

# W kierunku lepszego rozumienia alergii i testów in-vitro. Mary James N.D.

*Nauka rozpoznawania i zarządzania alergiami pokarmowymi służąca uzyskaniu lepszych rezultatów klinicznych u pacjentów, może zająć wiele czasu.*

Żywność stanowi największe antygenowe wyzwanie dla systemu immunologicznego. Zakładając pełne trawienie, nieuszkodzone jelito, dobry stan ogólny i minimalną ekspozycję na antygeny, w ten sposób, że system immunologiczny nie jest przeciążony, wszystko idzie dobrze. Słabość w jednym lub więcej z tych obszarów, może skutkować immunologicznymi atakami na pokarmy, tak jakby były obcymi najeźdźcami. Długa lista stanów była związana z reakcjami na pokarmy włączając zmęczenie, migreny, zespół jelita drażliwego, stany zapalne jelit, zaburzenia ze strony pęcherzyka żółciowego, stany zapalne stawów, astmę, nieżyt nosa, zespół nadpobudliwości psychoruchowej i zaburzenia koncentracji uwagi (ADHD), nietrzymanie moczu, padaczkę, wyprysk kontaktowy, łuszczycę, owrzodzenia jamy ustnej, nawracające zapalenie zatok, zapalenie ucha środkowego, i inne infekcje(1). Pacjent z wieloma lub z pozornie niezwiązanymi objawami często chodzi od lekarza do lekarza w poszukiwaniu diagnozy. Kiedy rozwój odpowiedzi zapalnej na alergen zajmuje godziny albo dni, relacja między pokarmami a symptomami jest często trudna do uchwycenia. Nauka rozpoznawania i zarządzania alergiami pokarmowymi, dla uzyskania lepszych klinicznych rezultatów u tych pacjentów, może zająć wiele czasu. Intencją tego artykułu jest zapewnienie takiego zrozumienia.

W tym artykule skoncentrujemy się na IgE i IgG- zależnych reakcjach immunologicznych. Omówimy powody, dla których u jednych rozwijają się alergii, a u innych nie, oraz dlaczego specyficzne pokarmy wywołują objawy u jednej osoby w konkretnym czasie, chociaż zdają się być u niej dobrze tolerowane w innym czasie. Zbadamy dlaczego jednostka czasami czuje się lepiej po zjedzeniu alergogennego pokarmu, ale czuje się gorzej jedząc go po okresie eliminacji. Będziemy patrzeć dlaczego testy alergiczne mogą być w normie u osoby, która wie, że doświadcza symptomów kiedy przyjmuje określone pokarmy, albo dlaczego testy in-vitro mogą wykazać podwyższony poziom przeciwciał w reakcji na pokarmy u osoby asymptomaticznej. Na koniec omówimy jak efektywnie zarządzać eliminacją uczulających pokarmów, ich ponownym wprowadzaniem i rotacją. Podczas gdy dostępnych jest wiele użytecznych metod diagnostyki i leczenia zaburzeń alergicznych, następujące omówienie będzie ograniczone głównie do oceny testów in-vitro i do zarządzania dietą.

## **System immunologiczny**

Przed rozpoczęciem dyskusji o alergii, omówmy kilka elementarnych pojęć dotyczących odpowiedzi immunologicznej. Następujący przegląd stworzy lepsze podstawy dla naszej dyskusji. Podstawowymi komórkami

systemu immunologicznego są limfocyty, komórki plazmatyczne i makrofagi, współdziałające w tkance limfatycznej. Limfocyty dzielą się na komórki B i komórki T. Interesujące jest, że nazwy tych komórek wywodzą się od części kurczaka, ponieważ badania grasicy (thymus T) i bursy Fabriciusa (B) (narząd w pobliżu kloaki) przyniosły pierwsze rozumienie ich funkcji immunologicznych. Podstawową rolą komórek B jest zapewnienie odpowiedzi immunologicznej humoralnej. Pod wpływem ekspozycji na antygen, komórki B proliferują i przekształcają w komórki plazmatyczne syntetyzujące przeciwciała, które następnie produkują specyficzne dla antygenów immunoglobuliny różnych izotypów nazywane IgM, IgE, IgD, IgA. Limfocyty T z drugiej strony, zapewniają odpowiedź immunologiczną typu komórkowego.

Pomiędzy komponentami systemu immunologicznego zachodzi znacząca interakcja. Subpopulacje limfocytów T funkcjonują jako: komórki T pomocnicze, które stymulują aktywność limfocytów B; albo jako komórki T supresyjne, które zatrzymują zarówno odpowiedź humoralną jak i odpowiedź komórkową. Makrofagi są uwalniane ze szpiku kostnego jako monocyty, które następnie przekształcają się w tkankach w makrofagi. Makrofagi służą do prezentacji antygenów limfocytom B i T, a także do usuwania kompleksów antygen-przeciwciała z obiegu. Wydajność tej funkcji jest kluczowa dla kontrolowania reakcji nadwrażliwości pokarmowej, co będzie

omówione dalej.

### **Porządkowanie terminologii.**

Terminy "nietolerancja pokarmowa", "alergia", "nadwrażliwość" są często używane zamiennie. Dla jasności, pożyteczne jest ich odróżnianie...

### **Nietolerancja**

Termin "nietolerancja" generalnie odnosi się do nie-immunologicznie zależnych reakcji na pokarmy i inne substancje. Przykłady obejmują nietolerancję laktozy, farmakologiczną odpowiedź na alkaloidy w pokarmach takie jak solanina (rodzina ziemniaka), wrażliwość na salicylany i reakcje na lektynę, w której lektyna zawarta w diecie reaguje z powierzchniowym antygenem komórkowym, powodując aglutynację. Bakterie i toksyny bakteryjne mogą powodować reakcje ze strony przewodu pokarmowego i reakcje ogólne, takie jak zatrucie zepsutymi rybami z rodziny makrełowatych (scombrotoksizm). Aminy naczynioaktywne (epinefryna, norepinefryna, tyramina, dopamina, histamina i 5-hydroxytryptamina) znajdujące w bananach, pomidorach, awokado, serach, ananasach i winach mogą przyczyniać się do wystąpienia objawów takich jak migrenowy ból głowy. Siarczyny używane jako konserwanty w pokarmach takich jak sałata, krewetki, suszone owoce, wino, mogą powodować astmę i pokrzywkę (2). Niektóre składniki, takie jak alkohol, mogą nawet indukować odpowiedź histaminową, chociaż reakcja ta nie jest immunologicznie zależna.

Z powodu ukrytego związku między spożywaniem pokarmu i

pojawieniem się objawów, takie reakcje są często mylone z alergią, chociaż testy alergiczne mogą być negatywne dla tego pokarmu. Każdy pokarm.

wywołujący złą reakcję powinien być unikany, bez względu na mechanizm, i dokładnie badany w kierunku identyfikowania czynników wywołujących.

### *Nie-immunologicznie zależne reakcje na pokarmy*

-Niedobór laktazy (produkty mleczne) --- wzdęcia, biegunka, bóle brzucha

-Zepsucie lub zatrucie pokarmu przez bakterie (Proteus) albo toksyny odporne na temperaturę (tuńczyk, bonito, makrela) --- świąd, wysypka, wymioty, biegunka

-Zaburzenia ze strony pęcherzyka żółciowego --- bóle brzucha (RUQ), nudności, wzdęcia, pogorszenie po tłuszczach

-Aminy naczynioaktywne

- fenyloetyloamina (czekolada, dojrzewający ser, czerwone wino) --- migrena

-tyramina (ser typu cheddar, sery francuskie, drożdże piwne, chianti, ryby w puszcze ---  
(migrena, rumień, pokrzywka, przełom nadciśnieniowy u pacjentów leczonych inhibitorami MAO

-histamina (sery fermentujące, fermentujące pokarmy (np. kapusta kiszona), kielbasa wieprzowa, tuńczyk w puszcze, anchovies, sardynki) --- rumień, bóle głowy, hipotensja

-czynniki uwalniające histaminę ( skorupiaki, czekolada, truskawki, pomidory, orzeszki ziemne, wieprzowina, wino, ananas) --- pokrzywka, egzema, świąd

-dodatki do żywności (np. tertrazyna, FD&C Yellow No.5, benzoosan sodu) --- pokrzywka, wysypka, astma

-siarczyny (sałata, krewetki, suszone owoce i warzywa, wino, piwo) --- astma lub anafilaksja, utrata świadomości

-glutaminian sodu (chińskie i japońskie dania) --- bóle głowy, napięcie twarzy, pocenie się, bóle w klatce piersiowej, zawroty głowy

-alkaloidy "czarnej jagody" (ziemniaki, pomidory, bakłażan, pieprz, tytoń) --- bóle stawów

-hipoglikemia --- zmęczenie, kołatanie serca, drgawki, zaburzenia funkcji poznawczych, nagłe zmiany nastroju, słaba pamięć, niewyraźne widzenie, lęk, zawroty głowy, bóle głowy

-reakcje na lektynę (szeroka różnorodność pokarmów) --- szeroka różnorodność objawów, zależnie od zgodności grupy krwi. (Refer to: Eat Right 4 Your Type, by Peter D'Adamo,

*Każdy pokarm wywołujący złą reakcję powinien być unikany, bez względu na mechanizm i dokładnie badany w kierunku czynników wywołujących.*

### **Nadwrażliwość**

Chociaż używanie terminu "nadwrażliwość" jest niekiedy rezerwowane tylko dla typu III klasyfikacji Gella i Coombsa, IgG- zależnych reakcji, tradycyjnie termin ten stosowany jest dla wszystkich czterech typów uszkodzenia tkanki. Wszystkie typy od I do IV zależą od interakcji antygeny z humoralnym przeciwciałem, i wynikają z nadmiernej reakcji immunologicznej na antygen, prowadzącej do dużych zmian tkankowych i objawów z nimi związanych..

Reakcja **typu I** jest zależna od przeciwciał IgE i charakteryzuje się uwolnieniem histaminy i innych chemicznych mediatorów w wyniku ekspozycji na alergen. Reakcje typu I są odpowiedzialne za alergię natychmiastową takie jak katar sienny lub anafilaksja. Zaburzenia te będą omówione szczegółowo dalej.

Reakcje immunologiczne **typu II** związane są z zależnym od przeciwciał uszkodzeniem tkanki w następstwie przyłgnięcia obcego materiału. Ta reakcja jest często nazywana reakcją "cytotoksyczną". Przykłady reakcji typu II obejmują reakcje na penicylinę oraz reakcje skutkujące niszczeniem erytrocytów lub płytek.

Reakcje **typu III** są zależne od immunoglobulin mieszanych ale przede wszystkim immunoglobulin IgG. Kompleksy złożone z antygeny i przeciwciała aktywują dopełniacz i cytokiny skutkując odpowiedzią zapalną. Reakcje typu III tworzą bazę dla alergii pokarmowych o opóźnionych

objawach. Objawy są opóźnione z powodu czasu niezbędnego do formowania kompleksów. Te reakcje też będą dalej szczegółowo omówione.

**Typ IV** odnosi się do reakcji immunologicznych komórkowo-zależnych, w których komórki typu T grają główną rolę. Komórki T stają się komórkami cytotoksycznymi, kiedy są aktywowane przez antygen zdolny do zniszczenia wirusów, bakterii, komórek nowotworowych lub innych. Reakcje typu IV pełnią znaczącą rolę w gruźlicy, infekcjach grzybiczych i wirusowych, alergicznym wyprysku kontaktowym, odrzuceniu przeszczepu. Te reakcje mogą być także zaangażowane w niektóre alergię pokarmowe, takie jak enteropatie z utratą białek i celiakia.

### **Alergia**

Definicja terminu "alergia" jest szeroko dyskutowana. Chociaż wielu alergologów ściśle rezerwuje użycie tego terminu dla reakcji IgE- zależnych typu I, takich jak katar sienny, jednak bardziej ogólna definicja "alergii" odnosi się do każdej nabytej nadwrażliwości na antygen, która skutkuje poważnymi immunologicznymi konsekwencjami. Na nasze potrzeby będziemy stosować tę szerszą definicję do reakcji typu I i typu III.

### **Alergia**

Definicja terminu "alergia" jest szeroko dyskutowana. Chociaż wielu alergologów ściśle rezerwuje użycie tego terminu dla reakcji IgE- zależnych typu I, takich jak katar sienny, jednak bardziej ogólna definicja "alergii" odnosi się do każdej nabytej nadwrażliwości na antygen, która skutkuje poważnymi

*Poziomy przeciwciał IgE mogą spadać wraz z unikaniem ekspozycji, ale reekspozycja będzie szybko skutkować mobilizacją przeciwciał i następczym uwolnieniem histaminy.*

immunologicznymi konsekwencjami. Na nasze potrzeby będziemy stosować tę szerszą definicję do reakcji typu I i typu III.

#### **Reakcje natychmiastowe IgE-zależne**

Kiedy antygen wiąże się z przeciwciałami IgE na komórkach tucznych lub bazofilach, następuje uwalnianie histaminy. Wdychanie antygenów prowadzi do objawów, które zwykle wiążemy z "alergią" takich jak kichanie, swędzenie podniebienia lub uszu, wyciek z nosa, swędzenie albo łzawienie oczu oraz zmęczenie. Przyjęcie antygeny drogą doustną może prowadzić do objawów takich jak astma, swędzący rumień, obrzęk gardła lub do objawów ze strony przewodu pokarmowego takich jak kurcze brzucha lub biegunka.

Przewlekłe alergię IgE mogą manifestować się zapaleniem zatok, nawracającymi stanami zapalnymi ucha lub górnych dróg oddechowych, oddychaniem przez usta i katarzem zanosowym. "Alergiczne sińce" pod oczami i biała linia w poprzek nosa od wycierania nosa ręką, są powszechnymi oznakami IgE-zależnych alergii u dzieci, chociaż te oznaki były także obserwowane u osób z alergiami IgG. Ciężkie reakcje typu I mogą obejmować anafilaksję.

Reakcja alergiczna pojawia się natychmiast po ekspozycji na antygen (zwykle do dwóch godzin); stąd osoba doświadczająca reakcji alergicznej zwykle łatwo rozpoznaje związek między alergenem i symptomem.

Specyficzne IgE-zależne alergię nie są dziedziczne, chociaż alergię typu I takie jak alergię związane z układem oddechowym i alergię skórne mają tendencję do powtarzania się w rodzinie. To w szczególności odnosi się do astmy, kataru siennego, nawracającego zapalenia nosa, zapalenia oskrzeli i egzemy; gdy jedno z tych zaburzeń występuje u rodzica, u dziecka występuje też zwiększona skłonność do tego samego zaburzenia (3). Objawy alergiczne u pacjentów z negatywnym wywiadem rodzinnym raczej nie mają charakteru reakcji IgE-zależnych. Alergie IgE-zależne pozostają na całe życie. Poziomy przeciwciał mogą spadać wraz z unikaniem ekspozycji na alergen ale reekspozycja będzie szybko skutkować mobilizacją przeciwciał IgE i następczym uwolnieniem histaminy.

Jak wspomniano wyżej IgE-zależne alergię pokarmowe są zwykle łatwe do wykrycia ze względu na natychmiastowe pojawianie się symptomów. Powszechnymi winowajcami są orzeszki ziemne i skorupiaki. Wrażliwość na te substancje jest tak ekstremalna w niektórych przypadkach, że anafilaksja może być następstwem nawet zwykłego wdychania zapachu pokarmu albo kontaktu ze skórą. Nie ma potrzeby mówić, że zarządzanie tymi alergiami wymaga ścisłego unikania tych urażających substancji. Reakcje IgE uruchamiane drogą wziewną zwykle mają charakter sezonowy. Reakcja na pyłki drzew zwykle pojawia się na wiosnę, reakcja na pyłki traw późną wiosną i wczesnym latem, na pyłki chwastów późnym latem i wczesną jesienią. Reakcje na roztocza zwykle pojawiają się zimą wraz z uruchamianiem domowego

ogrzewania. Testy alergiczne w okresach objawowych mogą pomóc w zidentyfikowaniu odpowiedzialnych alergenów. Alergie na złuszczone naskórek zwierząt domowych pojawiają się w każdym czasie po ekspozycji na ten czynnik.

### **Reakcja na pleśnie i grzyby**

Alergie na pleśnie mają tendencję do koincydencji z mokrymi miesiącami z temperaturą powyżej zera np. od grudnia do marca w Kalifornii, latem na środkowym zachodzie, cały rok na Florydzie. Bardzo suche stany takie jak Arizona lub Nevada nie są niestety wolne od obecności wziewnych alergenów pleśniowych, ponieważ wilgoć w klimatyzatorach powoduje wzrost pleśni, które następnie są rozpowszechniane w przestrzeni mieszkaniowej. Unikanie alergenu w przypadku pleśni i grzybów może być bardzo trudne, ponieważ te substancje są bardzo rozpowszechnione w środowisku. Powszechne źródła alergenów pokarmowych obejmują fermentujące sery, wino, piwo i chleb. Inne powszechne ale mniej podejrzewane źródła obejmują herbatę, przetworzoną żywność, środki chemiczne do wypieku ciast, przetworzone soki owocowe, kwas cytrynowy, substancje dodatkowe ze słodu, czekoladę, sos sojowy, produkty z pomidorów (przetarte i pozostawione dla poprawienia aromatu), Lactaid i witaminy z grupy B. Kolonie grzybów na skórze i błonach śluzowych stanowią trzecie źródło ekspozycji, które może wzmacniać reakcję na inne

grzyby w środowisku. Ponieważ różne grzyby z różnych źródeł mają podobne proteiny powierzchniowe, odpowiedź immunologiczna na grzyby może być krzyżowa, dlatego leczenie takich stanów jak łupież, stopa atlety, nadmierny rozrost *Candida* często pomóc w osłabieniu reakcji na inne źródła.

Takie reakcje są przede wszystkim IgE-zależne i noszą symptomy powszechnie związane z histaminą takie jak kichanie, wyciek z nosa i astma. Cięższe stany alergiczne mogą wynikać z ekspozycji na większą liczbę grzybowych cząsteczek, np. w związku z wykonywanym zawodem. Z powodu masywnej ekspozycji reakcje te są najczęściej typu III i IV i obejmują przeciwciała klasy IgG, a ich objawami mogą być objawy grypopodobne ze zmęczeniem, rumieniem, bólem mięśni i stawów, gorączką i nocnymi potami. U osób podatnych kolonie grzybowe mogą stanowić zagrożenie życia.

### **Opóźnione reakcje IgG**

Typ III reakcji obejmuje formowanie się i odkładanie kompleksów antygen/przeciwciała (Ag/Ab) i najczęściej związany jest z immunoglobulinami IgG. W przeciwieństwie do natychmiastowych IgE-zależnych reakcji histaminowych, reakcje typu III są opóźnione, ponieważ przebiegają ze stopniowym formowaniem się kompleksów immunologicznych. Z powodu opóźnionego występowania objawów o godziny lub nawet dni po ekspozycji, relacja między pokarmem i objawami jest trudna do uchwycenia. To są te reakcje, dla których testy alergii pokarmowych mierzące przeciwciała IgG mogą być najbardziej użyteczne klinicznie.

*Test alergii pokarmowej może być klinicznie najbardziej użyteczny dla mierzenia przeciwciał IgG biorących udział w reakcjach opóźnionych typu III.*

*„Przeładowanie”  
antygenem może  
pomóc wyjaśnić  
dlaczego ograniczenie  
ekspozycji na jeden  
alergen może  
powodować, że  
jednostka jest bardziej  
zdolna do tolerowania  
innych alergenów.*

Reakcje IgG-zależne zazwyczaj wynikają z ekspozycji na nadmiar antygenów w dłuższym okresie czasu. W przypadku alergii pokarmowej zwiększone wchłanianie jelitowe powiązane z powtarzanym spożyciem konkretnego pokarmu, powoduje, że nadmiar antygeny jest prezentowany do systemu immunologicznego.

Formowanie nierozpuszczalnych kompleksów antygen/przeciwciała skutkuje aktywacją dopełniacza i następnie wybuchem oddechowym w neutrofilach, uwolnieniem enzymów proteolitycznych, mediatorów komórek tłuszcznych i naczynioaktywnych peptydów oraz agregacją płytek. Chociaż dopełniacz stymuluje stan zapalny, jednocześnie przeciwdziała progresji od małych kompleksów do większych, co jest czynnikiem, który pomaga zmniejszać nasilenie objawów. Aktywność makrofagów powoduje uwolnienie mediatorów zapalnych takich jak interleukina-1, czynnik martwicy nowotworu, reaktywne formy tlenu i tlenek azotu.

Wystąpienie objawów jest przeważnie opóźnione o godziny albo dni, a objawy różnią się nie tylko ze względu na specyficzną naturę immunologicznego kompleksu ale także ze względu na tkankę, w której kompleksy są odkładane. Ból głowy, zapalenie naczyń lub nadciśnienie tętnicze może wynikać z odkładania się kompleksu w przestrzeni naczyniowej; astma, zapalenie

pęcherzyków płucnych, nawracające infekcje mogą wynikać z odkładania się kompleksu w tkankach układu oddechowego; zmiany dermatologiczne z odkładania się kompleksu w skórze, a bóle stawów z odkładania się kompleksów w przestrzeni stawowej. Objawy takie jak nieżyt nosa i obrzęk gardła także mogą się pojawić, ponieważ dwa elementy w kaskadzie komplementu (C3 i C5) są zdolne wywołać uwolnienie histaminy. Każdy układ może być dotknięty i każdy objaw jest możliwy w zależności od podatności osobniczej. Reakcje mogą trwać wiele dni.

### **Immunokompetencja i "Pełne obciążenie"**

Chociaż immunologiczna interakcja między przeciwciałem i antygenem pojawia się zawsze gdy jednostka jest eksponowana na alergogeny pokarm, wystąpienie i nasilenie objawów i zależy od rozpuszczalności kompleksów i zdolności systemu retikuloendotelialnego do ich usuwania. Makrofagi wychwytyują kompleksy Ag/Ab natychmiast, ale ich pojemność jest ograniczona. W przypadku wydajnej odpowiedzi immunologicznej czas półtrwania kompleksu może wynosić tylko kilka minut i ekspozycja na alergeny może NIE wywoływać symptomów, pomimo faktu, że reakcja immunologiczna pojawia się. Przeładowanie antygenem jednak nasyci pojemność makrofagów skutkując cyrkulacją kompleksów i ich odkładaniem się w tkance. Osłabiona odporność może prowadzić do tego samego rezultatu, skutkując wystąpieniem objawów. (Ten proces różni się od odpowiedzi IgE typu „naładowany pistolet”, która jest uruchamiana przy każdej ekspozycji). Ten fenomen "przeładowania" może

pomóc wyjaśnić dlaczego ograniczenie ekspozycji na jeden alergen może powodować, że jednostka lepiej toleruje inne alergeny. Inaczej niż w przypadku interakcji Ag/Ab, czyszczenie przez makrofagi jest NIE specyficzne. To znaczy, że KAŻDE ograniczenie zapotrzebowania na makrofagi (włączając nie alergiczne stany takie jak infekcja lub ekspozycja na ksenobiotyki) może służyć ograniczeniu objawów i pozwolić na przyjmowanie innych pokarmów wywołujących reakcję alergiczną.

Ta koncepcja "pełnego załadowania" nie może być jednak przeceniana. Aż do połowy ubiegłego wieku i pojawienia się rewolucji przemysłowej, choroby, które teraz nazywamy atopowymi alergicznymi zaburzeniami, nie były rozpoznawane jako jednostki (4). Nadwrażliwość wywołująca objawy ze strony oskrzeli i astmę, prawie podwoiła się w latach 80-tych i wczesnych 90-tych (5). Wykazano, że zanieczyszczenie powietrza, włączając emisję cząsteczek wydechowych silników diesla, nasila zarówno produkcję IgE nosowych jak i ekspresję cytokin Th2 (6) oraz może służyć jako nośnik dla pyłków kwiatowych i innych związków.

Alergie pokarmowe mogą rozwinąć się w każdym momencie życia, choć mogą być także wrodzone. Takie alergie występują zwykle na pokarmy, które matka spożywała często podczas ciąży, chociaż dziecko

wytwarza własne przeciwciała. Ponieważ proteiny z diety matki przechodzą do wód płodowych, i ponieważ płód jest zdolny do budowania własnych przeciwciał oraz do innych odpowiedzi immunologicznych, możliwe jest, że uczulanie płodu na te proteiny może zacząć się nawet w pierwszym trymestrze ciąży(7). Przeciwciała IgG matki przenikają przez łożysko w czasie ciąży, ale ich poziomy u dziecka zazwyczaj spadają w ciągu trzech do sześciu miesięcy po urodzeniu(8). Proteiny z diety matki przekazywane są także do pokarmu. Ponieważ pewna ilość antygeny przechodzi do mleka matki, ma to prawdopodobnie znaczenie dla rozwoju tolerancji dziecka na pokarmy, a nadmierna ekspozycja może skutkować nadwrażliwością. Karmione piersią dzieci, których matki stosują wskazania dietetyczne podczas laktacji, mają znacząco obniżoną częstotliwość występowania nadwrażliwości(7).

Inaczej niż alergie IgE, alergie IgG-zależne mogą być leczone, po okresie unikania alergenu oraz po okresie uważania na czynniki przyczyniające się do rozwoju alergii. Chociaż pokarm może być tolerowany na krótko w pewnym momencie, system immunologiczny "jest rozłuszczony" w pewnym sensie. Ponieważ nadwrażliwość jest zapisana " w komórkach pamięci" ciała (limfocyty stymulowane antygenami), odpowiedź może być reaktywowana jeśli ekspozycja ponownie staje się nadmierna lub zbyt częsta.



*Test alergiczny powinien być zawsze oceniany w związku z obrazem klinicznym pacjenta.*

*Testy alergiczne in-vitro mają zaletę wygody, bezpieczeństwa (brak ryzyka anafilaksji), braku interferencji z lekami i zmianami skórnymi oraz dobrą powtarzalność.*

### **Diagnoza**

Test alergiczny powinien zawsze być oceniany w związku z klinicznym obrazem pacjenta. Jeśli mechanizmy czyszczenia immunologicznego pacjenta są efektywne w odwracaniu objawów, ale alergia istnieje, test może pomóc w zidentyfikowaniu tych pokarmów, które do pewnego stopnia stresują system immunologiczny. Jeśli osoba jest uczulona na liczne pokarmy, test może także pomóc w zapewnieniu punktu startowego jeśli chodzi o eliminację.

### **Testy skórne in-vivo**

Alergie typu I są często diagnozowane przy pomocy testów skórnych lub przy pomocy testów śródskórnych, często stosowanych w kolejności po negatywnych testach skórnych. Zaletą testów skórnych polega na szybkich rezultatach, dobrej czułości i zdolności do testowania każdego antygeny. Wadą jest dyskomfort związany z procedurą, możliwe niebezpieczeństwo wystąpienia anafilaksji (9), przeciwwskazania do stosowania leków takich jak leki antyhistaminowe, leki przeciwobrzękowe i obkurczające naczynia, beta-blokery, leki działające rozkurczowo na oskrzela, teofilina, oraz możliwa interferencja z chorobami skóry. Ponieważ testy skórne odzwierciedlają tylko reakcje IgE-zależne, nie mogą informować klinicystów o potencjale opóźnionych reakcji nadwrażliwości odpowiedzialnych za tak szeroką gamę objawów

klinicznych (10).

### **Mierzenie przeciwciał in-vitro**

Pomiar przeciwciał specyficznych dla antygeny jest użytecznym narzędziem dla oceny alergii, szczególnie pokarmowych. Jedno z badań dotyczących małych dzieci wykazało, że 62,5% dzieci z objawami alergicznymi miało specyficzne przeciwciała IgG i 22,9% miało specyficzne przeciwciała IgE, podczas gdy dzieci bez objawów alergii pokarmowej nie miały żadnych przeciwciał (11).

Trzy szeroko stosowane metody mierzenia specyficznych przeciwciał obejmują ELISA, MAST, RAST/RASP. ELISA (test immunoenzymatyczny) może wykryć zarówno przeciwciała IgG jak i IgE. MAST i RAST (test radioalergosorpcji) mierzą przeciwciała IgE, chociaż ostatnio rozwija się badanie przeciwciał IgG przy pomocy MAST. Niektóre laboratoria mierzą tylko poziom IgG4 w odpowiedzi na pokarmy, jednak rekomendowane jest mierzenie całkowitego IgG.

Chociaż wszystkie podklasy IgG biorą udział w odpowiedzi immunologicznej, uważa się, że IgG1 jest głównym inicjatorem stanu zapalnego. Rola IgG4 w alergiach pokarmowych była wielokrotnie dyskutowana. IgG4 nie jest zdolny do aktywacji komplementu, tak więc nie przyczynia się do prawdziwej reakcji zapalnej, jest zdolny jednak do precypitacji uwalniania histaminy z bazofili(12), co może częściowo wyjaśniać podniesione poziomy obserwowane u osób atopowych i poprawę objawów po usunięciu "pozytywnych" pokarmów z diety(13). Jednocześnie sugerowano, że IgG4

może funkcjonować jako przeciwciało "blokujące" w stosunku do reakcji alergicznych, szczególnie, że poziomy mają tendencję do dramatycznego zwiększania się po udanej immunoterapii IgE-zależnych alergii pyłkowych(14). Chociaż IgG4 może indukować uwalnianie histaminy, uwalnianie to wydaje się być bardziej opóźnione, a reakcja mniej ostra niż reakcja typu I IgE-zależna.

Testy in-vitro mają zaletę wygody, bezpieczeństwa (bez ryzyka anafilaksji), braku interferencji z lekami antyhistaminowymi lub zmianami skórными oraz dobrą powtarzalność wyników. Testy in-vitro pozwalają też na użycie równoległej kontroli w każdym przypadku. Pozytywna reakcja na test in-vitro wskazuje na obecność alergii u badanej osoby. Jako "pełny test chemiczny" testy in-vitro mogą stanowić punkt startowy dla programu prób eliminacyjnych. Jako badanie przesiewowe u osób asymptomatycznych, testy in-vitro mogą ujawnić alergię pokarmową, które w danym momencie są efektywnie zarządzane przez system immunologiczny (stąd brak symptomów), ale które mogą się zmanifestować znacząco w przyszłości, w wypadku zwiększonego obciążenia immunologicznego.

Okazjonalnie test ujawni "ogólnie" niskie poziomy reaktywności IgG u osoby badanej. Kliniczne obserwacje sugerują możliwość przewlekłego zwiększenia przepuszczalności jelitowej w takich sytuacjach i współistniejącą reakcję

immunologiczną na dużą liczbę absorbowanych antygenów.

Wady testów in-vitro obejmują konieczność pobierania surowicy, niekiedy długą inkubację i możliwość fałszywie negatywnych wyników w kierunku IgE, które mogą wynikać z wielu czynników. Przeciwciała skierowane przeciwko zmiennym formom antygenów, które nie są używane w teście, np. pieczone, zepsute albo przetworzone pokarmy, mogą pozostać nie wykryte. Fałszywie negatywne wyniki mogą być także następstwem immunoterapii, rezultatu "blokowania" produkcji przeciwciał przez IgG (To jest jeden z mechanizmów stojących za efektywnością immunoterapii alergii IgE-zależnych; antygen teraz chętniej wiąże się z IgG niż z IgE, co zapobiega natychmiastowej i ostrej reakcji histaminowej). Na koniec, z prawdopodobnym możliwym wyjątkiem alergenów indukujących anafilaksję, specyficzne immunoglobuliny mają tendencję do stopniowego zanikania w odpowiedzi na eliminację antygeny. Chociaż czas półtrwania przeciwciał IgE wynosi tylko 3 dni, a czas półtrwania IgG 23 dni, zaabsorbowane antygeny, które uległy sekwestracji przez wątrobę, mogą być w niektórych przypadkach powoli uwalniane przez szereg miesięcy skutkując przetrwałą produkcją przeciwciał. Poziomy ich jednak będą wciąż spadały z upływem czasu, wyjąwszy każdą nową ekspozycję. Ponieważ pokarmy takie jak pszenica, nabiał kukurydza, są powszechnie używane jako substancje dodatkowe w przetworzonej żywności albo kosmetykach, poziomy IgG mogą łatwiej utrzymywać się u osoby, która błędnie założyła, że całkowicie wyeliminowała

*Testy in-vitro na przeciwciała są pół-ilościowe. Testy te najlepiej służą do identyfikacji substancji uczulających, które następnie mogą być unikane albo rotowane w badaniach klinicznych.*

uczulający ją pokarm. Przeciwciała IgE na alergeny sezonowe mogą być niewykrywalne jeśli są mierzone w czasie asymptomatycznego okresu.

#### **Interpretacja testów in-vitro**

Należy odnotować, że testy in-vitro na obecność przeciwciał są testami pół-ilościowymi. Wszystkie procedury obejmują wiązanie specyficznych przeciwciał z antygenem pokarmowym, który jest już przyczepiony do podłoża stałego np. płytki lub próbówki. W każdej procedurze stosowany jest znacznik, który jest oznaczany metodą ilościową. Znacznikiem używanym w RAST jest radioaktywny izotop, podczas gdy w MAST używany jest znacznik luminescencyjny. W teście ELISA znacznikiem jest enzym, który indukuje zmianę koloru, która następnie odczytywana jest fotometrycznie jako "gęstości optyczne". Im bardziej intensywna zmiana koloru tym wyższa koncentracja specyficznych przeciwciał. Z powodu nieuniknionego braku precyzji w wielostopniowym procesie używanym w tych procedurach, zawsze będzie występowało naturalne odchylenie w oznaczeniach ilościowych. Z tego właśnie powodu raportowanie szerokiej rozpiętości reaktywności np. od 0 do 3+, stało się standardem.

Dosłowne poleganie na wielkościach optycznej gęstości ( w przypadku testu ELISA), może być mylące, ponieważ testy follow-up pokazują, że wyższe albo niższe optyczne gęstości w odpowiedzi na

konkretny pokarm, faktycznie mogą nie korelować z poprawą albo pogorszeniem poziomu reaktywności u jednostki. Nawet szerokie kategorie od 0 do 3+ powinny być oceniane w związku z klinicznym obrazem pacjenta. Reakcja IgG 3+ będzie generalnie implikowała silniejszą reakcję immunologiczną (lub cięższą alergię) niż reakcja 1+. Jednak reakcja 3+ może nigdy nie manifestować symptomów u osoby, której system efektywnie neutralizuje kompleksy immunologiczne, podczas gdy reakcja 1+ może skutkować ciężkimi objawami u osoby, której system retikuloendotelialny jest przepełniony. Innymi słowami testy in-vitro najlepiej służą identyfikacji uczulających substancji, które następnie mogą być wyeliminowane z diety albo rotowane w klinicznych próbach.

#### **Diety eliminacyjne**

Eliminacja i ponowne wprowadzanie pokarmów jest nieocenionym środkiem określania relacji między symptomem a konkretnym pokarmem. Typowy protokół obejmuje eliminację wszystkich możliwych alergogennych pokarmów (zwykle rutynowe pokarmy w czyjejś diecie) na 1 do 2 tygodni oraz, zakładając kliniczną poprawę podczas tego czasu, na stopniowym wprowadzaniu jednego pokarmu co 2-3 dni. Jeśli dany pokarm w jednym posiłku nie daje objawów, w kolejnych posiłkach podawana jest większa ilość tego pokarmu. Jeśli objawy występują ponownie w ciągu 2-3 dni powtarzanego spożywania pokarmu, pokarm ten uznaje się za alergogeny i eliminuje z diety. Jeśli objawy nie pojawiają się, pokarm jest włączany do diety hipoaergiczej a następny pokarm jest testowany w ten sam

*Łączenie wstępnego testu in-vitro z dietą eliminacyjną stanowi podejście najbardziej efektywne i poprawia podatność pacjenta na leczenie.*

sposób.

Nie ma potrzeby mówić, że ten proces może zabrać szereg tygodni, w zależności od ilości testowanych pokarmów i wymaga dużo samodyscypliny. Rezultaty jednak są nieocenione. Pacjent nie tylko może określić, które pokarmy produkują które symptomy, ale kliniczne doświadczenie poprawy związanej z eliminacją produktu uczulającego oraz doświadczenie pogorszenia po spożyciu tego produktu, często służy zapewnieniu potrzebnej zachęty dla następczej długoterminowej eliminacji lub rotacji uczulających pokarmów. Proces ten pomaga również w odkrywaniu NIE-immunologicznie zależnych reakcji. Jak omówiono wcześniej, związek między pokarmem i objawami, nie oznacza automatycznie "alergii".

Poleganie w procesie diagnostycznym wyłącznie na metodzie diety eliminacyjnej ma kilka wad. Długi czas potrzebny do zastosowania tej metody oraz wymagana dyscyplina były już wspomniane. Nadwrażliwość przebiegająca subklinicznie nie będzie tą metodą wykryta. Na koniec istnieje możliwość, że niektóre pokarmy spożywane jako komponenty "hipoalergicznnej" diety są antygeniczne dla danej osoby. W takim przypadku poprawa symptomów na stosowanej diecie nie następuje i prowadzi to do fałszywego wniosku, że dane pokarmy nie odgrywają roli w chorobie pacjenta. Łączenie wstępnego testu in-vitro z dietą eliminacyjną

stanowi podejście najbardziej efektywne ze wszystkich i poprawia podatność pacjenta na leczenie.

### **Leczenie**

Poniżej krótko omówiono kilka najbardziej popularnych metod zarządzania alergiami.

### **Immunoterapia (Odczulanie)**

Alergie wziewne są najczęściej leczone połączoną metodą unikania uczulających substancji, jeżeli to jest możliwe, wraz z immunoterapią, na którą składają się iniekcje kolejno rosnących stężeń antygenów. Kiedy antygen jest wprowadzany do systemu pacjenta, system immunologiczny stopniowo rozwija mieszaną odpowiedź IgG na ten antygen, chociaż nigdy na tyle silną, żeby spowodować uszkodzenie tkanki. Uważa się, że przeciwciała IgG blokują cięższą reakcję IgE i objawy zwykle ustępują w ciągu kilku tygodni. Standardowa immunoterapia nie jest stosowana w procesie odczulania na pokarmy i pleśnie ponieważ duża ekspozycja na antygeny z różnych źródeł jest już zwykle tak wysoka, że prawdopodobne jest wystąpienie ciężkich reakcji. Powinno się zauważyć, że chociaż po leczeniu przeciwciała IgE pozostają w systemie, test na obecność IgE we krwi, może ich nie wykryć z powodu kompetencyjnej inhibicji przez IgG. Ten znaczący spadek jednak wydaje się pojawiać tylko po około 2 latach odczulania(15).

### **Enzymatycznie wzmacniane odczulanie**

Enzymatycznie wzmacniane odczulanie (EPD) także polega na okresowych skórnych iniekcjach antygeny, z tym, że ilość antygeny w porównaniu do standardowej immunoterapii jest bardzo mała. Co więcej antygenowi towarzyszy

*Eliminacja pokarmów uczulających zapewnia systemowi immunologicznemu odpoczynek. Poziomy przeciwciał stopniowo opadają, kompleksy immunologiczne są czyszczone a symptomy poprawiają się.*

enzym beta-glukuronidaza, który pomaga aktywować komórki T-supresyjne (CD8). Inaczej niż w immunoterapii, poziomy IgG NIE rosną w odpowiedzi na leczenie, mimo rozwijania się tolerancji. Iniekcje podawane są co dwa miesiące i w większości przypadków mogą być podawane rzadziej, jeżeli obserwowana jest poprawa. EPD jest stosowany w przebiegu alergii pokarmowych i alergii na pleśnie, a także jest preferowany przez wielu lekarzy w leczeniu alergii wziewnych.

#### **Leki**

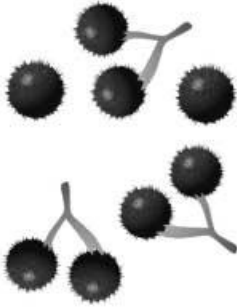
Inne standardowe metody leczenia alergii wziewnych obejmują leki antyhistaminowe, leki przeciwobrzękowe i obkurczające naczynia, glukokortykosteroidy i kromoglikan sodu. Kromoglikan sodu blokuje degranulację komórek tucznych, chemotaksję eozynofili i neutrofilii i uwalnianie mediatora; z powodu słabej absorpcji po podaniu drogą doustną, lek ten musi być podawany często, aby utrzymać odpowiednie stężenie w śluzówkach. Quercetin jest naturalnym bioflawonoidem o podobnej aktywności(16). Wszystkie te leki mają działanie wyłącznie paliatywne, ale oczywiście mogą uczynić wielką różnicę u pacjenta, który doświadcza napadów kichania lub łęku związanego z astmą.

#### **Eliminacja alergenu**

Najważniejszym komponentem każdego programu alergicznego jest redukcja ekspozycji na uczulający czynnik. Tak długo jak będzie utrzymywana

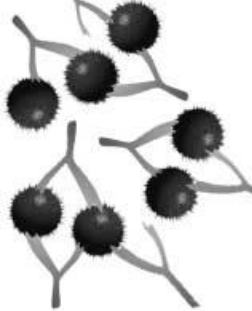
ekspozycja na alergen, tak długo przeciwciała będą produkowane, a system immunologiczny pobudzony. Alergie IgE-zależne wydają się być "stałe", tak więc unikanie alergenów konieczne jest przez całe życie. W odróżnieniu alergii IgG-zależne mogą być odwracalne z upływem czasu. Pokarmy uczulające najlepiej jest eliminować z diety na minimum 3 miesiące, szczególnie te, które wywołują najcięższe objawy lub dają najwyższe wyniki w testach in-vitro. Dobrze jest też ograniczyć w diecie pokarmy należące do tej samej grupy co pokarmy uczulające. Uczulenie na małże na przykład, może wskazywać na większe prawdopodobieństwo uczulenia na ostrygi, przegrzebki, kałamarnice i inne z rodziny "mięczaków". Reakcja krzyżowa jednak relatywnie nieczęsto się zdarza, a podatność pacjenta musi być zawsze brana pod uwagę.. Należy też zwracać uwagę na możliwość obecności uczulających pokarmów w innych produktach jak np. jajka zawartego w majonezie. Eliminacja uczulających pokarmów zapewnia systemowi immunologicznemu odpoczynek. Poziomy przeciwciał stopniowo spadają, kompleksy immunologiczne są czyszczone a objawy ulegają poprawie. Mniej uczulające pokarmy często są początkowo tolerowane, jeżeli przyjmowane są nie częściej niż co 4 dni; jednak tolerancja jest różna u różnych osób i aby uzyskać poprawę stanu klinicznego u pacjentów z silniejszymi objawami, może okazać się konieczne czasowe wyeliminowanie z diety nawet pokarmów z reaktywnością 1+.

Nadmiar antygeny.



*Jednym z najważniejszych determinantów patogeniczności w przebiegu klinicznego leczenia pacjenta jest równowaga między antygenem i przeciwciałem.*

Strefa równowagi.

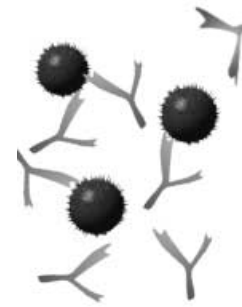


### **Równowaga**

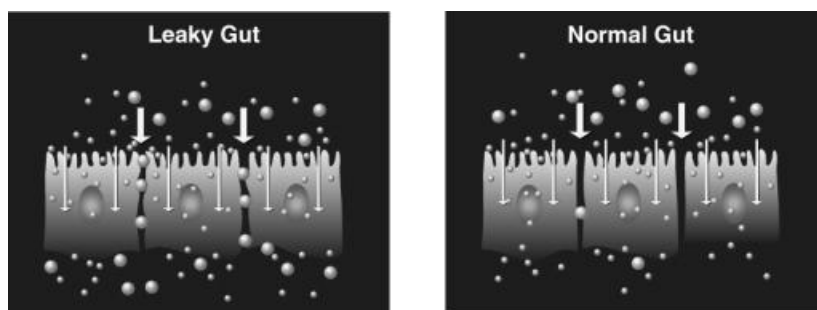
#### **antygen/przeciwciało**

Jednym z najważniejszych determinantów patogeniczności kompleksu Ag/Ab i klinicznego prowadzenia pacjenta jest równowaga między antygenem i przeciwciałem. W stanie ekwiwalencji - równowagi (nazywanym także "zoną ekwiwalencji") kompleksy mogą rosnąć do nienormalnych rozmiarów. Im większe i bardziej liczne kompleksy tym bardziej prawdopodobne, że mogą przeciążyć system retikuloendotelialny i odkładać się w tkankach ciała. Osoby z alergiami IgG często mają paradoksalne doświadczenie czucia się natychmiastowo lepiej, zamiast gorzej, po spożyciu uczulającego pokarmu. To się dzieje, to jest przejście w strefę "nadmiaru antygenów"(17). W tej strefie kompleksy stają się bardziej rozpuszczalne i objawy mogą zanikać, to jest dopóki większa ilość przeciwciał jest produkowanych i "strefa równowagi" jest ponownie osiągnięta, dając więcej symptomów. Spożycie większej ilości tego pokarmu, ponownie przynosi ulgę tworząc zamknięty cykl uzależnienia, który trudno jest przerwać. Po 7-10 dniach ścisłej eliminacji

Nadmiar przeciwciała.



uczulającego pokarmu, osoba przesuwa się do strefy "nadmiaru przeciwciał". Przy mniejszej ilości antygenów wielkość i liczba kompleksów ulega redukcji, a symptomy zanikają. W tym okresie osoba ta jest bardzo wrażliwa (stąd widoczne diagnostyczne pogorszenie z powodu ponownego wprowadzenia uczulającego pokarmu na tym etapie) i powinna utrzymać dietę eliminacyjną przez 3 lub więcej miesięcy, podczas gdy poziomy przeciwciał spadają. Po tym etapie, test follow-up in-vitro może pokazać niższą reaktywność na te pokarmy, które były eliminowane. Ten fakt nie gwarantuje, że pokarm będzie tolerowany po ponownym wprowadzeniu. Komórki plazmatyczne utrzymują pamięć tej wrażliwości i nowe przeciwciała mogą być produkowane przy każdej ekspozycji. Tylko próbne ponowne wprowadzenie alergenu może dać odpowiedź na to pytanie. Jeżeli objawy nie są wywoływane po ponownym wprowadzeniu pokarmu, pokarm może być zwykle przywrócony do diety, lecz najlepiej na rotacyjnej zasadzie. Powtarzająca się ekspozycja na pokarm zwykle przyczynia się do rozwoju nadwrażliwości, stąd powrót do tej samej częstości ekspozycji przynosi zwykle powrót symptomów.



*Skorygowanie zaburzeń równowagi flory jelitowej i zapewnienie wsparcia żywieniowego dla systemu immunologicznego, może znacząco przyczynić się do redukcji wrażliwości immunologicznej.*

### **Inne okoliczności**

W przypadku reaktywności na pleśnie, drożdże lub grzyby, zwykle jest użyteczne leczenie wszystkich współistniejących infekcji. Przykłady obejmują grzybicę skóry, stopę atlety, grzybicę pachwin, a także przerost drożdży pochwowych lub jelitowych. Takie postępowanie może pomóc wyeliminować reakcje krzyżowe i obniżyć całkowite obciążenie systemu immunologicznego.

Ponieważ przyjmuje się, że alergie IgG są wynikiem przemieszczania się antygenów pokarmowych przez przepuszczalną ścianę jelitową(18), zwrócenie uwagi na poprawę stanu jelita jest warunkiem koniecznym dla przeciwdziałania dalszym problemom. Nie jest niezwykle dla osoby, która spożywa sojowe pokarmy np. jako substytut dla pokarmów takich

jak mleko krowie i pszenica, by nagle stwierdzić, że jest teraz niezdolna do tolerowania soi po kilku miesiącach. Ocena przepuszczalności jelitowej, jak również dokładna analiza kału, mogą pomóc w rozpoznaniu "leaky gut" oraz przyczyniających się czynników takich jak niestrawność, złe wchłanianie, zaburzenia równowagi flory, niedobór wydzielniczego IgA i uszkodzenie śluzówki z powodu infekcji albo czynników takich jak niesterydowe leki przeciwzapalne.. Skorygowanie tych zaburzeń może pomóc zredukować prawdopodobieństwo rozwoju dodatkowych alergii.

Na koniec warto zauważyć, że dodatkowe żywieniowe wsparcie dla systemu immunologicznego a także wybrane zioła, leki homeopatyczne lub akupunktura mogą znacząco przyczynić się do redukcji wrażliwości immunologicznej i odpowiedzi zapalnej.

## **Bibliografia**

- 1) Gaby AR. The role of hidden food allergy/intolerance in chronic disease. Alt Med Review 1998;3(2):90-100.
- 2) Buckley RH, Metcalfe D. Food allergy. JAMA 1982;248:2627-31.
- 3) Gerrard JW, Ko CG, Vickers P. The familial incidence of allergic disease. Ann All 1976;36:10.

- 4) Mygind N. History of Allergy. In: Essential Allergy—An Illustrated Text for Students and Specialists. Boston: Blackwell Scientific Publications, 1986:1-9.
- 5) Chandra RK. Food allergy and food intolerance: lessons from the past and hopes for the 21st century. In: Somoyogi JC, Muller HR, Ockhuizen T, editors. Food allergy and food intolerance. Nutritional aspects and developments. *Bibl Nutr Dieta* 1991;48:149-156.
- 6) Casillas AM, Nel AE. An update on the immunopathogenesis of asthma as an inflammatory disease enhanced by environmental pollutants. *Allergy Asthma Proc* 1997 Jul-Aug;18(4):227-33.
- 7) Chandra RK. Food allergy and food intolerance: lessons from the past and hopes for the 21st century. In: Somoyogi JC, Muller HR, Ockhuizen T, editors. Food allergy and food intolerance. Nutritional aspects and developments. *Bibl Nutr Dieta* 1991;48:149-156.
- 8) Host A, Husby S, Gjesing B, Larsen JN, Lowenstein H. Prospective estimation of IgG, IgG subclass and IgE antibodies to dietary proteins in infants with cow milk allergy. Levels of antibodies to whole milk protein, BLG and ovalbumin in relation to repeated milk challenge and clinical course of cow milk allergy. *Allergy* 1992 Jun;47(3):218-29.
- 9) Sampson HA, Metcalfe DD. Food allergies. *JAMA* 1992;268(20):2840-2844.
- 10) El Rafei A, Peters SM, Harris N, Bellanti JA. Diagnostic value of IgG4 measurement in patients with food allergy. *Ann Allergy* 1989;62:94-99.
- 11) Hofman T. IgE and IgG antibodies in children with food allergy. *Rocz Akad Med Białymst* 1995;40(3):468-473.
- 12) Vijay HM, Perelmutter L. Inhibition of reagin-mediated PCA reactions in monkeys and histamine release from human leukocytes by human IgG4 subclass. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1977;53:78-87.
- 13) Gwynn CM, Ingram J. Bronchial provocation tests in atopic patients with allergen specific IgG4 antibodies. *Lancet* 1982;1:254-256.
- 14) Van der Giessen M, Homan WL, van Kernebeek G, et al. Subclass typing of IgG antibodies formed by grass pollen allergic patients during immunotherapy. *Int Arch Allergy Applied Immunol* 1976;50:625-639.
- 15) Szymanski W, Chrek-Borowska S, Obrzut D. IgG, IgA, IgM and IgE serum levels in asthmatic patients sensitive to house dust and mite allergens after two-year specific immunotherapy. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 1984;32(4):381-7.
- 16) Middleton E Jr, Drzewiecki G. Flavonoid inhibition of human basophil histamine release stimulated by various agents. *Biochem Pharmacol* 1984 Nov 1;33(21):3333-8.
- 17) Randolph TG. Specific adaptation. *Ann Allergy* 1978;40:333-345.
- 18) Andre C, Françoise A, Colin L. Effect of allergen ingestion challenge with and without cromoglycate cover on intestinal permeability in atopic dermatitis, urticaria and other symptoms of food allergy. *Allergy* 1989;44(9):47-51.