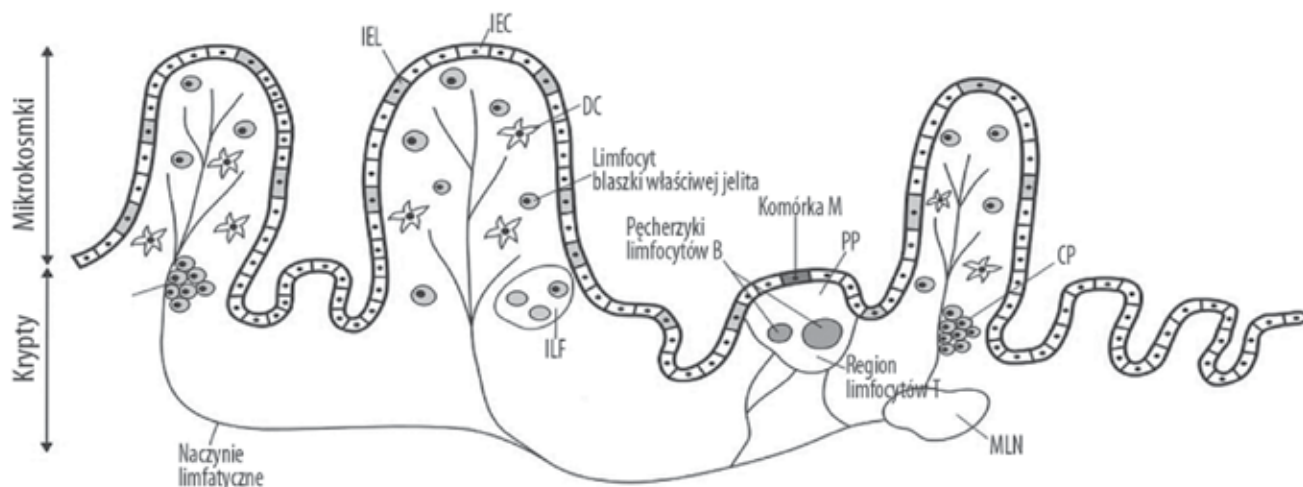
Zorganizowany GALT zawiera: kępki Peyera, grudki chłonne i krezkowe węzły chłonne. Kępki Peyera (PP, *Peyer's patches*) są najważniejszą strukturą limfatyczną, biorącą udział w indukcji tolerancji. Największa ich ilość obecna jest w błonie podśluzowej dystalnej części jelita cienkiego, tj. jelicie krętym, a także w jelicie czczym i dwunastnicy. Istotny w nabywaniu tolerancji jest fakt, że kępki Peyera rozwijają się już w okresie prenatalnym, a ich liczba maleje po okresie pokwitania. Cechą odróżniającą je od węzłów chłonnych innych obszarów ciała jest brak aferentnych dróg limfatycznych, co potwierdza fakt przedostawania się antygenów ze światła jelita poprzez nabłonek [25]. Kępki Peyera składają się z trzech elementów: grudek limfatycznych (skupisko limfocytów B), obszarów międzygrudkowych (głównie limfocyty T), kopuł (utworzonych przez nabłonek towarzyszący grudkom (FAE, *follicle-associated epithelium*), w których obecne są komórki M (*microfold*, pofałdowane) [25, 26] (ryc. 1). Komórki M to wyspecjalizowane enterocyty, wychwytyjące patogeny ze światła jelita i przenoszące je do obszarów podnabłonkowych. Na powierzchni komórek M znajduje się glikokaliks, który reaguje ze składnikami ścian komórkowych bakterii. W indukcji odpowiedzi immunologicznej biorą także udział komórki Gobleta, czyli komórki nabłonka produkujące glikokaliks, umożliwiając w ten sposób transport antygenów.

Kolejnym istotnym elementem indukcji tolerancji pokarmowej są węzły chłonne krezkowe przewodu pokarmowego i/lub izolowane grudki chłonne [27]. Izolowane grudki chłonne składają się z limfocytów B (do 70%) oraz komórek plazmatycznych produkujących IgA [28].

Na **rozsiany GALT** składają się mononuklearny blaszki właściwej i śródnabłonkowe limfocyty (IEL, *intraepithelial lymphocytes*). Funkcja IEL nie jest jasna, ale uważa się, że mają działanie cytotoksyczne, regulują wydzielanie cytokin i biorą udział w rozwoju tolerancji. W obrębie IEL wyróżnia się komórki typu „a” oraz komórki typu „b”. Komórki typu „a” częściej odpowiadają za reakcje odporności nabytej, natomiast komórki typu „b” za reakcje odporności naturalnej. W jelicie cienkim komórki typu „a” i „b” są w podobnej ilości, zaś w jelicie grubym dominują komórki typu „a” i więcej jest ich w populacji dziecięcej [29]. Do najliczniej występujących leukocytów jelita należą makrofagi. Mają one silne właściwości fagocytarne, przeciwbakteryjne. Produkują IL-10, a ponadto regulują rozwój Treg CD8+ (Treg- limfocyty T regulatorowe) [25]. Około 80% mononuklearów blaszki właściwej jelita wydziela IgA.

Nabłonek jelita jako bariera mechaniczna

Nabłonek jelitowy pełni istotny element homeostazy ogólnoustrojowej, stanowiąc oprócz bariery immunologicznej, także barierę mechaniczną. Komórki nabłonka są ściśle ze sobą związane w ich szczytowej części połączeniami o typie obwódki zamykania lub zwierania [30]. Jelitowe komórki nabłonka (IECs, *Intestinal epithelial cell*) tworzą tzw. „molekularną uszczelkę”, scalającą przestrzeń międzykomórkową [31]. Stanowi to zasadniczą linię obrony przed patogenami. Szczelność i tym samym przepuszczalność nabłonka jest zależna od wielu elementów, w tym między innymi od wieku. Wiadomo, że w okresie wczesnego dzieciństwa jest ona znacznie mniejsza, niż u dzieci starszych, co wiąże się z łatwiejszym wnikaniem do ustroju patogenów, a tym samym alergenów i zwiększonym ryzykiem rozwoju alergii pokarmowej u niemowląt. Nabłonek jelitowy zawiera enterocyty (komórki wchłaniające), komórki Panetha, komórki kubkowe oraz śródnabłonkowe limfocyty. Komórki Panetha znajdują się w dnach gruczołów jelitowych, czyli kryptach Lieberkühna. Zawierają one w swoich ziarnach



Ryc. 1. Elementy układu GALT (za zgodą [26])

IEL – limfocyty śródnabłonkowe, IEC – jelitowe komórki nabłonkowe, ILF – samodzielne grudki chłonne, CP – kryptokępka, PP – kępki Peyera, MLN – krezkowe węzły chłonne

lizozym, fosfolipazę A, defensyny alfa, które zostają uwalniane pod wpływem kontaktu z bakteriami. W błaszcze właściwej błony śluzowej znajdują się liczne komórki, biorące udział w obronie przed patogenami. Są to limfocyty (min. plazmocyty, wytwarzające przeciwciała, głównie IgA), makrofagi, komórki tuczne (typu MMC), granulocyty. To właśnie limfocyty odgrywają podstawowe znaczenie w rozwoju tolerancji pokarmowej. Poprzez wydzielanie przeciwciał IgA regulują odpowiedź immunologiczną organizmu na antygeny dostające się do organizmu.

Tolerancja pokarmowa – patomechanizm

Tolerancja pokarmowa polega nie tyle na braku aktywnej odpowiedzi immunologicznej wobec antygenów dostających się do organizmu wraz ze spożywanym pokarmem, co na swoistym rozpoznaniu antygeny i rozwoju odpowiedzi immunologicznej, ale nie destrukcyjnej, tylko regulacyjnej. Jest ona ważnym elementem tolerancji immunologicznej całego organizmu, przyczyniając się w ten sposób do utrzymania równowagi wewnętrznej ustroju. Pierwsza wzmianka na temat tolerancji doustnej pochodzi z 1911r., kiedy Wells i Osborn zaobserwowali, że u świnek morskich, które zostały poddane doustnej ekspozycji na alergeny pokarmowe, nie dochodziło do rozwoju reakcji anafilaktycznej po ponownym kontakcie z nimi [32].

Droga ekspozycji na alergen ma kluczowe znaczenie dla rozwoju tolerancji. Dowiedziono bowiem, że sposób ekspozycji determinuje rozwój alergii bądź tolerancji. Niezbędnym elementem dla rozwoju tolerancji pokarmowej jest doustna podaż alergenu. Wg Lack ekspozycja skórna na alergeny prowadzi do produkcji przeciwciał IgE przez limfocyty B oraz odpowiedzi ze strony limfocytów Th2 (*T helpers*, limfocyty T pomocnicze) [33]. Natomiast wczesna ekspozycja doustna skutkuje indukcją tolerancji pokarmowej dzięki aktywności limfocytów Th1 oraz Treg w GALT. Chehade wykazał, że w wyniku pierwotnej ekspozycji na alergen poprzez skórę i kolejnej tą samą drogą, dochodzi do aktywnej odpowiedzi immunologicznej i produkcji przeciwciał IgE, a tym samym rozwoju reakcji alergicznej. Natomiast w przypadku pierwszorazowej ekspozycji na alergen drogą doustną, a następnie drogą przezskórną, dochodzi do rozwoju tolerancji [34].

By antygen został rozpoznany przez układ immunologiczny musi najpierw przekroczyć nabłonek jelitowy. Odbywa się to na drodze:

- transcytozy przez wyspecjalizowane komórki nabłonka, tj. przez komórki M bądź komórki Gobleta,
- aktywnego transportu przez enterocyty,
- przenikania pomiędzy enterocytami nabłonka,
- bądź poprzez wypustki komórek dendrytycznych CX3CR1+DC [35,36].

Następnie po przejściu przez nabłonek i przedostaniu się do GALT, w węzłach chłonnych krezki antygen jest prezentowany dziewiczym (naiwnym) limfocytom T przez komórki prezentujące antygen (APC, *antigen presenting cell*). Wśród nich niezwykle istotne znaczenie mają komórki dendrytyczne (DC, *dendritic cell*), uważane obecnie za jedyne mogące

dokonać primingu limfocytów, czyli pobudzenia tzw. komórek dziewiczych, które nigdy wcześniej nie zetknęły się z antygenem. Jest to niezbędny element rozwoju aktywnej tolerancji, a zasadnicze znaczenie mają 2 rodzaje komórek APC:

- podgrupa identyfikowana przez ekspresję CD11c oraz CD103
- podgrupa identyfikowana przez ekspresję CD11b oraz CX3CR1 [37].

Podgrupa o ekspresji CD11c oraz CD103 wykazuje wysoką ekspresję CCR7, charakteryzującą receptory zasiedlania, co umożliwia ponowną migrację do krezkowych węzłów chłonnych (blaszki właściwej jelita) [38]. Rola CD11b oraz CX3CR1 jest kontrowersyjna [39]. Los naiwnych antygenowo-swoistych limfocytów T po stymulacji przez APC zależy od mikrośrodowiska cytokinowego. W warunkach homeostazy, wysokie stężenie TGFβ (produkowanego przez CD103+DC oraz przez IEC) i kwasu retinowego (pochodzącego z witaminy A) w węzłach chłonnych krezki promują „tolerogeniczne” środowisko, prowadząc do rozwoju limfocytów Treg [40,41]. Kwas retinowy zwiększa zależną od TGFβ ekspresję Foxp3 (czynnika transkrypcyjnego odpowiedzialnego za różnicowanie limfocytów Treg). Przy tolerogenicznym środowisku krezkowych węzłów chłonnych dochodzi do zwiększenia ekspresji receptorów zasiedlania CCR9, które ukierunkowują migrację limfocytów Treg z powrotem do blaszki właściwej jelita [42,43].

Zasadniczą rolą limfocytów Treg jest regulacja funkcji innych limfocytów, tak by nie dochodziło do indukcji nadmiernych reakcji immunologicznych, leżących u podstaw chorób autoimmunologicznych czy zapalnych organizmu. Limfocyty Treg hamują aktywność limfocytów Th1 oraz Th2, regulując w ten sposób odpowiedź immunologiczną na alergeny pokarmowe [44]. Do limfocytów Treg, odgrywających zasadnicze znaczenie w rozwoju i utrzymaniu tolerancji doustnej zaliczamy: iTreg (indukowane Treg, tj. CD4+CD25+Foxp3+Tcell), nTreg (naturalne Treg, tj. CD4+CD25+Foxp3+Tcell), limfocyty Th3 (wydzielające TGFβ), limfocyty Tr1 (wydzielające IL-10) oraz CD8+Treg [45]. Do cytokin mających kluczowe znaczenie dla funkcjonowania Treg należą: TGFβ, IL-10 oraz IL-35. TGFβ jest cytokiną odpowiedzialną za regulację proliferacji komórek, ekspresję składników macierzy komórkowej i supresję układu immunologicznego. IL-10 hamuje syntezę prozapalnych cytokin, takich jak: IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNFα oraz obniża ekspresję wielu chemokin i ich receptorów. IL-10 wpływa bezpośrednio na funkcję APC przez zmniejszenie ekspresji cząsteczek MHC klasy II oraz kostymulujących na powierzchni makrofagów i monocytów [46]. Głównym zadaniem IL-35 jest hamowanie odpowiedzi odpornościowej zależnej od komórek Th1 i Th17, przy jednoczesnym wspieraniu limfocytów T regulatorowych.

Badania eksperymentalne wskazują, że podstawową rolę w indukcji tolerancji mają limfocyty iTreg, podczas gdy w jej utrzymaniu CD8+Treg [43]. Limfocyty Treg CD4+CD25+ hamują proliferację limfocytów efektorowych, jak i wydzielanie przez nie cytokin prozapalnych.

Kontrolują one swoistą odpowiedź immunologiczną na alergen poprzez [47,48]:

- supresję APC,
- supresję efektorowych komórek Th1, Th2 i Th17 (wewnątrzkomórkowy szlak sygnalizacyjny z udziałem NFAT),
- supresję alergenowo-swoistych IgE i indukcję IgG4, IgA (regulując funkcję limfocytów B),
- supresję mastocytów, bazofili i eozynofili,
- supresję migracji limfocytów efektorowych T do tkanek,
- bezpośrednią interakcję z komórkami (ryc. 2).

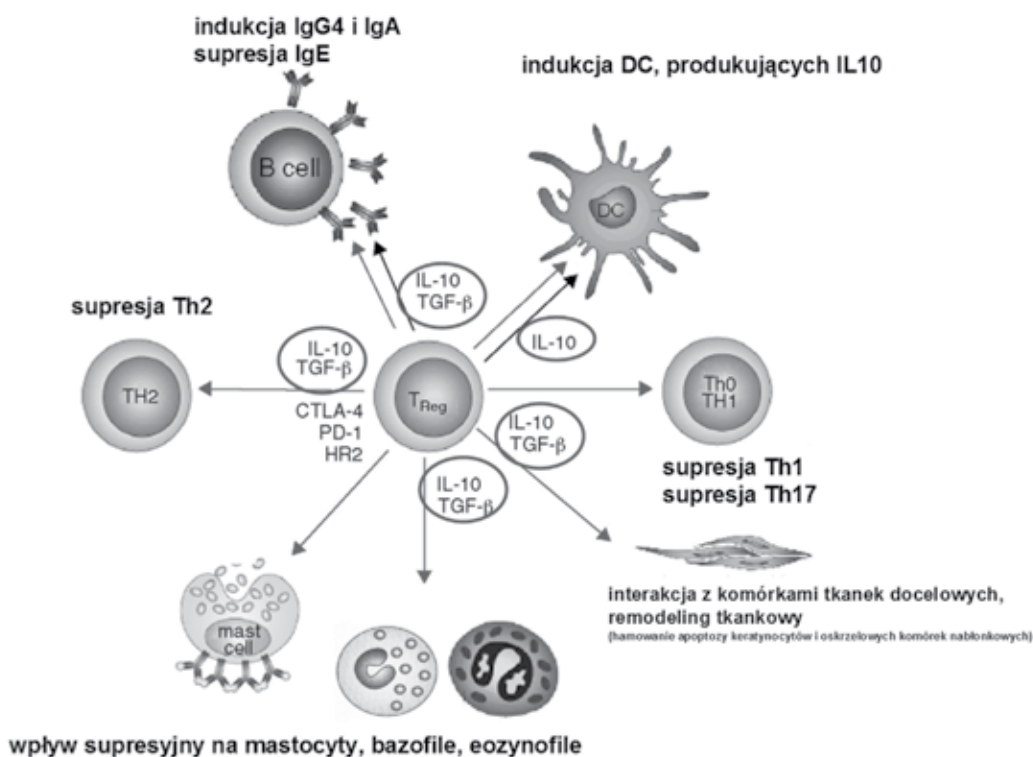
Przy braku limfocytów Treg, środowisko cytokinowe krezkowych węzłów chłonnych jest ukierunkowane na Th2, ze wzrostem limfocytów CD4+T, produkujących IL-4, IL-13 i IL-5 [49]. Do uczulenia na alergeny pokarmowe dochodzi wtedy gdy naiwne limfocyty CD4+ różnicują się w Th2 w obecności IL-4. Th2 promują reakcję alergiczną poprzez indukcję limfocytów B do produkcji IgE.

Środowisko cytokinowe nie jest jedynym regulatorem rozwoju tolerancji. Ostatnie badania wskazują na istotne znaczenie śluzu. Stanowi on nie tylko barierę mechaniczną między światłem jelita a IECs, ale aktywnie promuje tolerancję poprzez hamowanie ekspresji cytokin zapalnych przez DC. W obecności śluzu DC produkują więcej IL-10 i wykazują wyższą ekspresję enzymów zależnych od kwasu retinowego [50].

Istotne znaczenie w indukcji tolerancji odgrywają również limfocyty B. Są one odpowiedzialne między innymi za produkcję przeciwciał IgA, które przyczyniają się do rozwoju tolerancji poprzez uniemożliwianie łączenia się an-

tygenów z nabłonkiem jelita i GALT. Jednakże są badania, w których znaczenie IgA poddawane jest w wątpliwość, jako że w przypadku braku IgA nie dochodzi do zahamowania rozwoju tolerancji [51].

Do niedawna sugerowano, że „wyrastanie z alergii na pokarmy” jest możliwe dzięki ścisłej eliminacji pokarmów, a nawracająca ekspozycja nawet na małe ilości alergenu może inicjować rozwój alergii i równocześnie opóźniać rozwój tolerancji, choć dane te nie zostały precyzyjnie udokumentowane. Badania ostatnich lat wskazują, że mimo wydawanych zaleceń, ścisła dieta eliminacyjna nie jest wielokrotnie respektowana, a mimo to pacjenci z alergii na pokarmy „wyrastają”, jak również są dzieci, które z niej nie „wyrastają” mimo stosowania eliminacji [52]. Zatem aktualne wyniki badań obserwacyjnych doprowadziły do nadszarpnięcia dotychczasowego stanowiska ścisłej eliminacji [34,52]. Obecnie sugeruje się, że pewna ekspozycja na alergeny, nie tylko nie uniemożliwia osiągnięcia tolerancji, ale wręcz może ją przyspieszać [52]. Parafrazując określenie „nie ma alergii bez alergenu”, naukowcy skłaniają się do stwierdzenia „nie ma tolerancji bez alergenu”. Na modelu zwierzęcym wykazano nawet, że wywołanie tolerancji uzależnione jest od dawki alergenu [53]. Znane są trzy główne mechanizmy odpowiedzialne za nabywanie tolerancji pokarmowej, zależne od dawki antygeny: anergia klonalna, delecja klonalna oraz aktywna supresja. Przy podaży dużych dawek antygeny (5-100 mg) mamy do czynienia ze zjawiskami anergii lub delecji klonalnej. Odpowiedź immunologiczna jest stymulowana poprzez interakcje pomiędzy APC a limfocytami T. APC rozpoznają obce antygeny, a następnie poprzez receptor TCR prezentują je limfocytom Th. Prowadzi to do fazy efektorowej. Poprzez zjawisko kostymulacji,



Ryc. 2. Mechanizm funkcjonowania limfocytów Treg (za zgodą [48])

co ma miejsce w obecności molekuł CD 80, CD 86 oraz cytokin, dochodzi do przekazania sygnału limfocytom T. Jeśli do kostymulacji nie dojdzie, to mimo przekazywania sygnału nie dojdzie do proliferacji limfocyta T oraz do produkcji szeregu cytokin, poza IL-10. Mówimy wtedy o zjawisku anergii limfocyta T. Natomiast przy braku molekuł kostymulujących i pojawieniu się hamujących ligand CD 95L i CD 95 dochodzi do delecji klonalnej.

Podaż małych dawek antygeny (0,5-1 mg/dzień przez 5 dni) wiąże się z rozwojem aktywnej supresji, w której kluczową rolę odgrywają limfocyty Treg.

Ganeshan i wsp. na modelu mysim wykazali, że utrata tolerancji na orzeszki ziemne jest związana z osłabioną funkcją Treg, ale równocześnie ekspozycja doustna na wysokie dawki alergenu może prowadzić do zahamowania reakcji immunologicznej [54].

Tolerancja doustna – czynniki immunomodulujące

Mimo badań prowadzonych od lat nieznanne są dokładne mechanizmy prowadzące do indukcji tolerancji doustnej. Prawdopodobnie na jej rozwój mogą mieć wpływ następujące czynniki:

- predyspozycja genetyczna
- wiek
- dojrzałość jelita
- mikroflora jelitowa
- rodzaj karmienia (naturalne/sztuczne)
- ekspozycja na alergen; dawka, postać, droga i częstość podawania
- czynniki dietetyczne (pro i prebiotyki, błonnik pokarmowy, oligosacharydy, antyoksydanty, witamina D, foliany, alergeny pokarmowe, kwasy omega 3).

Piśmiennictwo

1. Sicherer SH. Epidemiology of food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 594-602.
2. Rona RJ, Keil T, Summers C i wsp. The prevalence of food allergy: a meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 638-46.
3. Kaczmarski M, Cudowska B, Bandzul K i wsp. Częstość występowania nadwrażliwości pokarmowej u niemowląt w regionie północno-wschodniej Polski. *Nowa Pediatr* 1999; 4: 26-8.
4. Prescott S, Allen KJ. Food allergy: Riding the second wave of the allergy epidemic. *Pediatr Allergy Immunol* 2011; 22: 155-60.
5. Vandenplas Y. Optimizing the diagnosis and management of cow's milk allergy within primary care. *Eur Pediatr Rev* 2009; 3: 1-4.
6. Branum A, Lukacs SL. Food Allergy Among Children in the United States *Pediatrics* 2009; 124: 1549-55.
7. Rudders SA. Trends in pediatric emergency department visits for food-induced anaphylaxis. Annual rates of ED visits and hospitalizations for food-induced anaphylaxis US (2001-2006). *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 385-8.
8. Bollinger ME, Dahlquist LM, Mudd K i wsp. The impact of food allergy on the daily activities of children and their families. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006; 96: 415-21.
9. Simons FE, Arduzzo LR, Bilò MB i wsp. World Allergy Organization anaphylaxis guidelines: Summary. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 587-93.
10. Skripak JM, Matsui EC, Mudd K i wsp. The natural history of IgE-mediated cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 1172-7.
11. Samoliński B, Raciborski F, Tomaszewska A i wsp. Częstość występowania objawów nieżytów nosa i astmy w Polsce - badania ECAP. *Doniesienia wstępne. Familij Medicine* 2007; 9: 596-601.
12. Kjaer HF, Eller E, Andersen KE i wsp. The association between early sensitization patterns and subsequent allergic disease. The DARC birth cohort study. *Pediatr Allergy Immunol* 2009; 20: 726-34.
13. Bishop JM, Hill DJ, Hosking CS. Natural history of cow milk allergy: clinical outcome. *J Pediatr* 1990; 116: 862-7.
14. Pastorello EA, Stocchi L, Pravettoni V i wsp. Role of elimination diet in adults with food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84: 475-83.
15. Ho MH, Wong WH, Heine RG i wsp. Early clinical predictors of remission of peanut allergy in children. *J. Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 731-6.

Ostatnio ukazują się coraz więcej danych wskazujących na zasadniczą rolę mikroflory jelitowej w prewencji rozwoju uczulenia na alergeny pokarmowe. Badania kliniczne wskazują, że częstość uczulenia na alergeny pokarmowe jest 10-krotnie większa niż częstość alergii na pokarmy [55], sugerując występowanie dodatkowych elementów regulujących procesami tolerancji, poza prewencją stymulacji Th2 i IgE [56]. Poza tym u pacjentów z mutacją Stat3, prowadzących do zespołu hiperIgE, częstość reakcji anafilaktycznych na pokarmy jest stosunkowo niska [57]. Ostatnio wykazano, że Treg mogą hamować degranulację "uczulonych" (IgE-primed) mastocytów po ekspozycji na alergen przez interakcje z ligandem OX40/OX40 [58]. Ponadto Treg mogą obniżać ekspresję FcεRI na mastocytach [59]. Te pojawiające się nowe możliwości wzbudzania tolerancji, mimo występowania antygenowo-swoistego "uczulenia" (IgE-primed) układu immunologicznego, różnią się od antygenowo-swoistego odczulania (desensytyzacji), związanego z FcεRI, IgE i zmienioną aktywacją Syk [60].

Do dziś nieznaną jest odpowiedź na pytania: co chroni większość osób przed rozwojem reakcji immunologicznej, jak również dlaczego niektórzy wyrastają z alergii, a niektórzy nie, albo nigdy nie manifestują alergii pokarmowej mimo uczulenia. Poznanie mechanizmów rozwoju tolerancji może przyczynić się do opracowania nowych metod leczenia alergii pokarmowej, zahamowania „marszu alergicznego”, a tym samym zmniejszenia częstości chorób alergicznych. To co pozostaje niezmiennie w zakresie oceny nabywania tolerancji jest fakt niezastępowalnej roli doustnych prób prowokacyjnych.

16. Vanto T, Helppila S, Juntunen-Backman K i wsp. Prediction of the development of tolerance to milk in children with cow's milk hypersensitivity. *J Pediatr* 2004; 144: 218-22.
17. Garcia-Ara MC, Boyano-Martinez MT, Diaz-Pena JM i wsp. Cow's milk-specific immunoglobulin E levels as predictors of clinical reactivity in the follow-up of the cow's milk allergy infants. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 866-70.
18. Vila L, Beyer K, Jarvinen KM i wsp. Role of conformational and linear epitopes in the achievement of tolerance in cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 1599-606.
19. Fiocchi A, Nowak-Węgrzyn A. The fascinating world of molecular diagnosis in the management of food allergy: nondum matura est. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2011; 11: 200-3.
20. Nowak-Węgrzyn A, Bloom KA, Sicherer SH i wsp. Tolerance to extensively heated milk in children with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 342-7.
21. Lemon-Mulé H, Sampson HA, Sicherer SH i wsp. Immunologic changes in children with egg allergy ingesting extensively heated egg. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 977-83.
22. Elmore SA. Enhanced histopathology of mucosa-associated lymphoid tissue. *Toxicol Pathol* 2006; 34: 687-96.
23. Brandtzaeg P, Kiyono H, Pabst R i wsp. Terminology: nomenclature of mucosa-associated lymphoid tissue. *Mucosal Immunol* 2008; 1: 31-7.
24. Suzuki K, Kawamoto S, Maruya M i wsp. GALT: organization and dynamics leading to IgA synthesis. *Adv Immunol* 2010; 107: 153-85.
25. Castro-Sánchez P, Martín-Villa JM. Gut immune system and oral tolerance. *Br J Nutr* 2013; 109 Suppl 2: S3-11.
26. Górska S, Jarzab A, Gamian A. Bakterie probiotyczne w przewodzie pokarmowym człowieka jako czynnik stymulujący układ odpornościowy. *Postępy Hig Med Dośw.* 2009; 63: 653-67.
27. Lorenz RG, Newberry RD. Isolated lymphoid follicles can function as sites for induction of mucosal immune responses. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1029: 44-57.
28. Hamada H, Hiroi T, Nishiyama Y i wsp. Identification of multiple isolated lymphoid follicles on the antimesenteric wall of the mouse small intestine. *J Immunol* 2002; 168: 57-64.
29. Hayday A, Theodoridis E, Ramsburg E i wsp. Intraepithelial lymphocytes: exploring the third way in immunology. *Nature Immunol* 2001; 2: 997-1003.
30. Działo J, Niedźwiedzka-Rystwej P, Męka A i wsp. Charakterystyka tkanki limfatycznej błon śluzowych przewodu pokarmowego i układu oddechowego. *Alergia Astma Immunologia* 2010; 15: 197-202.
31. Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 799-809.
32. Wells HG, Osborne TB. The biological reactions of the vegetable proteins. I. Anaphylaxis. *J Infect Dis* 1911; 8: 66-124.
33. Lack G. Epidemiologic risks for food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1331-6.
34. Chehade M, Mayer L. Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 3-12.
35. Mabbott NA, Donaldson DS, Ohno H i wsp. Microfold (M) cells: important immunosurveillance posts in the intestinal epithelium. *Mucosal Immunol* 2013; 6: 666-77.
36. Niess JH, Brand S, Gu X i wsp. CX3CR1-mediated dendritic cell access to the intestinal lumen and bacterial clearance. *Science* 2005; 307: 254-8.
37. Pabst O, Mowat AM. Oral tolerance to food protein. *Mucosal Immunol* 2012; 5: 232-9.
38. Edelson BT, KC W, Juang R i wsp. Peripheral CD103+ dendritic cells form a unified subset developmentally related to CD8a+ conventional dendritic cells. *J Exp Med* 2010; 207: 823-36.
39. Cao S, Feehley TJ, Nagler CR. The role of commensal bacteria in the regulation of sensitization to food allergens. *FEBS Letters* 2014; 588: 4258-66.
40. Coombes JL, Siddiqui KR, Arancibia-Carcamo CV. A functionally specialized population of mucosal CD103+ DCs induces Foxp3+ regulatory T cells via a TGF- β and retinoic acid-dependent mechanism. *J Exp Med* 2007; 204: 1757-64.
41. Sun CM, Hall JA, Blank RB. Small intestine lamina propria dendritic cells promote de novo generation of Foxp3 T reg cells via retinoic acid. *J Exp Med* 2007; 204: 1775-85.
42. Cassani B, Villablanca EJ, Quintana FJ. Gut-tropic T cells that express integrin α 4 β 7 and CCR9 are required for induction of oral immune tolerance in mice. *Gastroenterology* 2011; 141: 2109-18.
43. Tang ML, Martino DJ. Oral immunotherapy and tolerance induction in childhood. *Pediatr Allergy Immunol* 2013; 24: 512-20.
44. Bollrath J and Powrie FM. Controlling the frontier: regulatory T-cells and intestinal homeostasis. *Semin Immunol* 2013; 25: 3-57.
45. Weiner HL, da Cunha AP, Quintana F i wsp. Oral tolerance. *Immunol Rev* 2011; 241: 241-59.
46. Gavin MA, Rasmussen JP, Fontenot JD i wsp. Foxp3-dependent programme of regulatory T-cell differentiation. *Nature* 2007; 445: 771-5.
47. Palomares O, Yaman G, Azkur AK i wsp. Role of Treg in immune regulation of allergic diseases. *Eur J Immunol* 2010; 40: 1232-40.
48. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms and treatment of allergic disease in the big picture of regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 735-46.
49. Josefowicz SZ, Niec RE, Kim HY i wsp. Extrathymically generated regulatory T cells control mucosal TH2 inflammation. *Nature* 2012; 482: 395-9.
50. Shan M, Gentile M, Yeiser JR i wsp. Mucus enhances gut homeostasis and oral tolerance by delivering immunoregulatory signals. *Science* 2013; 342: 447-53.
51. Pabst O. New concepts in the generation and functions of IgA. *Nat Rev Immunol* 2012; 12: 821-32.
52. Allen CW, Kemp AS. Dietary advice, dietary adherence and the acquisition of tolerance in egg-allergic children: a 5-yr follow-up. *Pediatr Allergy Immunol* 2009; 20: 213-18.
53. Friedman A, Weiner HL. Induction of anergy or active suppression following oral tolerance is determined by antigen dosage. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 6688-92.
54. Ganeshan K, Neilsen CV, Hadsaitong A. Impairing oral tolerance promotes allergy and anaphylaxis: a new murine food allergy model. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 231-8.e4.
55. Liu AH, Jaramillo R, Sicherer SH i wsp. National prevalence and risk factors for food allergy and relationship to asthma: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 798-806.e13.
56. Johnston LK, Chien KB, Bryce PJ. The immunology of food allergy. *J Immunol* 2014; 192: 2529-34.
57. Siegel AM, Stone KD, Cruse G i wsp. Diminished allergic disease in patients with STAT3 mutations reveals a role for STAT3 signaling in mast cell degranulation. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132: 1388-96.
58. Gri G, Piconese S, Frossi B i wsp. CD4+CD25+ regulatory T cells suppress mast cell degranulation and allergic responses through OX40-OX40L interaction. *Immunity* 2008; 29: 771-81.
59. Kashyap M, Thornton AM, Norton SK i wsp. Cutting edge: CD4 T cell-mast cell interactions alter IgE receptor expression and signaling. *J Immunol* 2008; 180: 2039-43.
60. Khodoun MV, Kucuk ZY, Strait RT i wsp. Rapid polyclonal desensitization with antibodies to IgE and Fc ϵ R1a. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131: 1555-64.