Reakcija preosjetljivosti na glavne skupine proteina iz kravljeg mlijeka

Starešinčić, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:285853

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Ana Starešinčić

Reakcija preosjetljivosti na glavne skupine proteina iz kravljeg mlijeka

Završni rad

Zagreb, 2022.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Ana Starešinčić

Hypersensitivity to the main groups of proteins from cow's milk

Bachelor thesis

Zagreb, 2022.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Biologije na Zavodu za animalnu fiziologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof.dr.sc. Vesne Benković.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek Završni rad

Reakcija preosjetljivosti na glavne skupine proteina iz kravljeg mlijeka

Ana Starešinčić

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Zdravi imunosni sustav zaslužan je za eliminaciju brojnih patogena i infekcija, no u slučajevima kada on nekontrolirano reagira na bezazlene antigene iz okoliša, dolazi do razvitka alergija. Proteinski antigeni iz kravljeg mlijeka jedni su od najčešćih alergena na koje reagiraju osobe alergične na hranu. Kravlje mlijeko dovodi do pretjerane imunosne reakcije kod oko 0,5% odrasle populacije, što je značajno manje u odnosu na incidenciju alergije kod male djece, koja može iznositi i 2.5%. Kazeini i whey proteini dvije su velike skupine proteina kojima pripadaju svi opisani proteini kravljeg mlijeka. Kod najvećeg broja pacijenata uočena su IgE protutijela specifična za tri najznačajnija alergena: α-laktalbumin, β-laktoglobulin i kazeine. Kada organizam po drugi put dođe u doticaj s navedenim alergenima, aktiviraju se krvne stanice (mastociti, bazofili i eozinofili) koje su potaknute na lučenje medijatora koji dovode do pojave simptoma karakterističnih za alergije na kravlje mlijeko, primjerice urtikarije i svrbeži. U novije doba svjedočimo sve većem porastu tržišno dostupnih mliječnih zamjena, sve s različitim sastavom mikro- i makronutrijenata.

Ključne riječi: α-laktalbumin, β-laktoglobulin, kazeini, IgE, medijatori, mliječne zamjene
(29 stranica, 9 slika, 4 tablice, 23 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: prof.dr.sc. Vesna Benković

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Hypersensitivity reaction to the main groups of proteins from cow's milk

Ana Starešinčić

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

A healthy immune system is responsible for eliminating numerous pathogens and infections, but in cases where it reacts uncontrollably to harmless antigens from the environment, allergies develop. Protein antigens from cow's milk are one of the most common allergens to which people with food allergies react. Cow's milk leads to an excessive immune reaction in about 0.5% of the adult population, which is significantly less than the incidence of allergies in young children, which can be as high as 2.5%. Caseins and whey proteins are two large groups of proteins to which all the described cow's milk proteins belong. IgE antibodies specific to the three most important allergens were observed in the largest number of patients: α-lactalbumin, β-lactoglobulin and casein. When the organism comes into contact with the mentioned allergens for the second time, blood cells (mast cells, basophils and eosinophils) are activated, which are enhanced to secrete mediators that lead to the appearance of symptoms characteristic of cow's milk allergies, for example, urticaria and itching. In recent times, we have witnessed a greater increase in milk substitutes available on the market, all with different compositions of micro- and macronutrients.

Keywords: α-lactalbumin, β-lactoglobulin, caseins, IgE, mediators, cow 's milk substitutes
(29 pages, 9 figures, 4 tables, 23 references, original in: croatian)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Prof. Vesna Benković, PhD

Sadržaj

1. Uvod 1
1.2. Alergija 2
1.2.1. Alergija na kravlje mlijeko 4
2. Uloga stanica imunosnog sustava u alergijskim reakcijama na kravlje mlijeko 5
2.3. B stanice i IgE 6
2.4. Mastociti 7
2.4.1. Medijatori u granulama mastocita 8
2.4.2. Lipidni medijatori 10
2.4.3. Citokini 10
2.5. Bazofili 11
2.6. Eozinofili 12
3. Kravlje mlijeko i njegov proteinski sastav 15
3.1. Whey proteini 15
3.1.1. α-Laktalbumin (Bos d 4) 16
3.1.2. β-Laktoglobulin (Bos d 5) 16
3.1.3. Serum albumin (Bos d 6) 16
3.1.4. Imunoglobulin (Bos d 7) 17
3.1.5. Laktoferin (Bos d LF) 17
3.2. Kazeini (Bos d 8) 17
4. Dijagnostika alergije na kravlje mlijeko 18
4.1. Kožni test ubodom 18
4.2. Test razine specifičnih IgE u serumu 19
4.3. Provokacijski test 20
5. Alternativna mlijeka (napitci) u prehrani alergičara 21
5.1. Zamjena životinjskog porijekla 21
5.1.1. Kozje mlijeko 22
5.2. Zamjene biljnog porijekla 23
5.2.1. Napitak od soje 23
5.2.2. Napitak od badema 24
5.2.3. Napitak od zobi 24

5.2.4. Napitak od riže 24
6. Zaključak 26
7. Literatura 27
8. Životopis 29

1. Uvod

1.1 Poremećaji preosjetljivosti

Primarna fiziološka funkcija imunosnog sustava je sprječavanje ili iskorjenjivanje infekcije, no ukoliko je njegov odgovor nedovoljno kontroliran i neprimjeren, imunosni sustav može prouzročiti oštećenje tkiva i bolest. Bolesti nastale na taj način nazivaju se bolesti preosjetljivosti te su prema mehanizmima nastanka bolesti podijeljene u 4 tipa (I, II, III i IV tip) (Abbas i sur. 2018) (Tablica 1). Tema ovoga rada bavi se problematikom I tipa preosjetljivosti, dok će se ostali tipovi u svrhu ovoga rada zanemariti.

Najčešći uzrok bolesti preosjetljivosti je pretjerana reakcija protiv antigena iz okoliša. Imunosni sustav većine populacije ne reagira na uobičajene (i najčešće bezazlene) antigene iz okoliša, no procjenjuje se da čak 20% populacije nenormalno reagira na takve tvari. Prilikom izlaganja takvim antigenima dolazi do stvaranja IgE protutijela koja vode u nastanak alergijskih bolesti. Kod tih bolesti mehanizmi koji dovode do oštećenja tkiva istovjetni su uobičajenim mehanizmima kojima se imunosni sustav služi kako bi uklonio patogene (Abbas i sur. 2018). Dakle, primarni problem kod poremećaja preosjetljivosti je taj što imunosni odgovor nije kontroliran na odgovarajući način.

Tablica 1. Kratak pregled četiri glavna oblika preosjetljivosti (preuzeto i prilagođeno prema Abbas i sur. 2018).

Oblik preosjetljivosti	Imunopatološki mehanizam	Mehanizam oštećenja tkiva i razvoja bolesti
I. oblik: neposredna	protutijela IgE, stanice T_H2	mastociti, eozinofili i njihovi medijatori (vazoaktivni amini, lipidni medijatori, citokini)
II. oblik: posredovana protutijelima	protutijela IgM i IgG na površinske stanične antigene i antigene izvanstaničnoga matriksa	opsonizacija i fagocitoza stanica novačenje i aktiviranje leukocita (neutrofila, makrofaga) posredovano komplementom i Fc receptorima poremećena stanična funkcija, npr. signaliziranje hormonskim receptorom, zapriječeni receptori za neurotransmitor
III. oblik: posredovana imunokompleksima	imunokompleksi od cirkulirajućih antigena i protutijela IgM i IgG	novačenje i aktivacija leukocita posredovano komplementom i Fc receptorima
IV. oblik: posredovana stanicama T	1. $CD4^+$ stanice (stanice T_H1 i T_H17) 2. $CD8^+$ stanice CTL	1. upala posredovana citokinima 2. izravno ubijanje ciljnih stanica, upala posredovana citokinima

1.2. Alergija

Neposredna preosjetljivost (I tip preosjetljivosti) javlja se uslijed imunoreakcija na nemikrobne antigene iz okoliša. Reakcija na uneseni antigen javlja se unutar nekoliko minuta, a prati je sporija upala pod nazivom reakcija kasne faze. U kliničkoj medicini obje reakcije neposredne preosjetljivosti zajedničkim imenom nazivaju se alergija ili atopija (Abbas i sur. 2018). Tvari koje dovode do nastanka alergijskih reakcija nazivaju se alergeni, a osobe kod kojih dolazi do takvih nekontroliranih reakcija imunosnog sustava su alergičari ili atopičari. Alergije su najčešći poremećaji imunosnog sustava sa stalnim porastom incidencije u razvijenim zemljama (Abbas i sur. 2016).

Na Slici 1. prikazan je uobičajen slijed događaja tijekom alergijskih reakcija. Alergen prvo mora proći epitel sluznice, što dovodi do aktivacije limfocita specifičnih za antigen, nastanka protutijela IgE i u konačnici vezanja protutijela na receptore na mastocitima. Tek uslijed ponovljenog izlaganja antigenu dolazi do oslobađanja medijatora iz mastocita što u konačnici dovodi do patološke reakcije. Opisani slijed događaja slijedi vrlo brzo nakon izlaganja alergenu, dok upala, u obliku reakcije kasne faze, nastupa s odmakom od 2 do 4 sata (Abbas i sur. 2018). Detaljniji opis uloge svih navedenih molekula koji sudjeluju u reakciji neposredne preosjetljivosti slijedi u nastavku rada.

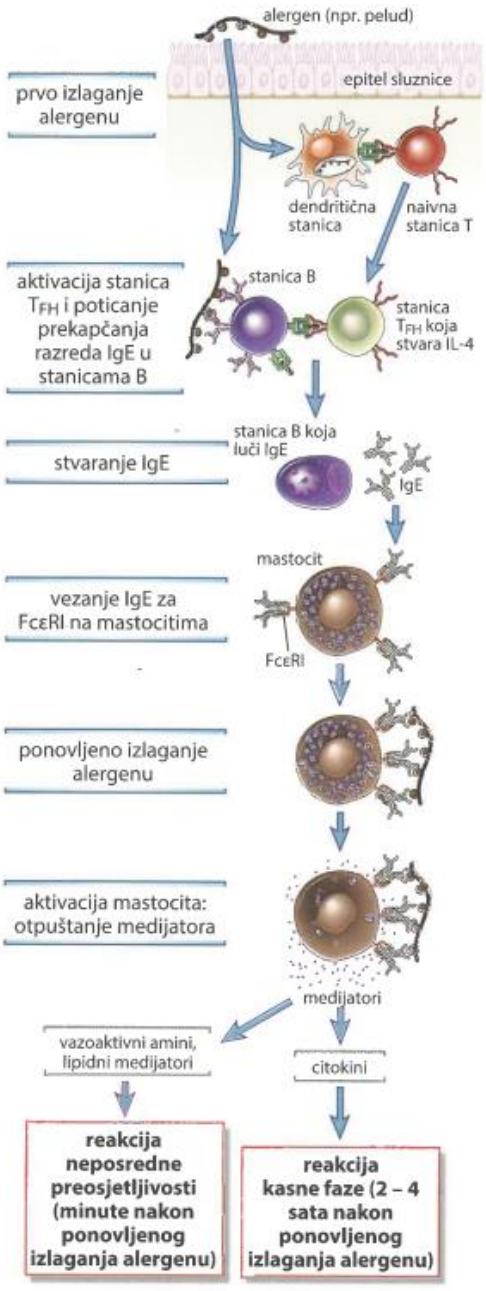
Ovisno o tipu alergija, postoje brojne varijacije u simptomima, kao što su osip na koži, suženje bronha, bolovi u trbuhu, začepljenje sinusa, proljev i sistemski šok. Uz sve navedeno, kao najozbiljniji tip alergijske reakcije smatra se anafilaksija koja u nekim slučajevima može dovesti i do smrtnog ishoda (Abbas i sur. 2018).

Uz vrlo raznolik raspon alergija, najzastupljenijim oblicima smatraju se bronhalna astma, peludna hunjavica, atopijski dermatitis te alergije na hranu (Abbas i sur. 2018).

Broj klinički dijagnosticiranih alergija na hranu u stalnom je porastu. Vjeruje se da od njih boluje oko 6% djece te 3 do 4% odrasle populacije (Benhamou i sur. 2009). Ipak, broj samodijagnosticiranih pacijenata, koji smatra da ima alergiju na određeni tip hrane, znatno je veći od broja pacijenata sa potvrđenom IgE odgovornom alergijom. Razlog tomu mogu biti različite intolerancije na hranu (Linhart i sur. 2019).

Iako skoro svaki tip hrane može izazvati alergijsku reakciju, najčešće su reakcije na antigene iz kravljeg mlijeka, jaja, kikirikija, orašastih plodova, pšenice, određenih školjki i soje

(Benhamou i sur. 2009). Alergijske reakcije na hranu potaknute su isključivo unošenjem proteinskih antigena određene hrane (Abbas i sur. 2018).



Slika 1. Tijek događaja u alergijskim reakcijama (I tip preosjetljivosti). Zbog ulaska alergena kroz epitel sluznice dolazi do diferencijacije T limfocita koji potom luče citokin IL-4 i potiču B limfocite na stvaranje protutijela IgE razreda. Senzibilizacija mastocita IgE protutijelima odgovorna je za otpuštanje medijatora prilikom ponovnog izlaganja alergenu (preuzeto iz Abbas i sur. 2018).

1.2.1. Alergija na kravlje mlijeko

Najveći broj pacijenata kojima je dijagnosticirana alergija na kravlje mlijeko razvija simptome prije napunjene prve godine života (Benhamou i sur. 2009). Pojavnost ovakvog tipa alergija procjenjuje se na 0,6-2,5% kod predškolaca, 0,3% kod starije djece i adolescenata, dok kod odraslih osoba udio oboljelih čini manje od 0,5% (Jo i sur. 2014). Kao što je iz ovih podataka vidljivo, ovaj tip alergije karakterizira razvijanje tolerancije kod određenog broja pacijenata usporedno sa sazrijevanjem, dok neke osobe mogu ostati alergične cijeli život. Alergijske reakcije na kravlje mlijeko najvećim dijelom su posredovane lučenjem IgE protutijela u odgovoru na određeni protein, dok se kod manjeg udjela bolesnika javlja reakcija neovisna o IgE protutijelima (Benhamou i sur. 2009).

Imunološke reakcije koje nisu posredovane IgE protutijelima, a povezane su s unošenjem kravljeg mlijeka u organizam, imaju simptome usmjerene na gastrointestinalni trakt i kožu. Takve reakcije često su odgođene te se mogu razviti i do nekoliko dana nakon unošenja mliječnih alergena. Također, kod pacijenata kod kojih prevladava ovaj tip alergijske reakcije, karakterističan je negativan test cirkulirajućih IgE specifičnih za proteinske alergene, a javlja se i negativan kožni test (Linhart i sur. 2019). Radi lakšeg razumijevanja te manje istraženosti reakcija neovisnih o IgE protutijelima, taj mehanizam reakcije imunosnog sustava će se u daljnjem tekstu zanemariti.

Najizraženiji simptomi karakteristični za ovaj tip alergije su svrbež, urtikarija (Slika 2), angioedem, proljev, povraćanje, grčevi u trbuhu i otežano disanje (Benhamou i sur. 2009).

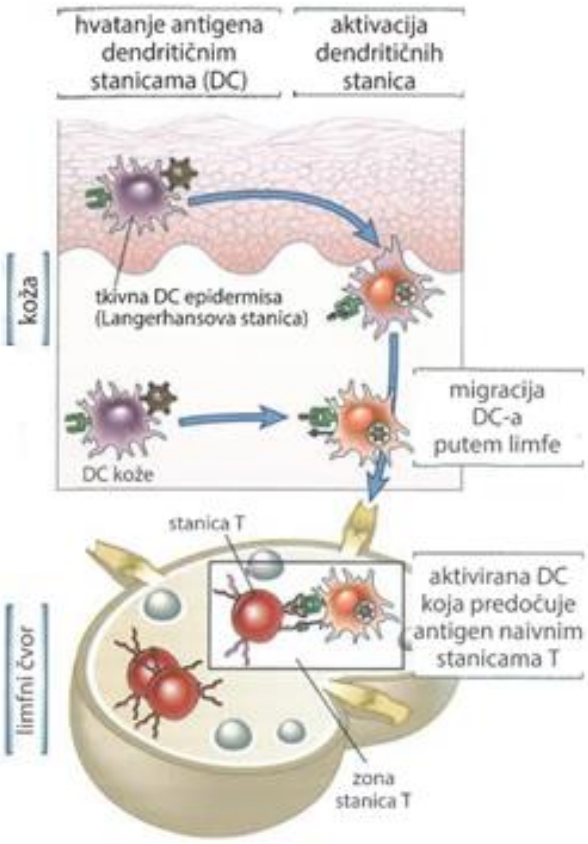


Slika 2. Urtikarija, jedan od brojnih simptoma alergijskih reakcija (preuzeto iz https://www.tuasaude.com/en/hives/).

2. Uloga stanica imunosnog sustava u alergijskim reakcijama na kravlje mlijeko

2.1. Dendritične stanice

Smatra se da dendritične stanice hvataju alergene prilikom njihovog prolaska kroz epitel te ih endocitozom ili fagocitozom unose u citoplazmu stanice. Simultano dolazi do migracije dendritičnih stanica do drenirajućih limfnih čvorova, gdje u sklopu MHC molekula II klase na površini membrane prezentiraju prerađene peptidne fragmente antigena naivnim $CD4^+$ stanicama (Slika 3). Pritom, vrlo je bitna njihova uloga koncentriranja antigena unutar limfnih čvorova jer to uvelike povećava vjerojatnost da određeni antigen stupi u kontakt sa za njega specifičnom naivnom T stanicom, s obzirom na to da T limfociti konstantno cirkuliraju kroz brojne limfne čvorove (Abbas i sur. 2018).



Slika 3. Uloga dendritičnih stanica u aktivaciji naivnih $CD4^+$ predočavanjem uhvaćenih antigena **(**preuzet je dio slike iz Abbas i sur. 2018).

2.2. T limfociti

U alergijskim bolestima bitnu ulogu igraju dvije vrste $CD4^+$ limfocita, a to su T_H2 (T helper 2) i T_{FH} (T follicular helper) limfociti. Početak svake alergijske reakcije predstavlja nastanak T_H2 i T_{FH} specifičnih za uneseni antigen. Takve za antigen specifične stanice nastaju iz naivnih $CD4^+$ stanica prepoznavanjem peptidnih fragmenata antigena koji im predočuju dendritične stanice (Abbas i sur. 2018).

Signali za diferencijaciju u određeni tip stanica dolaze od različitih vrsta citokina interleukina, a najveću ulogu u diferencijaciji i proliferaciji podskupine stanica T_H2 ima interleukin – 4 (IL–4) koji izlučuju različite vrste stanica. Navedeni IL-4 također osigurava signale za diferencijaciju T_{FH} stanica, no oni su slabije istraženi (Abbas i sur. 2018).

Nakon prepoznavanja određenog antigena (alergena), naivne $CD4^+$ stanice diferencirane u izvršne T_H2 limfocite migriraju do tkiva izloženih alergenu gdje sudjeluju u reakcijama kasne faze, koje karakterizira upala koja se javlja 2-4 sata nakon ulaska antigena u organizam. T_{FH} stanice ostaju u limfnim organima gdje u daljnjem tijeku alergijske reakcije stupaju u kontakt s B limfocitima (Abbas i sur. 2018).

Osim što se diferenciraju uz pomoć citokina, T_H2 stanice i same luče brojne citokine, a neki od njih su IL-4, IL-5 i IL-13. Ti interleukini, zajedno sa mastocitima i eozinofilima, induciraju upalni odgovor na alergen u tkivima. IL-4 potiče ekspresiju molekule VCAM-1 na endotelu, koja služi privlačenju eozinofila i dodatnih T_H2 u tkiva, dok IL-5 služi aktivaciji eozinofila (Abbas i sur. 2018).

2.3. B stanice i IgE

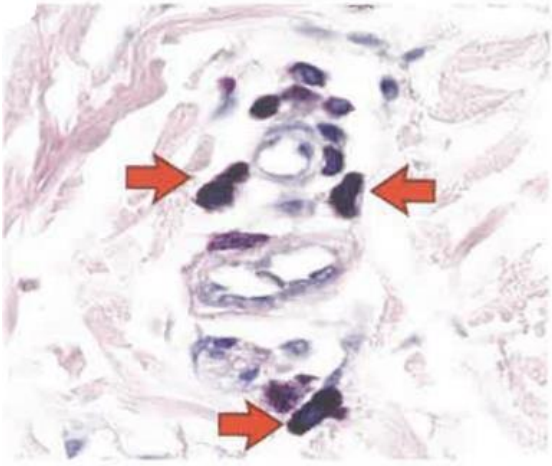
U folikulima limfnih organa T_{FH} stanice luče IL-4 i IL-13 čime potiču diferencijaciju B limfocita u plazma stanice specifične za antigen. Takve izvršne plazma stanice luče protutijela, s povećanim udjelom IgE u odnosu na zdrave osobe, zbog toga što T_{FH} potiče promjenu izotipa teškog lanca u IgE protutijela. Tako se kod ozbiljnijih alergija koncentracija IgE može povećati na 1000 μg/mL, u odnosu na manje od 1 μg/mL u krvi zdravih osoba (Abbas i sur. 2018).

Primarna uloga IgE protutijela u reakciji neposredne preosjetljivosti je njihovo vezivanje za Fc receptore na mastocitima u tkivu (Abbas i sur. 2018).

2.4. Mastociti

Mastociti alergičara obloženi su IgE protutijelima specifičnim za alergen (Slika 1) na koji je ta osoba alergična. Suprotno tome, kod zdravih osoba mastociti mogu biti obloženi IgE protutijelima specifičnima za širok spektar antigena, tako da nakon izlaganja određenom antigenu ne dolazi do reakcije rane preosjetljivosti jer za mastocite nije vezan dovoljan broj IgE protutijela specifičnih za upravo taj antigen (Abbas i sur. 2016).

Zreli mastociti distribuirani su po cijelome tijelu, uglavnom u blizini krvnih žila (Slika 4). Kod konzumiranja kravljeg mlijeka, ingestirani antigeni aktiviraju mastocite crijevne sluznice i podsluznice probavnog sustava. Medijatori koji se otpuštaju u tim mastocitima dovode do kliničkih očitovanja alergije (Abbas i sur. 2018).

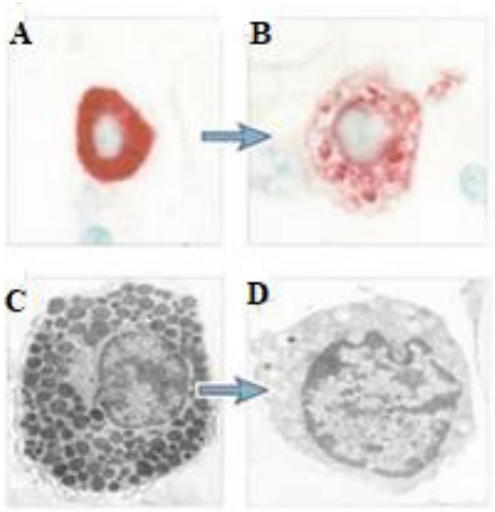


Slika 4. Mikroskopska slika mastocita obojenih prema Wright-Giemsi (preuzet je dio slike iz Abbas i sur. 2018).

IgE protutijela vežu se na visokoafinitetne Fc receptore eksprimirane na mastocitima. Zbog svoje specifičnosti za ε teške lance protutijela, ti receptori se nazivaju još i FcεRI receptori. Afinitet FcεRI za ε lanac protutijela znatno je veći od afiniteta ostalih Fc receptora za određeno protutijelo

(Abbas i sur. 2018). Konstanta disocijacije takvog vezivanja iznosi oko 10^{-11} M, dok se za koncentraciju IgE u plazmi smatra da iznosi približno 10^{-9} M. Posljedica tako visokog afiniteta je obloženost mastocita IgE protutijelima i u zdravih osoba (Abbas i sur. 2016).

Mastociti obloženi IgE nakon prvog kontakta s određenim alergenom nazivaju se senzibiliziranima, a sam proces oblaganja mastocita protutijelima naziva se senzibilizacija (Abbas i sur. 2016). Senzibilizirani mastociti se pri sljedećem kontaktu s antigenom aktiviraju, što dovodi do lučenja medijatora odgovornih za očitovanje alergijskih reakcija (Abbas i sur. 2018) (Slika 5).



Slika 5. Oslobađanje medijatora iz mastocita uslijed aktivacije IgE protutijela prethodno vezanih za FcεRI receptore mastocita**.** Prikaz **A** je svjetlosno-mikroskopska snimka mastocita u mirovanju, **B** prikazuje ispražnjene granule mastocita, a **C** i **D** prikazuju istu stvar snimljenu elektronskim mikroskopom (preuzet je i prilagođen dio slike iz Abbas i sur. 2018).

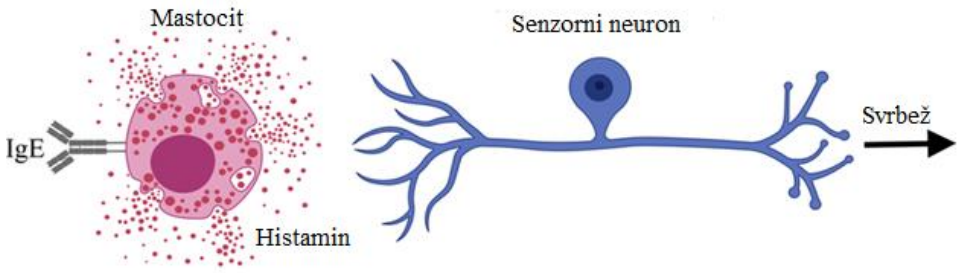
Medijatori koji se izlučuju uključuju tvari pohranjene u granulama koje se izlučuju neposredno nakon aktivacije prilikom ponovljenog izlaganja antigenu (degranulacija) te lipidne tvari i citokine do čije sinteze dolazi tek nakon aktivacije (Abbas i sur. 2018).

2.4.1. Medijatori u granulama mastocita

Biogeni amini te određeni enzimi i proteoglikani granula svrstavaju se u medijatore koji su stvoreni i pohranjeni u citoplazmatskim granulama unutar mastocita i prije njihove aktivacije (Abbas i sur. 2018).

Glavni biogeni amin u granulama čovjeka je **histamin**, koji je odgovoran za nastanak otekline i crvenila u reakciji neposredne preosjetljivosti. Njegovo vezanje za stanice endotela, koje eksprimiraju histaminske receptore, rezultira kontrakcijom endotelnih stanica, što uzrokuje povećanje prostora između stanica endotela, povećanja propusnosti krvnih žila te naposljetku i istjecanja plazme u tkivo. Istjecanje plazme očituje se u pojavi otekline na mjestu aktivacije mastocita. Osim što dovodi do njihove kontrakcije, histamin također potiče stanice endotela da sintetiziraju tvari koje uzrokuju relaksaciju glatkih mišića krvnih žila. Uslijed relaksacije mišića dolazi do povećanja promjera krvnih žila, odnosno vazodilatacije, što je uzrok crvenila. Histamin također pridonosi povećanju peristaltike i bronhospazma jer potiče kontrakciju glatkih mišića crijeva i bronha (Abbas i sur. 2018).

Na Slici 6. prikazan je mehanizam nastanka svrbeži vezanjem histamina na senzorne neurone za svrbež u koži (Yang i Kim 2019).



Slika 6. Uloga histamina u nastanku svrbeži (preuzeto i prilagođeno prema Yang & Kim 2019).

Enzimi i proteoglikani granula još su dvije skupine molekula koje se nalaze u sekrecijskim granulama mastocita. Najbrojnije enzime čine neutralne serinske proteaze, odnosno triptaze i kimaze. Njihovi biološki učinci, između ostalog, uključuju oštećenje tkiva u reakcijama neposredne preosjetljivosti (Slika 7). Najvažniji proteoglikani granula su heparin i hondroitin-sulfat. Oni pohranjuju biogene amine i proteaze čime štite ostatak stanice. Prilikom egzocitoze granula mastocita proteoglikani nadziru brzinu reakcije neposredne preosjetljivosti (Abbas i sur. 2018).

2.4.2. Lipidni medijatori

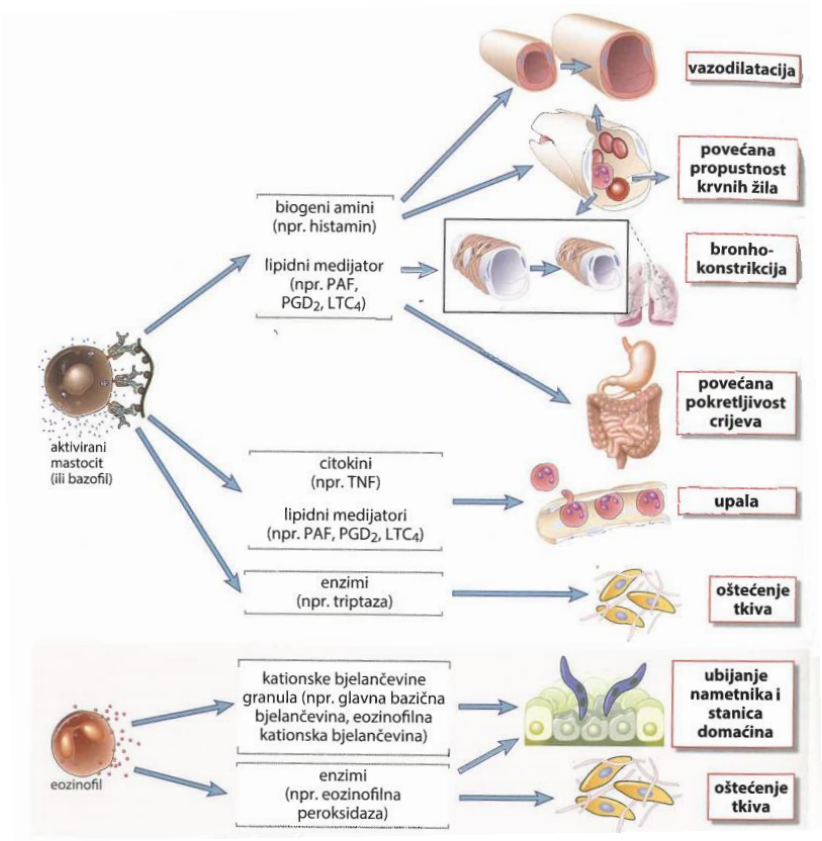
Iako ovaj tip medijatora, stvorenih nakon aktivacije mastocita, ima značajnu ulogu kod nekih alergijskih bolesti, primjerice astme, u kontekstu alergije na kravlje mlijeko nisu toliko dobro istraženi.

Poznato je da se povišena razina metabolita prostaglandina D (PGD_2) može koristiti kao pokazatelj alergija na hranu (Maeda i sur. 2017). Prostaglandin D najznačajniji je lipidni medijator mastocita, a zajedno s histaminom dovodi do bronhokonstrikcije i vazodilatacije (Abbas i sur. 2018).

2.4.3. Citokini

Citokini stvoreni u mastocitima, uz one izlučene iz T_H2, pridonose pojavi kasne faze alergijske reakcije, odnosno alergijskoj upali (Slika 7). Neki od citokina koji se izlučuju su TNF (tumor necrose factor), IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, CCL3 i CCL4 (Abbas i sur. 2018). Također, klinički je dokazana važnost IL-9 kao faktora rasta mastocita, posebice u alergijskim reakcijama na hranu. Izlučivanje IL-9 neophodno je za proliferaciju mastocita tijekom alergijske upale crijeva (Abdul Quayum 2019). Nedostatak ovog citokina dovela je do sprječavanja eksperimentalne alergije na hranu (Tordesillas i sur. 2017).

Transkripcija i sinteza ovih molekula imunosnog sustava potiče se aktivacijom mastocita, koja je već opisana prethodno.



Slika 7. Fiziološki učinci medijatora porijeklom od mastocita (ili bazofila) i eozinofila. Prikazani su biogeni amini i enzimi porijeklom iz preformiranih granula mastocita te lipidni medijatori i citokini stvoreni tek nakon mastocitne aktivacije. Eozinofilne kationske bjelančevine i enzimi odgovorni su za oštećenje tkiva i stanica domaćina u kroničnim alergijskim reakcijama (preuzeto iz Abbas i sur. 2018).

2.5. Bazofili

Kao i mastociti, i bazofili na svojoj površini eksprimiraju visokoafinitetni FcεRI receptor. To su granulociti iz krvi koji dijele brojne funkcionalne i strukturne sličnosti s mastocitima, s obzirom na to da mogu proizvesti većinu medijatora koji se stvaraju u mastocitima. Bazofili su najrjeđa skupina leukocita u cirkulaciji, s udjelom od oko 0,5% (Abbas i sur. 2018) (Tablica 2).

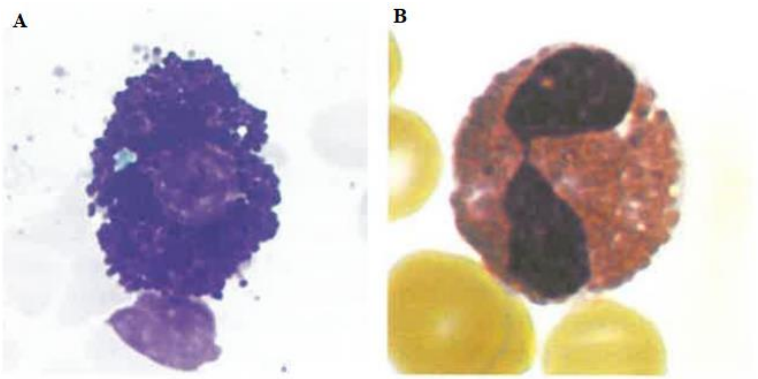
Iako uobičajeno nisu prisutni u tkivima, prilikom upalnih reakcija kasne faze dolazi do njihove infiltracije i nakupljanja u tkivima, zajedno sa ostalim upalnim leukocitima (Abbas i sur. 2018).

Granule bazofila vežu bazične boje što se odražava na obojenost cijele stanice, pa je tako cijela stanica, nakon bojenja hematoksilinom, ljubičasto-plava (Abbas i sur. 2018) (Slika 8A).

2.6. Eozinofili

Eozinofili su, uz mastocite i bazofile, treća skupina leukocita čije povećano prisutstvo u tkivima upućuje na upalnu reakciju. Njih je u cirkulaciji nešto više od bazofila, pa tako čine oko 2% svih leukocita u krvi (Abbas i sur. 2018) (Tablica 2).

Granule eozinofila sadrže brojne medijatore među kojima prevladavaju bazične bjelančevine, što dovodi do vezanja kisele boje (npr. eozina), čime citoplazma poprima karakteristično crveno obojenje (Slika 8B). Bjelančevine eozinofila sačinjavaju bjelančevine specifične za eozinofile, koje su posebno važne u obrani od helminata, glavna bazična bjelančevina i eozinofilna kationska bjelančevina. Iako im je glavna funkcija eliminacija helmintskih nametnika, ove bjelančevine toksično djeluju i na stanice domaćina. Osim bjelančevina, preformirane granule eozinofila sadrže i lizosomne hidrolaze. Poput mastocita i bazofila, i ovaj tip leukocita nakon aktivacije stvara lipidne medijatore i citokine. Lipidni medijatori uključuju PAF, prostaglandine i leukotriene LTC_4, LTD_4, LTE_4, a posljedica njihovog izlučivanja je razvoj brojnih patoloških procesa (Abbas i sur. 2018).



Slika 8. Mikroskopske slike: **A** - bazofila sa specifičnim ljubičasto-plavim obojenjem citoplazmatskih granula i **B** - eozinofila s crveno obojenim citoplazmatskim granulama (preuzeto i prilagođeno prema Abbas i sur. 2018).

Iako posjeduju FcεRI receptor na svojoj membrani, eozinofilnim receptorima čovjeka nedostaje jedna signalna sastavnica. Stoga nije jasno koliko efikasno može doći do degranulacije posredovane IgE protutijelima (Abbas i sur. 2018).

Medijatori mastocita, na mjestu alergijske reakcije, potiču epitelne stanice na stvaranje eozinofilnog kemoatraktanta, eotoksina. Osim o eotoksinu, za ulazak eozinofila u upalom zahvaćena tkiva odgovoran je i IL-5 koji se stvara u T_H2 stanicama i mastocitima (Abbas i sur. 2018). Navedeni interleukin bitan je za aktivaciju eozinofila i oslobađanje sadržaja granula. Nadalje, on produžuje preživljavanje eozinofila, povećava njihovu adheziju na endotelne stanice te pojačava njihovu izvršnu funkciju (Jo i sur. 2014).

Tablica 2. Usporedba osnovnih značajki mastocita, bazofila i eozinofila (preuzeto i prilagođeno prema Abbas i sur. 2018).

Značajke	**Mastociti**	**Bazofili**	**Eozinofili**
glavno mjesto sazrijevanja	vezivno tkivo	koštana srž	koštana srž
stanice u cirkulaciji	ne	da (0.5% leukocita u krvi)	da (oko 2% leukocita u krvi)
zrele stanice se iz cirkulacije novače u tkivo	ne	da	da
zrele stanice obitavaju u vezivnom tkivu	da	ne	da
sposobnost umnažanja zrelih stanica	da	ne	ne
životni vijek	tjedni do mjeseci	dani	dani do tjedni
glavni razvojni čimbenik (citokin)	čimbenik matičnih stanica, IL-3	IL-3	IL-5
izražaj receptora FcεRI	visoka razina	visoka razina	niska razina (funkcija nije jasna)
sastav glavnih granula	histamin, heparin i/ili hondroitin-sulfat, proteaze	histamin, hondroitin-sulfat, proteaze	glavna bazična bjelančevina, eozinofilna kationska bjelančevina, peroksidaze, hidrolaze, lizofosfolipaze

Eozinofilija u krvi je česta laboratorijska abnormalnost, a njeno očitovanje često predstavlja izazov za liječnike primarne zdravstvene zaštite (Magnaval i sur. 2017). Normalan broj eozinofila u perifernoj krvi kod zdravih ljudi je <500/μL, dok kod eozinofilije taj broj prelazi 500/μL (Bochner 2018). Iako uzroci povećanog broja eozinofila mogu biti raznoliki, alergijske reakcije su najčešći uzrok, obuhvaćajući približno 80% slučajeva (Montgomery i sur. 2013). Tako snažna korelacija između eozinofilije i alergijskih bolesti trebala bi se uzeti u obzir prilikom tumačenja krvnog nalaza koji upućuje na eozinofiliju.

3. Kravlje mlijeko i njegov proteinski sastav

Kravlje mlijeko (CM, cow's milk) proizvod je mliječnih žlijezda goveda (*Bos domesticus*). Proteini kravljeg mlijeka (CMP, cow's milk proteins) vrlo su često među prvim stranim proteinima u prehrani novorođenčeta koji nisu dojeni, budući da se nalaze u sastavu raznih formula. Kravlje mlijeko izvor je vitamina i minerala (kalcij, vitamini A i B6), koji su potrebni za pravilan rast i razvoj male djece, a izrazito su bitni i za razvoj kostiju, kose, kože i zubiju (Bartuzi i sur. 2017).

CMP je karakteristična skupina vrlo otpornih alergena koji preživljavaju u surovom okruženju gastrointestinalnog trakta, izazivaju senzibilizaciju i sistemsku reakciju (Bartuzi i sur. 2017).

Pretjerana osjetljivost na određeni protein kravljeg mlijeka značajno varira između zemalja i dobi ispitanika. Ipak, većina oboljelih iskazuje preosjetljivost na nekoliko proteina unutar skupine kazeina i whey proteina. Najznačajnijim alergenima pokazali su se kazeini, α -laktalbumin i β -laktoglobulin, a istraživanja su pokazala da preko 50% atopičara u cirkulaciji ima IgE protutijela usmjerena protiv tih alergena (Bartuzi i sur. 2017).

Ispitivanja su pokazala da većina oboljelih s blagom alergijom na hranu razvija toleranciju na kravlje mlijeko uslijed njenog intenzivnog zagrijavanja pri pripremi raznih pečenih proizvoda, primjerice muffina. S obzirom na to, djeca s blagom alergijom na kravlje mlijeko mogu uključiti u svoju prehranu pečene proizvode s kravljim mlijekom. Također, takvo uvođenje kravljeg mlijeka u prehranu može ubrzati toleranciju na mlijeko u izvornom, neobrađenom obliku. Reakcija preosjetljivosti na mlijeko u sastavu pečenih proizvoda dobra je indikacija težeg i trajnijeg oblika alergije (Bartuzi i sur. 2017).

3.1. Whey proteini

Skupina whey proteina čini 20% proteina kravljeg mlijeka. Kod alergičara, najčešću reakciju izazivaju α-laktalbumin (Bos d 4) i β-laktoglobulin (Bos d 5), koji čine 50% i 25% ukupnih whey proteina (Villa i sur. 2018).

3.1.1. α-Laktalbumin (Bos d 4)

Alfa-laktalbumin je mali, monomerni protein od 14,19 kDa. Strukturu stabiliziraju četiri disulfidna mosta, a bitna uloga ovog proteina je vezanje Ca^{2+} (Linhart i sur. 2019).

Goveđi i ljudski alfa-laktalbumin pokazuju značajnu sličnost, tako da je u aminokiselinskim sekvencama utvrđena sličnost od oko 70% (Linhart i sur. 2019).

3.1.2. β-Laktoglobulin (Bos d 5)

Beta-laktoglobulin mali je protein od 18,3 kDa. U strukturi se ističu dva disulfidna mosta i jedan slobodan cistein. Disulfidni mostovi odgovorni su za otpornost na proteolitičko cijepanje, dok slobodan cistein može biti uzrokom dimerizacije laktoglobulina (Linhart i sur. 2019).

Velika otpornost proteina kravljeg mlijeka na razgradnju prilikom probave već je ranije spomenuta, a jedan od dokaza koji potvrđuju tu činjenicu je i moguća prisutnost beta-laktoglobulina u majčinom mlijeku, koje ga prirodno ne sadrži. U takvim slučajevima, majčino mlijekom koje sadrži beta-laktoglobulin može izazvati simptome alergije kod novorođenčadi alergičnih na kravlje mlijeko (Linhart i sur. 2019).

3.1.3. Serum albumin (Bos d 6)

Na goveđi serum albumin otpada samo 5% ukupnih whey proteina, no ovaj protein, prilikom konzumiranja kravljeg mlijeka, prepoznaje oko 50% alergičara. Kao što je to slučaj kod alfa-laktalbumina, i serum-albumin pokazuje visoku razinu homologije s ljudskom varijantom ovog proteina (Linhart i sur. 2019).

Postoje pokazatelji da kuhanje uništava alergena svojstva serum albumina (Linhart i sur. 2019).

3.1.4. Imunoglobulin (Bos d 7)

Još nije utvrđena važnost imunoglobulina G (IgG) kravljeg mlijeka kod alergija na kravlje mlijeko, a broj alergičara čiji imunosni sustav prepoznaje ovaj protein varira između 10 i 40% (Linhart i sur. 2019).

Moguće je da ugljikohidratni epitopi IgG molekule predstavljaju epitope za IgE protutijela. Ipak, tek treba utvrditi ulogu i klinički značaj ugljikohidratnih epitopa na IgG (Linhart i sur. 2019).

3.1.5. Laktoferin (Bos d LF)

Laktoferin je glikoprotein koji pripada obitelji proteina transferina. Ima mogućnost vezanja željeza, čime ga uskraćuje mikroorganizmima te djeluje kao prirodni antimikrobni protein kravljeg mlijeka (Linhart i sur. 2019).

Iako je u serumu osoba alergičnih na kravlje mlijeko utvrđeno postojanje IgE protutijela usmjerenih prema laktoferinu, kao i u slučaju imunoglobulina G, klinički značaj laktoferina u alergijskim reakcijama još nije poznat (Linhart i sur. 2019).

3.2. Kazeini (Bos d 8)

Kazeini su značajna proteinska frakcija kravljeg mlijeka na koju otpada oko 80% ukupnih proteina, a njihova veličina varira između 19 i 25,2 kDa. Najznačajniji kazeini su: α_{S1} – (Bos d 9), α_{S2} – (Bod s 10), β- (Bos d 11) i κ- (Bos d 12) kazein, s udjelima od 40%, 12,5%, 35% i 12.5% (Villa i sur. 2018).

Ova velika skupina proteina pripada obitelji sekretornih fosfoproteina koji imaju sposobnost vezanja kalcija. Imaju labavu tercijarnu, visoko hidriranu strukturu te fosfatnu skupinu koja veže katione, primjerice kalcij. To dovodi do neutralizacije i otapanja α_{S1}-, α_{S2}-, i β-kazeina pri koncentraciji kalcija od >6 mM i pri temperaturi od 30 °C. Sposobnost vezanja kalcija dovodi do formacije kazeinskih micela u mlijeku (Villa i sur. 2018).

Proteini iz skupine kazeina lako se razlažu proteolitičkim enzimima tijekom probave, dok su na povišenje temperature, za razliku od whey proteina, otporni (Villa i sur. 2018).

4. Dijagnostika alergije na kravlje mlijeko

Dijagnostika alergije na kravlje mlijeko, posredovane IgE protutijelima, započinje uvidom u kliničku povijest pacijenta nakon čega, u najvećem broju slučajeva, slijede kožni test ubodom te test razine specifičnih IgE u serumu. Ukoliko pacijent ima dvosmislenu povijest bolesti i navedeni testovi su negativni, ili ako se pozitivni testovi ne poklapaju sa povijesti bolesti, primjenjuje se provokacijski test koji bi trebao odrediti dijagnostički ishod (Luyt i sur. 2014).

4.1. Kožni test ubodom

Kožni test ubodom lancetom je često korištena dijagnostička metoda za dokazivanje preosjetljivosti na alergene (Slika 9). Test je lagan za izvođenje, jeftin, a rezultati su brzo vidljivi (Luyt i sur. 2014).

Kada na mjestu uboda nastane oteklina 3 mm većeg promjera od kontrole, test se smatra pozitivnim. Pojavljivanje otekline većeg omjera ne ukazuje na klinički teži oblik alergije, već na veću vjerojatnost da osoba reagira na alergene iz mlijeka. Ipak, dođe li do pojavljivanja otekline ≥8 mm, test se u 100% slučajeva može proglasiti pozitivnim te u takvim slučajevima nema potrebe za provokacijskim testom (Luyt i sur. 2014).

Uspoređujući ekstrakte svježeg kravljeg mlijeka s pročišćenim α-laktalbuminom, β-laktoglobulinom i kazeinom, potvrđeno je da je svježe kravlje mlijeko najosjetljiviji reagens prilikom izvođenja ovoga testa (Linhart i sur. 2019).

Ovaj način testiranja na kravlje mlijeko najčešće se izvodi na otvorenoj strani podlaktice (Slika 9).



Slika 9. Prikaz tijeka testiranja na alergije kožnim testom ubodom na unutarnjoj strani podlaktice (preuzeto i prilagođeno prema https://www.informedhealth.org/what-kinds-of-allergy-tests-are-there.html).

4.2. Test razine specifičnih IgE u serumu

Sljedeći korak u dijagnostici alergije na kravlje mlijeko je kvantitativno određivanje specifičnih IgE protutijela u serumu pacijenta (Benhamou i sur. 2009).

Postoji korelacija između povećane koncentracije IgE protutijela u serumu i kliničke reaktivnosti na kravlje mlijeko, iako postoje slučajevima u kojima kod osoba s pozitivnim testom nije uočena klinička reaktivnost na mlijeko (Luyt i sur. 2014).

Iako je osjetljivost ovog testa vrlo velika, kod određenog broja pacijenata koji u povijesti bolesti imaju reakciju preosjetljivosti na mlijeko, može doći do negativnog rezultata testa uslijed nedovoljnog broja specifičnih IgE protutijela u serumu. U takvim slučajevima, u kojima je sumnja na alergiju jako velika, nužno je napraviti provokacijski test (Benhamou i sur. 2009).

Test razine specifičnih IgE u serumu je in vitro test koji se provodi na uzorcima seruma pacijenata, a nedavno je predloženo i kvantitativno određivanje broja protutijela iz sline ispitanika,

upravo zbog težeg uzimanja uzoraka krvi kod male djece. Nedostatak toga pristupa je manja koncentracija IgE protutijela u slini i ostalim tjelesnim izlučevinama u odnosu na koncentraciju u krvi (Linhart i sur. 2019).

4.3. Provokacijski test

Provokacijski test preporuča se kao zlatni standard za potvrdu alergije na kravlje mlijeko. Također, njime se utvrđuje granična doza alergena kod pojedinca, a korisna je i za procjenu stupnja razvijene tolerancije (Linhart i sur. 2019).

Tijekom trajanja testa, pacijent progresivno unosi sve veću količinu kravljeg mlijeka u organizam. Postupak se prekida kada se pojave prvi simptomi alergije, čime se test proglašava pozitivnim. Negativan ishod testa proglašava se nakon što je unesena značajna količina mlijeka, a simptomi alergije nisu uočeni. Treba imati na umu da prilikom izvođenja ovog testa postoji opasnost od anafilaksije, stoga ga je potrebno izvoditi pod strogim medicinskim nadzorom (Benhamou i sur. 2009).

Mlijeko se, u okviru provokacijskog testa, daje pacijentu u svježem ili pečenom obliku. S obzirom na to da je mlijeko u sastavu pečenih proizvoda manje alergeno, s njime se može započeti testiranje jer je manja vjerojatnost pozitivnog ishoda te je samim time i manje vjerojatno da će reakcija biti teška (Luyt i sur. 2014).

5. Alternativna mlijeka (napitci) u prehrani alergičara

Kravlje mlijeko uvjerljivo je najraširenije mlijeko u ljudskoj prehrani zbog svoje lake dostupnosti, velikih proizvodnih volumena, ali i svoje nutritivne vrijednosti. S druge strane, mlijeka porijeklom od drugih životinjskih vrsta od iznimne su važnosti u prehrani zemalja u razvoju te na područjima gdje klima nije odgovarajuća za uzgoj goveda (Roy i sur. 2020).

U novije vrijeme, s povećanjem incidencije alergije na kravlje mlijeko, ali i intolerancije, sve veći broj roditelja primoran je u prehranu svoje djece uvesti zamjenu za kravlje mlijeko. Kao alternativa kravljem mlijeku nameću se mlijeka drugih sisavaca, ali i razni napitci biljnog porijekla (Verduci i sur. 2019).

Nadalje, prije uvođenja nove namirnice u prehranu, u slučaju atopičara, vrlo je bitno promotriti proteinski sastav mlijeka od interesa kako ne bi došlo do križne (unakrsne) reaktivnosti. Do križne reaktivnosti između alergena mlijeka porijeklom od različitih životinjskih vrsta i ljudskog imunološkog sustava dolazi kada alergeni dijele dio svoje aminokiselinske sekvence i/ili kada, zbog svoje molekularne strukture, imaju sličnu sposobnost vezanja specifičnih protutijela (El-Agamy 2007).

Ovo poglavlje dati će kratak pregled nekoliko komercijalno najdostupnijih alternativnih mlijeka i napitaka u prehrani alergičara, kako životinjskog tako i biljnog porijekla.

5.1. Zamjena životinjskog porijekla

Prilikom odabira zamjene za kravlje mlijeko, najpoželjnije je da alternativno mlijeko, neke druge životinjske vrste, bude sastavom što sličnije ljudskom mlijeku. Pritom su bitne odlike ljudskog mlijeka malen omjer kazeina i whey proteina, velik omjer β-kazeina i αs-kazeina te odsutnost β-laktoglobulina. S obzirom na to da je β-laktoglobulin jedan od značajnijih alergena, poželjna je njegova odsutnost u zamjenskom mlijeku (Roy i sur. 2020). Iako će se u ovom radu, u kontekstu mliječnih zamjena životinjskog porijekla, pozornost dati samo kozjem mlijeku, detaljniji pregled proteinskog sastava mlijeka još nekih sisavaca nalazi se u Tablici 3.

5.1.1. Kozje mlijeko

U usporedbi s kravljim mlijeko, kozje mlijeko ima niži udio kazeina u odnosu na whey proteine, kao i veći udio β-kazeina u odnosu αs-kazein. Ipak, u odnosu na ljudsko mlijeko, omjer kazeina i whey proteina je i dalje izrazito velik (Roy i sur. 2020) (Tablica 3).

Jedna odlika β-kazeina je da je osjetljiviji na razgradnju pepsinom od αs-kazeina, što dovodi do toga da je kozje mlijeko, kao i ljudsko, lakše probavljivo od kravljeg mlijeka (El-Agamy 2007).

Istraživanje napravljeno na 12 ljudi alergičnih na kravlje mlijeko pokazalo je da je samo 25% ispitanika imalo toleranciju na kozje mlijeko i negativan imunološki test na štetne nuspojave, što je posljedica križne reaktivnosti proteina kravljeg i kozjeg mlijeka. Također, postoje dokazi preosjetljivosti na proteine kozjeg mlijeka kod pacijenata koji ne iskazuju preosjetljivost na kravlje mlijeko (Roy i sur. 2020).

S obzirom na neuvjerljive rezultate istraživanja dobivenih uvođenjem kozjeg mlijeka u prehranu alergičara na kravlje mlijeko, vidljiv je nedostatak osnova za promicanjem uvođenja ovog mlijeka u prehranu navedenih osoba (Roy i sur. 2020).

Tablica 3. Proteinski sastav mlijeka odabranih preživača i nepreživača te njegova usporedba s proteinskim sastavom mlijeka čovjeka. Vrijednosti su izražene u g/L (preuzeto i prilagođeno prema Roy i sur. 2020).

Proteinska frakcija	**Preživači**						**Nepreživači**		**Čovjek**
	Krava	**Bivol**	**Koza**	**Ovca**	**Crveni jelen**	**Deva**	**Konj**	**Magarac**	
Ukupni kazein	24,6-28	32-40	23,3-46,3	41,8-52,6∞	~57-84	22,1-26,0	9,4-13,6	6,4-10,3	2,4-4,2
Ukupne whey bjelančevine	5,5-7,0	6	3,7-7,0	10,2-16,1∞	~11-15	5,9-8,1	7,4-9,1	4,9-8,0	6,2-8,3
Omjer kazeina i whey proteina	82:18	82:18	78:22	76:24	~82:20-85:15	73:27-76:24	52:48	56:44	29:71-33:67
Glavni kazeini									
αS1-kazein	8-10,7	8,9	0-13,0	2,4∞-22,1	-	4,9-5,7	2,4	Prisutno	0,77
αS2-kazein	2,8-3,4	5,1	2,3-11,6	6,0∞	-	2,1-2,5	0,2	Prisutno	Odsutno
β-kazein	8,6-9,3	12,6-20,9	0-29,6	15,6-39,6∞	-	14,4-16,9	10,66	Prisutno	3,87
κ-kazein	2,3-3,3	4,1-5,4	2,8-13,4	3,2-12,23∞	-	0,8-0,9	0,24	Prisutno	0,14
Glavni whey proteini									
β-laktoglobulin	3,2-3,3	3,9	1,5-5,0	6,5-13,5∞	-	Odsutno	2,55	3,3	Odsutno
α-laktalbumin	1,2-1,3	1,4	0,7-2,3	1-1,9	-	0,8-3,5	2,37	1,9	1,9-3,4

5.2. Zamjene biljnog porijekla

Zamjenski napitci biljnoga porijekla dobivaju se ekstrakcijom biljnog materijala, kao što je soja, badem, riža, zob i kokos (Singhal i sur. 2017) (Tablica 4). Rezultat je emulzija koja podsjeća na kravlje mlijeko. Ovakve tekućine na biljnoj bazi nazivaju se pićima, napitcima, mliječnim alternativama, ili bilo kojim drugim imenom koje u nazivu ne sadrži riječ „mlijeko“ (Reyes-Jurado i sur. 2021), jer takvi napitci nisu dobiveni mužnjom.

Napitci biljnog porijekla nutritivno nisu ekvivalentni kravljem mlijeku te ih se u proizvodnji obogaćuje nutrijentima poput kalcija, vitamina D i B12. No, iako su obogaćeni nutrijentima, ti nutrijenti ne apsorbiraju se uvijek jednako kao oni prirodno prisutni u hrani zbog varijabilne bioraspoloživosti. Upravo zbog bioraspoloživosti, dodavanje kalcija i/ili D vitamina u biljne napitke ne osigurava nutritivne vrijednosti ekvivalentne kravljem mlijeku koji u svome sastavu prirodno ima sličan udio kalcija i/ili vitamina D (Reyes-Jurado i sur. 2021).

5.2.1. Napitak od soje

Napitak od soje u prošlosti je bio prvi izvor nutrijenata za populacije koje nisu imale pristup kravljem mlijeku (Verduci i sur. 2019).

Deficit kalcija i vitamina B12 u ovim napitcima zahtjeva njihov dodatak prilikom proizvodnje. Prednosti konzumiranja napitaka na bazi soje su odsutnost laktoze i kolesterola, velika nutritivna vrijednost, veća kvaliteta proteina u odnosu na druge napitke te velika probavljivost. U sastavu se ističu izoflavoni, fitosteroli koji su odgovorni za pozitivne učinke soje protiv raka, kardiovaskularnih bolesti i osteoporoze (Verduci i sur. 2019).

Iako se soja svrstava u osam glavnih namirnica koje najčešće izazivaju alergijske reakcije, incidencija alergije na soju je manja od očekivanog. Ipak, alergiju na soju uglavnom iskazuju pacijenti primarno alergični na neke druge alergene, poput kravljeg mlijeka, zbog unakrsnog prepoznavanja zajedničkih epitopa. Naime, dokazano je da prilikom konzumacije napitaka na bazi soje, u organizmu osoba alergičnih na kravlje mlijeko, dolazi do unakrsne reaktivnosti između jednog od glavnih sojinih alergena (P34) i kazeina u sastavu kravljeg mlijeka (Candreva i sur. 2014).

5.2.2. Napitak od badema

Ukoliko se uvodi u prehranu kao potpuna zamjena za kravlje mlijeko, napitak od badema također zahtjeva dodatak određenih mikronutrijenata (Verduci i sur. 2019), kao i u slučaju napitaka na bazi soje.

Od mikronutrijenata nađenih u bademima, pa tako i napitcima na njegovoj bazi, posebno je bitno istaknuti vitamin E, za ljude vrlo bitan i koristan antioksidans. Moć snižavanja kolesterola i potencijalne prebiotičke značajke (Verduci i sur. 2019) još su neke pozitivne značajke koje bi se trebale uzeti u obzir prilikom odabira alternative kravljem mlijeku.

Unatoč brojnim pozitivnim značajkama, bademi su, kao i soja, značajni alergeni koji predstavljaju prehrambeni problem velikom broju ljudi. Isto tako, orašasti plodovi svrstavaju se među namirnice koje s najvećom učestalošću dovode do razvitka teških oblika anafilaksije (Reyes-Jurado i sur. 2021).

5.2.3. Napitak od zobi

Uz standardnu potrebu za dodatkom kalcija, odlike napitaka od zobi su prisutnost vlakana, fitokemikalija (antioksidansi i polifenoli) te njegova visoka nutritivna razina. Od topivih vlakana ističe se beta-glukan te njegova sposobnost povećanja viskoznosti otopine, što posljedično dovodi do povećanja vremena prolaska kroz gastrointestinalni trakt i smanjenja razine glukoze i kolesterola u krvi (Verduci i sur. 2019).

Negativnom karakteristikom zobi kao namirnice smatra se prisutnost fitinske kiseline, antinutrijenta koji ometa unos nekih hranjivih tvari (Verduci i sur. 2019).

5.2.4. Napitak od riže

Riža je uvijek bila prehrambena namirnica koja obiluje ugljikohidratima (Tablica 4) tako da napitci na bazi riže sadrže više šećera od kravljeg mlijeka (Vanga i Raghavan 2018). U odnosu na ostale napitke na biljnoj bazi, rižin ima najniži udio masti i proteina. Vrijednosti nekih mikronutrijenata poput kalcija, magnezija i željeza približne su vrijednostima u kravljem mlijeku,

dok je količina vitamina A i E na 100 grama napitka veća u odnosu na kravlje mlijeko (Verduci i sur. 2019).

S negativne strane, u napitcima od riže nađene su povišene razine arsena, zbog čega se ne preporuča njihovo davanje vrlo maloj djeci (Verduci i sur. 2019).

Tablica 4. Usporedba nutritivnih vrijednosti između kravljeg mlijeka i odabranih napitaka na biljnoj osnovi prije obogaćivanja nutrijentima (npr. kalcijem). Vrijednosti su izražene na 100 g napitka (preuzeto i prilagođeno prema Verduci i sur. 2019).

	Punomasno kravlje mlijeko (FAO/IEO)	**Napitak od soje (IEO)**	**Napitak od kokosa (IEO)**	**Napitak od badema (IEO)**	**Napitak od riže (USDA)**
Energija, kcal	62	32	236	56	47
Ukupne bjelančevine (g)	3,3	2,9	2,3	1,3	0,28
Ukupne masnoće (g)	3,3	1,9	23,8	3,3	0,97
Kolesterol (mg)	11	0	0	0	0
Dostupni ugljikohidrati (g)	4,7	0,8	3,3	5,5	9,17
Ukupna vlakna (g)	0	0	2,2	0,8	0,3
Voda (g)	87,8	89,7	67,6	89,2	89,28
Masne kiseline					
Ukupne zasićene (g)	2,11	0,21	21,14	0,28	0
Laurinska kiselina (g)	0,11		10,58	0	
Miristinska kiselina (g)	0,37		4,18	0	
Palmitinska kiselina (g)	0,92		2,02	0,21	
Stearinska kiselina (g)	0,39		1,23	0,06	
Ukupne mononezasićene (g)	1,1	0,33	1,01	2,37	0,625
Oleinska kiselina (g)	0,93	0,32	1,01	2,34	
Ukupne polinezasićene (g)	0,12	0,83	0,26	0,65	0,313
Linolna kiselina (g)	0,07	0,73	0,26	0,63	
Linolenska kiselina (g)	0,05	0,1	0	0,02	
Mikronutrijenti					
Kalcij (mg)	112	13	16	14	118
Natrij (mg)	42	32	15	1	39
Kalij (mg)	145	120	263	47	27
Magnezij (mg)	11		37	16	11
Željezo (mg)	0,1	0,4	1,6	0,2	0,2
Cink (mg)	0,4	0,2	0,67	0,16	0,13
Vitamin A (µg)	37	1	0	0	63
β-karoten (µg)	16		0	0	
Ukupni folati (µg)	8,5	19	16	3	2
Vitamin B12 (µg)	0,5		0	0	0,63
Vitamin B6 (µg)	0,04	0,07	0,03	0,1	0,04

*Objašnjenje kratica: FAO - Food and Agriculture Organisation of the United Nations, IEO - European Institute of Oncology, USDA - U.S. Department of Agriculture

6. Zaključak

Pregledom znanstvenih članaka koji se bave tematikom alergija i različitih imunoloških i biokemijskih mehanizama kojima do njih dolazi, može se uvidjeti povećano zanimanje znanstvenika za ovo polje imunologije, a sve uslijed sve veće pojavnosti alergija na hranu u svjetskoj populaciji. Unatoč tome što je trend alergija na hranu, pa tako i kravlje mlijeko, u stalnom porastu, broj alergičnih ljudi vjerojatno će se uvijek smatrati većim nego što zapravo je, upravo zbog pojedinih sličnosti s intolerancijom na mlijeko i ljudske sklonosti samodijagnosticiranju. Nepotrebno izbacivanje kravljeg mlijeka iz prehrane, pogotovo u mlađoj dobi, mogao bi predstavljati sve veći nutritivni problem prilikom razvoja djeteta, ukoliko se drugim prehrambenim namirnicama u organizam ne unose potrebni nutrijenti. Mehanizam preosjetljivosti na kravlje mlijeko i hranu općenito je dobro istražen, uz manjkavosti prvenstveno u vidu uloge pojedinih citokina i ostalih medijatora. U posljednjih dvadesetak godina vidljiv je pojačan interes imunologa za otkrivanjem proteinskih antigena s mogućnošću križne reakcije s proteinima kravljeg mlijeka, čime je znanost u koraku s industrijalizacijom koja nas svakodnevno izlaže sve većem broju antigena. Na kraju, treba imati na umu i da je sam proces testiranja na alergiju može biti bolno i neugodno iskustvo, pogotovo za djecu, s obzirom na to da je cilj izazvati neugodne simptome alergije.

Odabir zamjenskog mlijeka, odnosno napitka, nipošto se ne bi trebao shvaćati olako, imajući na umu da je znanstveno dokazan značajan broj križnih reakcija, kako s antigenima životinjskog, tako i biljnog porijekla. Stoga, a i zbog uglavnom ujednačenog proteinskog sastava mlijeka sisavaca, mliječna zamjena trebala bi se u prehranu alergične osobe uvoditi postepeno, obraćajući pažnju na moguće nepoželjne nuspojave.

7. Literatura

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2016). Osnovna imunologija: funkcije i poremećaji imunskog sistema. 5. izd. Beograd: DATASTATUS.

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2018). Stanična i molekularna imunologija. 8. izd. Zagreb: Medicinska naklada.

Bartuzi, Z., Cocco, R. R., Muraro, A., & Nowak-Węgrzyn, A. (2017). Contribution of Molecular Allergen Analysis in Diagnosis of Milk Allergy. *Current Allergy and Asthma Reports* 17(7). Current Medicine Group LLC 1.

Benhamou, A. H., Schappi Tempia, M. G., Belli, D. C., & Eigenmann, P. (2009). An overview of cow's milk allergy in children. *Swiss medical weekly* 139(21-22), 300-307.

Bochner, B. S. (2018). The eosinophil: For better or worse, in sickness and in health. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology* 121(2), 150–155. American College of Allergy, Asthma and Immunology.

Candreva, A. M., Smaldini, P. L., Curciarello, R., Cauerhff, A., Fossati, C. A., Docena, G. H., & Petruccelli, S. (2014). Cross-reactivity between the soybean protein P34 and bovine caseins. *Allergy, Asthma and Immunology Research* 7(1), 60–68.

El-Agamy, E. I. (2007). The challenge of cow milk protein allergy. *Small Ruminant Research 68*(1–2), 64–72.

Infante, P. D., Tormo, C. R., Conde, Z. M. (2003). Use of goat's milk in patients with cow's milk allergy. An Pediatr 9, 138–42.

Jo, J., Garssen, J., Knippels, L., & Sandalova, E. (2014). Role of cellular immunity in cow's milk allergy: Pathogenesis, tolerance induction, and beyond. *Mediators of Inflammation, 2014*.

Linhart, B., Freidl, R., Elisyutina, O., Khaitov, M., Karaulov, A., & Valenta, R. (2019). Molecular approaches for diagnosis, therapy and prevention of Cow´s milk allergy. *Nutrients* 11(7). MDPI AG.

Luyt, D., Ball, H., Makwana, N., Green, M. R., Bravin, K., Nasser, S. M., & Clark, A. T. (2014). BSACI guideline for the diagnosis and management of cow's milk allergy. *Clinical and Experimental Allergy* 44(5), 642–672. Blackwell Publishing Ltd.

Maeda, S., Nakamura, T., Harada, H., Tachibana, Y., Aritake, K., Shimosawa, T., Yatomi, Y., & Murata, T. (2017). Prostaglandin D2 metabolite in urine is an index of food allergy. *Scientific Reports* 7(1).

Magnaval, J. F., Laurent, G., Gaudré, N., Fillaux, J., & Berry, A. (2017). A diagnostic protocol designed for determining allergic causes in patients with blood eosinophilia. *Military Medical Research* 4(1).

Montgomery, N. D., Dunphy, C. H., Mooberry, M., Laramore, A., Foster, M. C., Park, S. I., & Fedoriw, Y. D. (2013). Diagnostic complexities of eosinophilia. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 137(2), 259–269.

Qayum, A. A., Koh, B., Martin, R. K., Kenworthy, B. T., Kharwadkar, R., Fu, Y., Wu, W., Conrad, D. H., & Kaplan, M. H. (2019). The Il9 CNS-25 Regulatory Element Controls Mast Cell and Basophil IL-9 Production . *The Journal of Immunology 203*(5), 1111–1121.

Reyes-Jurado, F., Soto-Reyes, N., Dávila-Rodríguez, M., Lorenzo-Leal, A. C., Jiménez-Munguía, M. T., Mani-López, E., & López-Malo, A. (2021). Plant-Based Milk Alternatives: Types, Processes, Benefits, and Characteristics. *Food Reviews International*. Bellwether Publishing, Ltd.

Roy, D., Ye, A., Moughan, P. J., & Singh, H. (2020). Composition, Structure, and Digestive Dynamics of Milk From Different Species—A Review. *Frontiers in Nutrition* 7. Frontiers Media S.A.

Singhal, S., Baker, R. D., & Baker, S. S. (2017). A Comparison of the Nutritional Value of Cow's Milk and Nondairy Beverages. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 64(5), 799–805.

Tordesillas, L., Berin, M. C., & Sampson, H. A. (2017). Immunology of Food Allergy. *Immunity* 47(1), 32–50. Cell Press.

Vanga, S. K., & Raghavan, V. (2018). How well do plant based alternatives fare nutritionally compared to cow's milk? *Journal of Food Science and Technology* 55(1), 10–20. Springer India.

Verduci, E., D'elios, S., Cerrato, L., Comberiati, P., Calvani, M., Palazzo, S., Martelli, A., Landi, M., Trikamjee, T., & Peroni, D. G. (2019). Cow's milk substitutes for children: Nutritional aspects of milk from different mammalian species, special formula and plant-based beverages. *Nutrients* 11(8). MDPI AG.

Villa, C., Costa, J., Oliveira, M. B. P. P., & Mafra, I. (2018). Bovine Milk Allergens: A Comprehensive Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17(1), 137–164. Blackwell Publishing Inc.

Yang, T. L. B., & Kim, B. S. (2019). Pruritus in allergy and immunology. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 144(2), 353–360. Mosby Inc.

8. Životopis

Rođena sam 16.4.2000. u gradu Zagrebu. Osnovnoškolsko obrazovanje završavam u Osnovnoj školi Eugena Kumičića u Velikoj Gorici, gdje već tada sudjelujem u organizaciji Noći znanosti. Prvu gimnaziju Zagreb upisujem 2015., a po njenom završetku 2019. upisujem Prirodoslovno-matematički fakultet u Zagrebu, smjer Biologija. U sklopu fakultetskog obrazovanja, na 3. godini preddiplomskog studija odrađujem laboratorijsku stručnu praksu na Zavodu za molekularnu biologiju, Instituta Ruđer Bošković. Povremeno volontiram u Zakladi Marin Čilić, gdje pomažem u organizaciji događanja kojima se prikupljaju sredstva za stipendije mladih sportaša i glazbenika.