

Fødevareallergener

Personer med inhalationsallergi har risiko for at udvikle allergi over for fødevarer, som indeholder proteiner, der ligner de allergener allergikeren har allergiantistof mod. Detaljerede studier baseret på molekulære strukturer giver et kompliceret billede af potentiel krydsreaktivitet

Af seniorforsker Jørgen Nedergaard Larsen, ph.d., ALK-Abelló A/S, jnl@dk.alk-abello.com

Fødevareallergi skyldes en ubalance i immunsystemet, som giver anledning til uhensigtsmæssige reaktioner på helt almindelige fødevarer. De fleste fødevareallergier forårsages af et ret begrænset udvalg af fødevarer. Allergenerne, dvs. de allergifremkaldende proteiner, skal være modstandsdygtige over for nedbrydning i maven for at kunne nå frem til de immunologiske centre i tarmen. Personer, som i forvejen har en inhalationsallergi, har risiko for at udvikle allergi over for fødevarer, som indeholder proteiner, der ligner de allergener, allergikeren har allergiantistof imod. I dette tilfælde udløses allergien allerede i mund og svælg, også af labile allergener. Detaljerede studier baserede på molekulære strukturer er velegnede til at opstille modeller for denne form for krydsreaktivitet.

Fødevareintolerans

Indtagelse af fødevarer kan give anledning til sygelige reaktioner via flere forskellige mekanismer. Således vil alle reagere på forekomsten af giftige eller i øvrigt farmakologisk aktive stoffer i maden, hvadenten de er tilstede i fødevareren, eller de er dannet af forurenende mikroorganismer. Andre typer af reaktioner udløses pga. en unormal tilstand i den pågældende person. Sådanne tilstande kan være psykiske, de kan skyldes mangel på bestemte enzymer i stofskiftet, eller de kan skyldes ubalancer eller mangler i immunsystemet. Allergi, som kan henføres til den sidste kategori, er en kompleks immunologisk sygdom, som for modtagelige personer kan medføre uhensigtsmæssige reaktioner på helt almindelige stoffer i vores omgivelser. Som begreb i almindelig sprogbrug er allergi af relativ ny oprindelse og bruges ofte som synonym for intolerans. Blandt fagfolk er allergi derimod præcis betegnelsen for type 1 hyperreaktivitet, som er kendetegnet ved en øjeblikkelig allergisk reaktion ved kontakt med aller-

gen. Allergiantistoffet IgE, som blev opdaget så sent som i 1967, spiller en central rolle i dette sygdomsbillede [1].

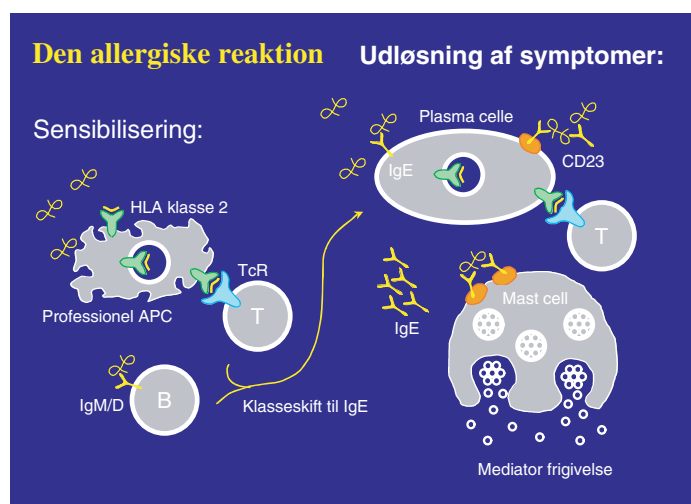
Allergi

Årsagen til at vi i disse år oplever en høj og stigende forekomst af allergi i den vestlige verden er kun mangelfuldt afklaret. De hyppigst forekommende allergier er rettet mod helt almindelige stoffer i den luft vi indånder, f.eks. pollen, husstøvmider, dyrehår eller mikrosvampe, og der synes ikke at være nogen stigning i belastningen fra disse kilder. Samtidig stiger forbruget af medicin, og på trods af at vi i dag råder over historisk set enestående medicin, virker denne kun på symptomerne, ikke på sygdommen. Allergi forekommer ofte i bestemte familier, men der synes at være mange gener involveret i et samspil, der kan forhøje risikoen for sensibilisering [2]. Er man en gang sensibiliseret vil selv ganske små mængder allergen uhyre effektivt afstedkomme uforholdsmæssigt kraftige allergiske reaktioner, figur 1.

Fødevareallergi

Allergi er en sygdom i immunsystemet, og som sådan er symptomer på fødevareallergi relativt varierede og kan udtrykkes i forskellige organer, oftest luftvejene, huden eller mave-tarmkanalen. Ofte forekommer høfeber eller astma i forbindelse med betændelse i slimhinden i øjne, næse, mund eller luftveje. Symptomer i huden kan være udslæt, ødemer, eller eksem, mens symptomer fra mave-tarmkanalen ofte skyldes betændelse i slimhinden. Fødevareallergi kan i meget sjældne tilfælde føre til anafylaktisk shock, en akut livstruende reaktion, som også kendes fra allergi mod lægemidler samt bi- og hvepsestik, og som skal behandles øjeblikkeligt med adrenalin.

Et centralt element i diagnosticering af fødevareallergi er en



Figur 1. Immunologiske mekanismer i IgE-medieret allergi. Ved indtrængen i kroppen optages allergen (den gule krølle) af professionelle antigenpræsenterende celler (APC), såsom makrofager i lungerne eller dendritiske celler i slimhinden eller huden. Allergenet nedbrydes til fragmenter, T-celle-epitoper, som præsenteres på cellens overflade i kompleks med vævstype (HLA) klasse 2 antigen. Processen er uspecifik, og cellen har stor omsætningshastighed, så sensibiliseringen sker først i det øjeblik komplekset genkendes af en specifik receptor, T-cellereceptoren (TcR). T-cellen kan nu igangsætte specifik beskyttelse eller specifik sensibilisering. Sensibiliseringen fuldføres, når T-cellen sender sine signalstoffer (interleukiner) mod en specifik antistofproducerende celle, en B-celle. B-cellen, som på dette stadi har IgD og IgM på overfladen, stimuleres til at skifte til IgE-produktion og samtidig udvikles cellen til en specialiseret antistoffabrik, en plasmacelle. Ved anden kontakt med allergen kan denne celle via sin overfladebundne IgE-receptor meget effektivt indfange allergen, præsenterer det for T-celler, og starte IgE-produktionen. Det meste IgE sendes ud af cellen og spredes i organerne, hvor det kan binde til receptorer på overfladen af basofile- og mastceller. Krydsbinding af to receptorbundne IgE-molekyler ved hjælp af allergen er signalet til frigivelse af de præformede mediatorer, bl.a. histamin, som er den direkte årsag til de allergiske symptomer.

omhyggelig udredning, hvor lægen i samtale med patienten af-dækker regelmæssigheder i forekomsten og arten af symptomer med henblik på at identificere det problematiske fødeemne. Diagnosen kan understøttes af hudpricktest og blodprøveanalyse, som baserer sig på påvisningen af allergenspecifikt IgE. En sikker diagnose opnås dog kun ved en såkaldt eliminations-provokationstest, som udføres ved at patienten i 14 dage indtager en diæt, hvorfra det mistænkte fødeemne er udelukket. I denne periode skal symptomerne aftage eller forsvinde. Derefter foretages en kontrolleret provokation, hvor det mistænkte fødeemne spises i stigende doser, indtil symptomerne genopstår. Diagnosen bør bekræftes ved en dobbelt-blind placebo-kontrolleret provokationstest [3].

Der findes ingen medicinsk behandling for fødevareallergi. Vaccinationsbehandling, som ofte har helbredende effekt på inhalationsallergi, har vist lovende resultater i eksperimentielle studier, men af både etiske og praktiske grunde er den bedste strategi at undgå de problematiske fødevarer. Man bør dog af og til forsøge at spise de allergifremkaldende fødevarer, idet allergien, specielt for små børn, ofte kan forsvinde af sig selv.

Allergener og epitoper

Et allergen er et for kroppen fremmed stof, som er i stand til at afstedkomme en immunologisk reaktion, som er karakteriseret ved, at der dannes allergenspecifikt IgE. Alle hidtil kendte allergener er proteiner, og på trods af et relativt detaljeret kendskab til flere allergeners molekylære egenskaber er der ikke fundet noget strukturelt fællesskab imellem dem [4]. Vi må således antage, at et hvilketsomhelst protein er et potentielt allergen. Dette ræsonnement støttes af, at der er en sammenhæng mellem eksposition og sensibilisering. Såfremt man er disponeret, bliver man altså allergisk overfor den allergenkilde, man møder.

Kroppens immunforsvar har udviklet to forskellige typer af receptorer til specifik genkendelse af fremmede proteiner: antistoffer og T-cellereceptorer, figur 1. Receptorerne genkender kemisk set fundamentalt forskellige epitoper, som begge er strukturelle dele af allergenet. T-cellereceptorer genkender et lineært peptidfragment af allergenets polypeptidkæde, når det vel at mærke er bundet i kompleks med klasse 2 vævstypeantigen, som kun findes på celler i immunsystemet. Antistoffer derimod genkender et udsnit af overfladen af det korrekt foldede allergen. Ved denaturering (udfoldning) af allergenet vil disse strukturer forsvinde, og antistoffer vil ikke længere kunne binde til allergenet. Dette forhold har stor betydning for fødevareallergi, idet maveindholdets lave surhedsgrad netop medfører udfoldning af de fleste proteiner.

Sensibiliserende fødevareallergener

Den naturlige immunologiske reaktion på fødevarer er tolerans. Ikke en generel tolerans, men en specifik tolerans, som for hvert enkelt fødevareprotein medfører, at specifikke antistoffer og T-celler undertrykker tendensen til uhensigtsmæssige reaktioner. De immunologiske processer sker i immunologiske centre i tarmvæggen, og det er derfor nødvendigt for sensibiliserende allergener at være relativt modstandsdygtige over for både udfoldning ved lav surhedsgrad samt proteolytisk nedbrydning. Dette forhold udnyttes ved de af WHO og FAO anbefalede vurderinger af potentiel allergenicitet af fødevarer fremstillet ved bioteknologi [5].

De fleste fødevareallergier forårsages af et begrænset udvalg af fødevarer, hvoraf de vigtigste er mælk og æg. Andre vigtige sensibiliserende fødevarer er fisk, rejer og skaldyr, soja, mel, frugt og jordnød.

Ligesom de fleste fødevareallergier forårsages af et begrænset udvalg af fødevarer, er det også et begrænset udvalg af proteiner i de pågældende fødevarer, som forårsager sensibiliserin-

Sæt Fart på din Vision Udvikling



Hurtig udvikling af dine løsninger til maskinvision og videnskabelige billeder med den nyeste version af IMAQ™ Vision Builder.

- Integrér din vision applikation med bevægelsesstyring og dataopsamling
- Brugervenligt, konfigurerbart udviklingsmiljø
- Mulighed for at lave LabVIEW™ VIs og Measurement Studio™ kodegenerering
- Komplet sæt af maskinvision og billedfunktioner
- Wizard til visionsløsning

ni.com/info

Vil du vide mere om IMAQ Vision Builder, så besøg ni.com/info og skriv "abfw28".



45 76 26 00

Fax: 45 76 26 02 • ni.denmark@ni.com

Finland: (09) 725 725 11

Norge: 32 27 73 00 • Sverige: 08 587 895 00

©2001 National Instruments Corporation. Alle rettigheder forbeholdes. Den afbildede software er et registreret varemærke for National Instruments Corporation.

Allergen kilde	major allergener
Komælk	β -lactoglobulin, α -lactalbumin
Hønsægæg	ovomucoid, ovalbumin
Torsk	parvalbumin
Rejer	tropomyosin
Soja	hydrophobic seed protein
Hvedemel	agglutinin, α -amylase inhibitor
Æble	Bet v 1 homolog
Jordnød	vicilin, conglutin

Figur 2. Allergifremkaldende fødevarer.

gen. Typisk vil der være tale om et enkelt eller nogle få såkaldte major allergener, figur 2.

Krydsreaktivitet

I den biologiske systematik er beslægtede arter ordnet i slægter og familier, og dette slægtskab kan genfindes på det molekylære plan, hvor aminosyresekvenser typisk er 75-95% identiske. Det er derfor ikke overraskende, at en person, som er sensibiliseret over for parvalbumin fra torsk, også reagerer på parvalbumin fra sild og makrel. Molekylerne ligner simpelthen hinanden så meget, at nogle af de epitoper, som specifikt genkendes af antistoffer og T-celler rettet mod torskeallergenet, også findes på allergenerne fra de andre arter. Det hjælper således ikke at give et komælksallergisk barn gedemælk.

Denne type krydsreaktivitet kan i nogle tilfælde genfindes mellem arter, som ikke er nærtbeslægtede. Et eksempel vi vil vende tilbage til er OAS, *Oral Allergy Syndrome*, som er en sammenhæng mellem pollenallergi og allergisk reaktion fra mund og svælg ved indtagelse af frugter som f.eks. æble. Et andet eksempel er sensibilisering mod tropomyosin i rejer. Allergenet tropomyosin findes også i ekskrementer fra støvmider og kakerlakker.

En tredje type krydsreaktivitet, som formodentlig ikke er klinisk relevant, skyldes forekomst af IgE-antistoffer mod kulhydratdelen af glykoproteiner. Denne type antistoffer kan give anledning til falske positive reaktioner i forbindelse med diagnostiske tests, men udløser i reglen ikke allergiske reaktioner.

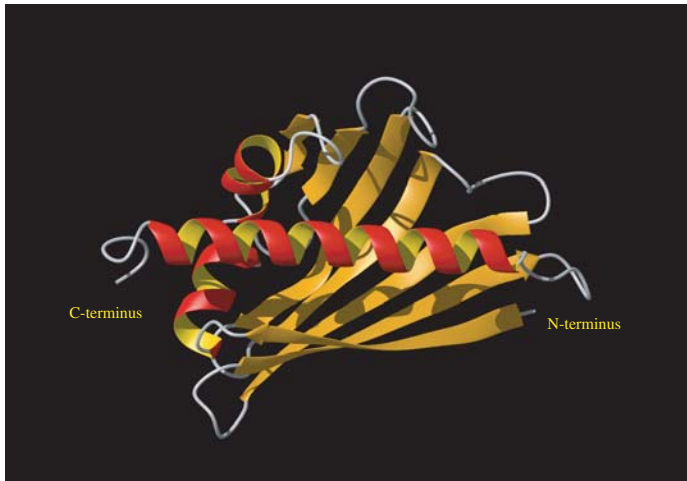
Pollenallergi og OAS

OAS, *Oral Allergy Syndrome*, er betegnelsen for sammenhængen mellem allergi mod birkepollen og forekomsten af allergiske reaktioner fra mund og svælg ved indtagelse af visse grøntsager og frugter [6], mest udpræget æble, men også pære, hasselnød, kirsebær, abrikos, gulerod, etc.

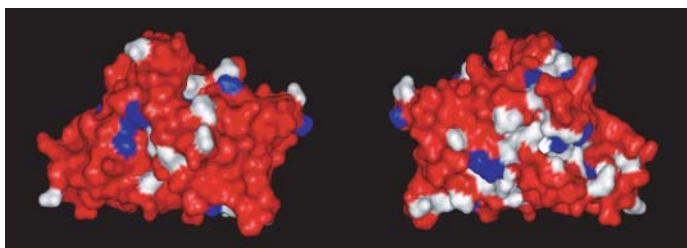
På trods af at birk og æble langt fra er beslægtede, findes der et molekyle i æble, som ligner major allergenet i birk; ikke meget, men nok til at nogle patienter udviser krydsreaktivitet. Det interessante er, at hverken birkepollenallergenet eller æbleallergenet er modstandsdygtige over for lav surhedsgrad og proteolytisk nedbrydning. Det betyder, at visse fødevarerallergier kan udløses af ustabile allergener, hvis personen i forvejen har en inhalationsallergi mod et beslægtet allergen.

Birkepollenallergenet Bet v 1

Langt de fleste birkepollenallergikere reagerer på det samme



Figur 3. Tredimensional struktur af birkepollenallergenet, Bet v 1.

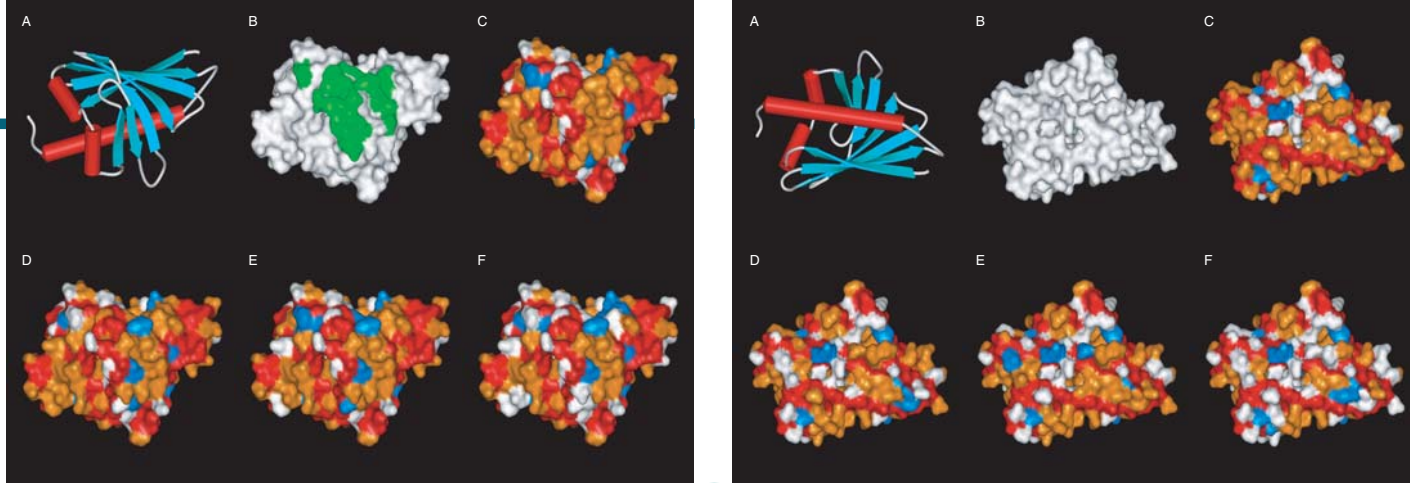


Figur 4. Konserverede overfladeområder på major allergenerne inden for birkefamilien. Rød farve indikerer >95% sekvensidentitet af den pågældende aminosyre, blå farve indikerer at pågældende aminosyre er konservativt substitueret, mens hvid farve illustrerer aminosyrer substitueret med ikke relaterede aminosyrer.

Accession #	# ids	1 0	2 0	3 0	4 0	5 0	6 0	7 0	8 0
ZB0104	Bet v 1	159							
Q43550	Mal d 1	105							
Q43552	Mal d 1	103							
Q43551	Mal d 1	103							
Q43549	Mal d 1	100							
2620	Mal d 1	93							
AAD26559	Mal d 1	92							
AAD26548	Mal d 1	91							
AAD26547	Mal d 1	91							
AAD26558	Mal d 1	91							
AAD26552	Mal d 1	91							
AAD26546	Mal d 1	91							
AAD29671	Mal d 1	91							
AAD26553	Mal d 1	91							
2619	Mal d 1	90							
P43211	Mal d 1	90							
AAD26555	Mal d 1	90							
AAD26554	Mal d 1	90							

Accession #	# ids	9 0	1 0 0	1 1 0	1 2 0	1 3 0	1 4 0	1 5 0
ZB0104	Bet v 1	159						
Q43550	Mal d 1	105						
Q43552	Mal d 1	103						
Q43551	Mal d 1	103						
Q43549	Mal d 1	100						
2620	Mal d 1	93						
AAD26559	Mal d 1	92						
AAD26548	Mal d 1	91						
AAD26547	Mal d 1	91						
AAD26558	Mal d 1	91						
AAD26552	Mal d 1	91						
AAD26546	Mal d 1	91						
AAD29671	Mal d 1	91						
AAD26553	Mal d 1	91						
2619	Mal d 1	90						
P43211	Mal d 1	90						
AAD26555	Mal d 1	90						
AAD26554	Mal d 1	90						

Figur 5. Sekvenssammenligning af Bet v 1 og Mal d 1 aminosyresekvenser. Rød farve indikerer >95% sekvensidentitet af den pågældende aminosyre, blå farve indikerer at pågældende aminosyre er konservativt substitueret, mens hvid farve illustrerer aminosyrer substitueret med ikke relaterede aminosyrer.



Figur 6. Overfladeområder konserverede mellem Bet v 1 og major allergener fra æble. Se tekst for forklaring. Orange farve indikerer >95% sekvensidentitet af den pågældende aminosyre, mens rød farve repræsenterer atomer fra α -carbon peptidskelettet, som er ens for alle aminosyrer selv om sidekæden varierer. Blå farve indikerer at pågældende aminosyre er konservativt substitueret, mens hvid farve illustrerer aminosyrer substitueret med ikke relaterede aminosyrer. Panel 1 og 2 repræsenterer strukturen drejet 180 grader omkring en vertikal akse.

protein, major allergenet i birkepollen, Bet v 1. I parentes bemærket navngives allergener med en bogstavforkortelse afledt af artens latinske navn, her *Betula verrucosa*, efterfulgt af et nummer. ALK-Abelló's forskergruppe har i mange år arbejdet med Bet v 1 som modelsystem for inhalationsallergi og var først med en tredimensionel struktur af et vigtigt inhalationsallergen [7], figur 3. Strukturen er bestemt ved röntgenkrystallografi i samarbejde med Københavns Universitet og bekræftet ved NMR-spektroskopi i samarbejde med Carlsberg Forskningscenter. Strukturen består af et sadelformet syvstrengt antiparallelt β -sheet, som omkranser en lang carboxyterminal α -helix. Desuden er der i interfaseren to korte α -helices. Strukturen er besynderlig ved at have et stort hulrum med tre udgange til molekylets overflade.

Strukturmodeller for krydsreaktivitet

Den tredimensionale struktur giver oplysning om, hvilke aminosyrer der befinder sig på molekylets overflade og derfor er tilgængelige for antistofbinding. Når denne information sammenholdes med oplysning om bevarede aminosyrer, fremkommet ved sekvenssammenligning, fås umiddelbart et indtryk af, hvilke dele af overfladen der kan tænkes at udgøre epitoper for krydsreagerende antistoffer. I figur 4 ses overfladen af Bet v 1 farvet efter, hvilke aminosyrer der er >95% identiske ved sammenligning af 57 aminosyresekvenser af major allergener fra el, birk, hassel og avnbøg, som alle tilhører birkefamilien. Det ses, at store områder af overfladen er bevaret mellem arterne i overensstemmelse med, at stort set alle birkepollenallergiske patienter også reagerer på pollen fra el og hassel. Det er sandsynligt, at disse områder udgør særligt vigtige områder for IgE-binding, da patienter udsættes for større eksponering gennem konsekutiv pollinering af de forskellige træer, og at IgE rettet mod disse områder derfor er modnet til højere bindingskonstanter.

Mal d 1 – Bet v 1 krydsreaktivitet

I lighed med andre allergener udviser major allergenet fra æble (*Malus domestica*), Mal d 1, isoallergenvariation, som er betegnelsen for det fænomen, at det samme allergen findes i forskellige udgaver med forskellig aminosyresekvens, figur 5. Variationen er ikke knyttet til forskellige æblesorter, men forskellige sorter kan udtrykke forskellige niveauer af allergenet, hvilket kan begrunde, at nogle æbleallergikere har erfaret, at de f.eks. kan tåle grønne æbler, men ikke røde. På basis af sammenligning af sekvenserne mellem Mal d 1 og Bet v 1 kan vi nu studere ligheder og forskelle på den molekylære overflade repræsenteret ved Bet v 1 strukturen [8]. I figur 6 ses sekundærstrukturelementerne fremhævet i A. Panel 1 og 2 repræsenterer strukturen drejet 180 grader omkring en vertikal akse. B viser størrelsen af en antistofbindende epitop bestemt ved röntgenkrystallografi på et Fab-Bet v 1 kompleks [9]. Ved denne teknik bestemmes

epitopens maksimale udstrækning, idet den statiske repræsentation i krystallen ikke giver oplysning om, hvilke aminosyrer der faktisk tager del i bindingen i den dynamiske tilstand i opløsning. C viser konserverede aminosyrerester ved sammenligning af Bet v 1 og den kendte Mal d 1 variant, som har højest identitet til Bet v 1. Flere konserverede områder synes at have en størrelse, som kunne afstedkomme krydsreaktivitet. D og E viser tilsvarende konserverede overfladeeksponerede aminosyrer mellem Bet v 1 og to Mal d 1 varianter, vi har arbejdet med i laboratoriet. Mal d 1 (2620) ses at have større identitet med Bet v 1 end Mal d 1 (2619). Det er i overensstemmelse med, at et polyklonalt antistof rejst ved gentagen immunisering af kaniner, med oprenset Bet v 1 i krydset immunoelektroforese, danner et mere veldefineret præcipitat med Mal d 1 (2620) end med Mal d 1 (2619), en klar indikation af et større epitopsammenfald. F viser en sammenlignende analyse af Bet v 1 med samtlige kendte Mal d 1 sekvenser, og her synes der ikke at være konserverede overfladeområder, der er store nok til at afstedkomme antistof-krydsreaktion.

Konklusion

De molekylære studier viser således et kompliceret billede af potentiel krydsreaktivitet. Individuelle varianter af Mal d 1 har overfladeområder fælles med Bet v 1, som kan forklare den kliniske krydsreaktivitet, men enkelte aminosyresubstitutioner mellem Mal d 1 isoallergenerne afstedkommer forskelle i områdernes udbredelse og placering. Resultaterne stemmer meget godt overens med de kliniske observationer, hvor nogle birkepollenallergiske patienter reagerer på æble, mens andre ikke gør det.

Referencer

- Kay AB (ed): Allergy and Allergic Diseases. Blackwell Science, Oxford, 1997.
- Gravesen S, Schou C: Allergi og anden overfølsomhed. Munksgaard, København, 1997.
- Bindslev-Jensen C: Food allergy. British Medical Journal 316: 1299-1302, 1998.
- IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee: List of Allergens, <http://www.allergen.org>.
- Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology, 22 - 25 January 2001. http://www.who.int/fsf/GMfood/Documents_list.htm
- Ortolani C, Ispano M, Pastorello E, Bigi A, Ansaloni R: The oral allergy syndrome. Ann Allergy 61: 47-52, 1988.
- Gajhede M, Osmark P, Poulsen FM, Ipsen H, Larsen JN, van Neerven RJJ, Schou C, Løwenstein H, Spangfort MD: X-ray and NMR structure of Be v 1, the origin of birch pollen allergy. Nat Struct Biology 3: 1040-1045, 1996.
- Holm J, Bærentzen G, Gajhede M, Ipsen H, Larsen JN, Løwenstein H, Wissenbach M, Spangfort MD: Molecular basis of allergic cross-reactivity between group 1 major allergens from birch and apple. J Chromatography B, 756: 307-313, 2001.
- Mirza O, Henriksen A, Ipsen H, Larsen JN, Wissenbach M, Spangfort MD, Gajhede M: Dominant epitopes and allergic cross-reactivity: complex formation between a Fab fragment of a monoclonal murine IgG antibody and the major allergen from birch pollen Bet v 1. J Immunol 165: 331-338, 2000.