

A gyermekkori tehéntejfehérje-allergia által okozott komplex
élettani és pszichológiai változások hátterének feltérképezése

Doktori (Ph.D.) értekezés

Lendvai-Emmert Dominika

Pécsi Tudományegyetem Egészségtudományi Kar

Egészségtudományi Doktori Iskola

Pécs, 2024

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI KAR
EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

Doktori Iskola vezető: Prof. Dr. Bódis József

Programvezető: Prof. Dr. Sulyok Endre

Témavezető: Dr. Tóth Gergely Péter

A gyermekkori tehéntejfehérje-allergia által okozott komplex élettani
és pszichológiai változások hátterének feltérképezése

Doktori (Ph.D.) értekezés

Lendvai-Emmert Dominika



Pécs, 2024

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	3
Definíciók	5
1. Bevezetés	6
2. Problémafelvetés	8
3. A vizsgálat célja, hipotézisek.....	9
3.1 Kutatásunk célja	9
3.2 Specifikus cél 1	10
3.3 Specifikus cél 2	10
3.4 Hipotézisek	10
4. Szakirodalmi áttekintés	11
4.1 Táplálékallergiák gyermekkorban.....	11
4.1.1 Bevezetés a gyermekkorban leggyakrabban előforduló táplálékallergiákba	11
4.1.2 A táplálékallergén okozta tünetek	11
4.1.3 Leggyakoribb ételallergiák gyermekkorban.....	14
4.1.4 Diagnosztikai módszerek.....	17
4.1.5 Kezelési lehetőségek.....	19
4.1.6 A gyermekkorban előforduló táplálékallergiák összegzése	22
4.2 A gyermekkori tehéntejfehérje-allergia immunológiai háttere és terápiás lehetőségei.....	23
4.2.1 Bevezetés a TFA immunológiai hátterébe.....	23
4.2.2 A tehéntejfehérje-allergia osztályozása és klinikai tünetei.....	24
4.2.3 A tehéntej allergén összetétele	24
4.2.4 A tehéntej feldolgozás technológiai módszereinek hatása az allergénitásra	27
4.2.5 A tehéntejfehérje-allergia kórélettana és az orális tolerancia kialakulásának háttere	28
4.2.6 Diagnózis: jelenlegi gyakorlat és jövőbeli lehetőségek.....	32
4.2.7 Kezelési lehetőségek – jelen és jövő	33
4.2.8 A tejfehérje-allergia hátterében húzódozó immun-mechanizmusok összegzése	35
5. Tanulmány a gyermekkori tehéntejfehérje-allergia diagnosztikai kihívásairól	36
5.1 Bevezetés	36
5.2 Módszer	38
5.2.1 Minta.....	38
5.2.2 Prick teszt	40
5.2.3 Lymphocyt-transzformációs teszt.....	40
5.2.4 Nyálmintavétel és kortizol-szint meghatározás.....	40
5.2.5 Széklet mintavétel és konzisztencia meghatározás	41
5.2.6 Székletmintavétel és -kalprotektin szint meghatározása	43
5.2.7 Kérdőíves adatfelvétel	44
5.2.8 Statisztikai analízis	44
5.2.9 Etikai szempontok	44
5.3 Eredmények	45
5.3.1 Szocio-demográfiai és klinikai adatok	45
5.3.2 Viselkedészavar, hiperaktivitás, alvászavar	47
5.3.3 Kortizol.....	49
5.3.4 Széklet vizsgálatának eredményei	50
5.4 Megbeszélés.....	59
6. Tanulmány a gyermekkori tehéntejfehérje-allergia kapcsán kialakuló viselkedészavar háttérmechanizmusairól.....	63

6.1 Bevezetés	63
6.2 Módszer	65
6.2.1 Minta.....	65
6.2.2 Nyálmintavétel és alfa-amiláz szint meghatározás.....	66
6.2.3 Vizeletmintavétel, 6-hidroxi-melatonin-szulfát, 5-hidroxi-indolecetsav és kreatinin-szint meghatározás	66
6.2.4 Kérdőíves adatfelvétel	67
6.2.5 Statisztikai analízis	68
6.2.6 Etikai szempontok	68
6.3 Eredmények	69
6.3.1 Szociodemográfiai és klinikai adatok.....	69
6.3.2 Nyál alfa-amiláz szint.....	71
6.3.3 Vizelet 5-hidroxi-indol-ecetsav szint.....	72
6.3.4 Vizelet 6-hidroxi-melatonin-szulfát szint.....	73
6.4 Megbeszélés.....	74
7. Következtetések	77
8. Limitációk	81
9. Új tudományos eredmények.....	82
10. Javaslatok.....	83
11. Köszönetnyilvánítás	84
12. Saját közlemények jegyzéke	86
12.1 In extenso közlemények	86
12.2 Konferencia absztraktok.....	88
13. Mellékletek.....	91
13.1 Táblázatok jegyzéke.....	91
13.2 Ábrák jegyzéke.....	92
13.3 Etikai engedélyek.....	93
13.3.1 PTE-KK Regionális és Intézményi Kutatás – Etikai Bizottság engedélye	93
13.3.1 Tolna Megyei Önkormányzat Balassa János Kórház Intézeti Kutatás – Etikai Bizottságának engedélye.....	94
13.3.1 Petz Aladár Megyei Oktató Kórház Regionális Tudományos és Kutatásetikai Bizottságának engedélye.....	95
14. Adatelérhetőségi nyilatkozat	96
15. Doktori értekezés benyújtása és nyilatkozat a dolgozat eredetiségéről	97
16. Irodalomjegyzék.....	98

Rövidítések jegyzéke

5-HT: 5-hydroxy-triptamine/ szerotonin

5-HIAA: 5-hydroxy-indole-acetic acid/ 5-hidroxi-indolecetsav

a6MTs: 6-hydroxy-melatonin-sulphate/ 6-hidroxi-melatonin-szulfát

AAF: Amino Acid-Based Formul/ aminosav alapú tápszer

ADHD: Attention-Deficit and Hyperactivity Disorder/ figyelemhiányos hiperaktivitás-zavar

AR: Anti-reflux/ antireflux tápszer

ASD: Autism Spectrum Disorder/ autizmus-spektrum zavar

BAT: Basophil activation test/bazofil aktivációs teszt

BNO: a betegségek nemzetközi osztályozása/ nemzetközi szakirodalomban ICD (The International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems)

BSF: Bristol Stool Form Scale/ Bristol széklet állag skála

CD: Celiac Disease/ cöliákia

CoMiSS: Cow's Milk-related Symptom Score/ tehéntej okozta tünetek pontozó skálája

DBPCFC: Double-Blind, Placebo-Controlled Food Challenge/ kettős vak, placebo-kontrollált táplálékprovokáció

DC: dendritic cell/dendritikus sejtek

DSM: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders/ Mentális zavarok diagnosztikai és statisztikai kézikönyve

EGID: Eosinophilic Gastrointestinal Disorders/ eozinofil gasztrointesztinális rendellenességek

EHF: Extensively Hydrolysed Formula/ extenzíven hidrolizált tápszer

EOE: Eosinophilic Esophagitis/ eozinofil oesophagitis

EPIT: Epicutaneous Immunotherapy/epikután immunterápia

FC: Fecal Calprotectin/ széklet kalprotektin

FPIAP: Food Protein-Induced Allergic Proctocolitis/ táplálékfehérje-indukált allergiás proctocolitis

FPE: Food Protein-Induced Enteropathy/ táplálékfehérje-indukált enteropathia

FPIES: Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome/ táplálékfehérje-indukált enterocolitis szindróma

GAP: Goblet cell-associated antigen passage/ kehelysejt-asszociált antigén passzázs

GERD: Gastroesophageal Reflux Disease/ gasztro-özofagealis reflux

HA: Hypoallergenic/ hipoallergén tápszer

HA-AR: Hypoallergenic-anti-reflux/ hipoallergén-antireflux tápszer

HIAA: 5-hydroxyindoleacetic acid/ 5-hidroxi-indolecetsav
HPA: Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis/ hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely
iNKT: Invariant Natural Killer T cell/ invariáns természetes ölüsejt
IBD: Inflammatory Bowel Disease/ gyulladásoos bélbetegségek
IBS: Irritable Bowel Syndrome/ irritábilis bél szindróma
IgE: Immunoglobulin E/ immunglobulin E
LTT: Lymphocyte Transformation Test/ lymphocita transzformációs teszt
MAKIT: Magyar Allergológiai és Klinikai Immunológiai Társaság
MLN: Mesenteric lymph node/ mesenterialis nyirokcsomó
NK: Natural killer cell/ természetes ölüsejt
OFC: Oral Food Challenge/ orális táplálékprovokáció
OIT: Oral Immunotherapy/orális immunterápia
PAF: Platelet Activating Factor/ vérlemezke-aktiváló faktor
PAMP: Pathogen Associated Molecular Pattern/ patogén-asszociált molekuláris mintázat
POCT: Point of Care Test/az ellátás helyén történő vizsgálat
sIgE: Serum Immunoglobulin E/ szérum immunglobulin E
SAM: Sympathetic-adrenal-medullary system/szimpató-adrenomedulláris rendszer
SLIT: Sublingual Immunotherapy/szublingvális immunterápia
TSLP: Thymic stromal lymphopoietin/ thymus stroma limfopoietin
TFA: tejfehérje-allergia (nemzetközi szakirodalomban CMPA (Cow's Milk Protein Allergy) vagy CMA (Cow's Milk Allergy))
Th: helper T cell/ segítő T sejt

Definíciók

Allergia: „genetikailag meghatározott, környezeti tényezők által befolyásolt fokozott immunválasz, legtöbbször közömbös környezeti antigénekkal szemben, amelyek az átlagos populációban ilyen immunválaszt nem keltenek” [1]

1. Bevezetés

A tehéntejfehérje-allergia (TFA) az allergiát kiváltó étel elfogyasztása után jelentkező reprodukálható túlérzékenységi reakció (lehet immunglobulin E (IgE)-mediált, nem-IgE-mediált és kevert allergia), amely rendkívül sokféle tünetet okozhat, beleértve a gyomor-bélrendszeri, légúti, bőr- és idegrendszeri problémákat is.

A TFA igen gyakori ételallergia gyermekkorban; hároméves kor alatti kisgyermekek körében a leggyakoribb, de későbbi életkorban is előfordulhat, vezető helyet foglalva el a táplálékallergiák között [2-8]. Jóval magasabb arányban fordul elő a fejlett országokban élő gyermekeknél, mint a fejlődő országokban, valamint a nagyvárosban élők körében is gyakrabban észlelhető a TFA, azonban elmondható, hogy mind a fejlett, mind a fejlődő nemzeteknél is kifejezett emelkedő tendencia figyelhető meg a tejfehérje-hiperszenzitivitás incidenciájának és prevalenciájának tekintetében [6-8].

Mivel a betegség tünettana változatos, így még gyakorlott szakorvosoknak is sok esetben kihívást jelent a betegség felismerése. A korai felismerés kiemelt jelentőségű; fontos, hogy már az első tünetek megjelenésekor helyes diagnózishoz jusson a páciens. Téves diagnózis is születhet a tünetek sokfélesége miatt, illetve mert sok esetben igen nehéz felismerni a nem-IgE-mediált allergiát, ami nemcsak a gyermeknek és családjának okoz komoly problémát, de az egészségügyi ellátórendszerre is rendkívül nagy terhet ró [9-15].

Napjainkban is a Prick teszt („alkaros bőrpróba”) és a specifikus IgE vizsgálat a leggyakoribb diagnosztikai módszerek, melyeket elsőként alkalmaznak, amennyiben felmerül a táplálékallergia gyanúja. A táplálékallergiák, köztük a TFA is, az esetek jelentős hányadában nem-IgE-mediált mechanizmuson alapszik, ezért az említett két diagnosztikai módszer önmagában nem alkalmas a betegség fennállásának bizonyítására vagy annak elvetésére. A pozitív IgE teszt nem tud különbséget tenni a klinikai allergia és a szenzibilizáció között, hiszen csak a vérben keringő tehéntejfehérje elleni antitesteket ismeri fel. A Prick teszt is kizárólag IgE-mediált allergiákban igazolt hatékonyságú, ételallergiák esetén gyakori a téves pozitív vagy negatív eredmény, így az erre alapozott hibás diagnózis is [3, 16-18].

A táplálékallergiák növekvő prevalenciáját több tényező is magyarázhatja; az anyatejes táplálás csökkenése, genetikai hajlam, az élelmiszeripari adalékanyagok felhasználásának növekedése, sok esetben a túlzott higiéné alkalmazása (kisdetek és kisgyermek „burokban tartása”), valamint az intesztinális mikrobióta károsodása a helytelen táplálkozás miatt [5, 9, 19].

Jelentős problémát okoz továbbá, hogy nincs egy nemzetközi, egységes diagnosztikai követelmény-rendszer, mely a szubjektív elemeket nélkülözné. Ebben

jelenthet hatalmas előrelépést egy Belgiumban fejlesztett pontozási kritériumrendszer, mely nagyban megkönnyítheti az alapellátásban és klinikumban dolgozó szakemberek munkáját, a TFA objektív értékelését. A CoMiSS, vagyis a Cow's Milk-related Symptom Score (tehéntej okozta tünetek pontozó skálája) rendkívül hasznos lehet a TFA diagnosztikai eszközeként, használata egységesíthetné a betegség fennállásának megítélését. A rendszer egyszerű, gyors, könnyen átlátható, non-invazív és a CoMiSS felhasználói kézikönyvet használva nem igényel speciális képzést, ezért bárki számára könnyen elsajátítható. Potenciális előnyei közt említhető, hogy segítségével a betegség tünetei könnyen felismerhetőek, és monitorozható a panaszok megszűnése az eliminációs diéta hatására. A pontozó rendszer célja, hogy a betegség túl- és aluldiagnosztizálását elkerüljük, valamint biztosítja, hogy a csecsemők egészsége és életminősége ne sérüljön, emellett potenciálisan csökkentheti az egészségügyi ellátórendszer költségeit is [2, 8, 20-25]. Kutatásunk során nem tudtuk alkalmazni a CoMiSS pontozórendszert, mert az 1 év alatti gyermekek a természetesen magasabb kalprotektin-szintjük miatt kizárásra kerültek.

A korai diagnózis jelentősége, illetve a szigorú eliminációs diéta megkezdése és betartása amiatt is rendkívül fontos, mert több tanulmány beszámolt a TFA és a gyulladós bélbetegségek (IBD) kialakulásának szoros korrelációjáról, ami hosszútávon a beteg életminőségét nagyban rontja, illetve az egészségügyi rendszert is terheli [26-28].

Összességében elmondható, hogy a TFA napjainkban egyre több csecsemőt/kisgyermeket érint, ami a családokra és az ellátórendszerre nézve is növekvő problémát jelent. Kiemelt jelentőségű ezen ételallergia minél korábbi felismerése és a tejmentes diéta bevezetése az esetlegesen, későbbi életkorban kialakuló inhalatív allergia vagy az IBD elkerülése céljából egyaránt [5, 26-29].

2. Problémafelvetés

Tehéntejfehérje-allergiás gyermekek esetében számos esetben megfigyelhető, hogy a szervi eltérések mellett magatartásbeli problémák is jelentkeznek: a szülők gyakran figyelemzavarról, fokozott impulzivitásról, alvászavarról számolnak be, melynek élettani háttere pontosan nem ismert.

ADHD-s (Attention-Deficit/ Hyperactivity Disorder, figyelemhiányos/hiperaktivitási zavar) gyermekek esetében több tanulmány alátámasztja a tehéntejfehérje-mentes diéta jótékony hatását; azonban fordított összefüggésben, miszerint a TFA-s gyermekek magatartászavara a diéta bevezetése után jelentős javulást mutat, nem áll rendelkezésre átfogó vizsgálat [30-33]. A viselkedésbeli probléma biológiai háttere, illetve a tejfehérje potenciális kóroki szerepe nem tisztázott; a szakirodalomban ezen összefüggést vizsgáló közlemény kutatásunk megkezdésekor nem volt fellelhető. A biológiai stresszválasz elsősorban két fő rendszer által szabályozott; a szimpatikus idegrendszer, mely az autonóm idegrendszer egyik része, és a stresszor hatására azonnal aktiválódik a szimpatoadrenomedulláris (SAM) tengelyen keresztül, valamint a hipotalamusz-hipofízis-adrenokortikális tengely (HPA), mely működése esetén a stresszválasz időben kissé késleltetett [34]. A HPA tengely, illetve az allergiás folyamatokban jelen lévő mediátorok, mint pl. a szerotonin és a hisztamin, szerepet játszhatnak a hiperaktivitás, koncentrációs nehézségek és az alvászavar patomechanizmusában, valamint megváltozott melatonin-szint valószínűsíthető az alvási nehézségekkel küzdő gyermekek esetében.

A TFA egyik leggyakoribb manifesztációja az allergiás colitis, melynek következményei a hasfájás, a – gyakran véres, nyákos – hasmenés, puffadás, hányás. A tehéntejfehérje-mentes diéta bevezetésével ezen tünetek viszonylag gyorsan (körülbelül 2-3 hét után) regrediálnak, azonban ez csak a klinikai javulás objektív mutatója, az allergiás colitis gyógyulásának nem.

A kalprotektin egy döntően granulocyták által termelt kalciumkötő fehérje, mely számos biológiai funkcióval (pl. metalloproteáz-gátló, antimikrobiális, kemotaktikus szerep) rendelkezik. Székletből való kimutatása non-invazív módon nyújt információt a colitis fennállásáról, illetve súlyosságáról [35-37]. Tejfehérje-allergiás betegek esetében mérése kevésbé elterjedt, egyelőre kisszámú tanulmány áll rendelkezésre a széklet kalprotektin (FC) kimutatás diagnosztikus és prognosztikus értékéről TFA-s gyermekpopulációban, és a publikált eredmények is ellentmondásosak [38, 39].

3. A vizsgálat célja, hipotézisek

3.1 Kutatásunk célja

Kutatásunk elsődleges célja a gyermekkori TFA által indukált komplex élettani és pszichológiai folyamatok megértése volt. Az elvégzett diagnosztikai mérések és kutatócsoportunk által összeállított kérdőívek kiértékelésének segítségével mértük fel, hogy milyen szervi és esetlegesen pszichés eltérések jelentkezhetnek TFA-ban, és ezekre milyen hatással van a tehéntejfehérje-mentes diéta bevezetése. Célunk a betegség több aspektusára kiterjedő, átfogó vizsgálatsorozat lebonyolítása volt. A szakorvosi vizit során részletes anamnézis-felvétel és fizikális vizsgálat történt, illetve vér-, nyál- és székletminták analízisét, valamint kérdőíves adatgyűjtést végeztük.

A kutatás során vett vérmintákból célunk volt az úgynevezett „stressz-tengely” mediátorainak (kortizol), egyéb transzmitterek (pl. szerotonin), hormonok (melatonin), immunglobulinok (különös tekintettel IgE), illetve egyéb paraméterek (ionok, vesefunkciós paraméterek, transzaminázok, vas-status, vérkép, gyulladásos paraméterek) vizsgálata, valamint az allergia kimutatására szolgáló lymphocyta-transzformációs teszt (LTT) elvégzésére.

Célunk volt továbbá a nyálminták kortizol-, és alfa-amiláz szintjének meghatározása és változásainak nyomon követése non-invazív módon, ezáltal terveztük monitorozni az esetleges viselkedésbeli eltérések hátterét és a diéta eredményezte változást.

A székletmintákból a kalprotektin mennyiségének meghatározását terveztük elvégezni, valamint célunk volt a Bristol-skála segítségével hét osztályba sorolni a gyermekek széklet-konzisztenciáját, hogy ez alapján elkülöníthessük a normális és kóros formákat diéta előtt, és az eliminációs diétát követően.

Kérdőíveink segítségével célunk volt a szociodemográfiai és egészségmagatartásra vonatkozó kérdéseken túl, a gyermekeknél esetlegesen jelen lévő viselkedésbeli eltérések (pl. alvászavar, hiperaktivitás, figyelemzavar, tanulási nehezítettség stb.) felmérését elvégezni.

3.2 Specifikus cél 1

Célunk a TFA okozta viselkedésmintázat megváltozásának háttérében álló biomarkerek vizsgálata. Mivel az irodalom e téren hiányos, célunk azonosítani, mely mediátorok vagy hormonok szintjének eltolódása tehető felelőssé a viselkedés és alvásminőség megváltozásáért.

3.3 Specifikus cél 2

Longitudinális vizsgálatunk célja, hogy megfigyelhessük a tejfehérje-mentes diéta feltételezéseink szerinti jótékony hatásának monitorozhatóságát objektív paraméterek segítségével.

3.4 Hipotézisek

H1: Feltételezéseink szerint a szigorú eliminációs diéta betartásával jelentős javulás érhető el a tehéntejfehérje-allergiás gyermekek egészségi állapotában. Úgy gondoljuk, hogy mind a testi, mind a viselkedésbeli eltérésekre (ADHD-szerű tünetek, alvászavar) is jótékony hatással lehet a tehéntejfehérje-mentes diéta szigorú betartása, melyeket objektív paraméterekkel is tervezünk alátámasztani.

H2: Feltételezzük, hogy a tejfehérje okozta allergiás colitis objektív módon monitorozható széklet kalprotektin-szint mérésével, mellyel a fennálló gyulladás javulása/gyógyulása is egyszerűen nyomon követhető.

H3: Feltételezéseink alapján a viselkedésbeli eltérések (hiperaktivitás, figyelemzavar, alvásproblémák) háttérében eltolódott hormon- és mediátor-szint áll (kortizol, alfa-amiláz, szerotonin, melatonin), melyeket objektív diagnosztikai mérésekkel alá tudunk támasztani.

4. Szakirodalmi áttekintés

4.1 Táplálékallergiák gyermekkorban

4.1.1 Bevezetés a gyermekkorban leggyakrabban előforduló táplálékallergiákba

Táplálékallergiák alatt immunmediált reakciók megjelenését értjük, melyet maga a táplálékfehérje vagy annak bizonyos frakciói váltanak ki. A táplálékallergének hatására létrejövő immunválasz következtében kémiai mediátorok szabadulnak fel, melyek klinikai tüneteket okoznak.

Ahhoz, hogy megfelelő kezelésben részesülhessenek a táplálékallergiában szenvedő gyermekek, először az adott ételmiszer által kiváltott allergiás reakció hátterének, hatásmechanizmusának pontos megértése szükséges. Jelen ismereteink szerint több, mint 160 ételmiszerről tudjuk, hogy hiperszenzitivitási reakciót okozhatnak különböző mértékben, és rendkívül sokszínű tünettannal. Leggyakoribb allergének a tehéntejfehérje és a tyúktojás- ezen allergének okozta megbetegedést általában kamaszkorra „kinövik” a gyermekek -, ezzel szemben a földimogyoró és egyéb csonthéjas olajosmagvak, valamint a hal és tenger gyümölcsei okozta panaszok felnőttkorban is megmaradnak [10, 11, 40]. Minden életkorban jelentkezhethet, de leggyakrabban a háromévesnél fiatalabb gyermekpopulációban fordul elő ételallergia. Európában és az Egyesült Államokban az ételallergiák előfordulása 8-11% gyermek és felnőtt populációt tekintve (csecsemőknél 2-6%) [41, 42].

Megfigyelhető továbbá, hogy a fejlődő országokban kevesebb a táplálékallergiás gyermek, mint a fejlett országokban, viszont mind a fejlett, mind a fejlődő nemzeteknél tapasztalható a táplálékallergia előfordulásának erőteljes emelkedése. A városi populációban gyakrabban alakul ki a hiperszenzitivitási reakció, mint a vidéken élőkénél [12-14]. A különböző táplálékallergiák előfordulása növekvő tendenciát mutatott az elmúlt évtizedben, mely nemcsak a családokra, hanem az egészségügyi ellátórendszerre is nagy terhet ró [10-15]. A rendkívül változatos tünetek, és az esetlegesen fellépő keresztreakciók nagyban megnehezítik a házi gyermekorvosok és a klinikumban dolgozó szakorvosok munkáját.

4.1.2 A táplálékallergén okozta tünetek

Az ételallergiák rendkívül változatos manifesztációkban jelentkezhetnek. Az allergia következtében megjelenő tünetek a következő szervrendszereket érinthetik: bőr/nyálkahártya, gyomor-bélrendszer, légutak, központi idegrendszer, valamint lehetnek szisztémás megjelenésűek. A bőrt és nyálkahártyát érintő tünetek a viszketés, csalánkiütés, ekcéma, angioödéma. A gastrointestinalis allergiás reakciók közé tartozik az ajkak, szájüreg, garat viszketése, a nyelési nehezítettség, gyakran görcsös hasi fájdalom, hányinger,

ismétlődő hányás és a hasmenés. Az orrdugulás, tüszögés, vizes orrfolyás, stridor, köhögés, légszomj, és az asztmás roham a légúti tünetcsoportba tartozó kóros reakciók. Előfordulhat táplálékallergia esetén központi idegrendszeri tünet is, mint a fejfájás, migrén, esetleg hőemelkedés, viselkedéseli eltérések (hiperaktivitás, alvászavar). Szisztémásan pedig általában fáradtság, levertség figyelhető meg egyes esetekben [43].

A táplálékallergia esetén az allergiára pozitív családi anamnézis lényeges prediszponáló tényező lehet. Több vizsgálatban is arra az eredményre jutottak, hogy ha mindkét szülőnél allergiás megbetegedés áll fenn, a gyermek közel 20-szor, ha csak az anyánál, nagyjából 12-szer nagyobb eséllyel alakul ki atópiás megbetegedés, valamint gyakran előfordul más élelmiszercsoporttal szembeni túlérzékenység, illetve megnő az inhalatív allergia kialakulásának esélye is [44-46]. Az adverz táplálékreakció a táplálék vagy annak egy komponense által kiváltott kóros reakció. Az *1. táblázatban* foglaltuk össze az I. III. és IV. típusú allergia leggyakoribb manifesztációit.

1. táblázat Leggyakrabban előforduló tünetek adverz táplálékreakciókban (saját szerkesztésű táblázat, Arató A., Szőnyi L. Gyermekgasztroenterológia, 240-241 oldal alapján, 2003 [46])

Leggyakoribb tünetek adverz táplálékreakciókban		
IgE-mediált allergia (I. típus)	Nem-IgE-mediált allergia (III., IV. típus)	Kevert allergia (IgE- és nem-IgE-mediált)
urticaria	gastrointestinalis vérzés	diszfágia
angioödéma	proteinvesztő enteropátia	hasi fájdalom
hasi fájdalom/görcs	malabsorpció	hányás
vizes/nyálkás hasmenés	pulmonalis megbetegedés	hasmenés
hányás	vasculitis	malabsorpció
kipirulás	purpura	súlycsökkenés
ájulás	dermatitis	nyelési nehézség
rhinitis	hasmenés	krónikus refluxoesophagitis
asztma	hányás	gyors teltségérzet
nehézlégzés	étvágytalanság	gyomorürülési zavar
szívritmuszavar	súlyállás/súlycsökkenés	gyomorvérzés
atópiás dermatitis	vashiányos anémia	alvászavar
viszkető, égő érzés	kontakt dermatitis	étvágytalanság

A nem-IgE által közvetített TFA klinikai megnyilvánulásai négy entitásként írhatók le: élelmiszerfehérje által kiváltott enterocolitis szindróma (FPIES), élelmiszerfehérje által kiváltott enteropathia (FPE), élelmiszerfehérje által kiváltott allergiás proctocolitis (FPIAP) és eozinofil oesophagitis (EoE); gyakori a klinikai tünetek átfedése. E megnyilvánulások súlyossága egy spektrumot képvisel, az FPIAP a legenyhébb, az FPIES pedig a legsúlyosabb forma [8].

Az FPIES vezető tünete a bőséges és ismétlődő hányás, amelyet a betegek akár felénél hasmenés is követhet. Letargia, sápadtság és hipotermia is előfordulhat; ritkán hemodinamikai instabilitás alakul ki az érintett betegekben [47].

Az FPE klinikai megjelenése hasonló a cöliákiához: a tehéntej csecsemők étrendjébe történő bevezetése után krónikus hasmenés és felszívódási zavar alakul ki olyan indikatív tünetekkel, mint a zsírszéklet és az általános rossz közérzet. Az FPIES-től és az FPIAP-tól eltérően az FPE endoszkópiát és szövettani vizsgálatot igényelhet a diagnózis megerősítéséhez [48].

Az FPIAP rendszerint a szoptatott csecsemők életének első heteiben alakul ki, mivel az anya által bevitt tehéntejfehérje hatásának vannak kitéve. Az egészségesnek tűnő

csecsemőknél laza, véres széklet fordulhat elő, bizonyos esetekben nyálkával, valamint gyulladásos elváltozások jelenhetnek meg a végbélben és a vastagbélben egyaránt [8, 48].

Az EoE megjelenése az utóbbi években jelentős emelkedést mutatott gyermekek körében is. Fiatalabb gyermekeknél a vezető tünetei közé tartozik a hányinger, hányás, regurgitáció és hasi fájdalom, míg serdülőknél már megjelennek a felnőtteknél gyakori tünetek, a diszfágia és a mellkasi fájdalom is [49].

4.1.3 Leggyakoribb ételallergiák gyermekkorban

4.1.3.1 Tehéntejfehérje-allergia

Csecsemők és kisdedek esetében a leggyakrabban előforduló ételallergia, mely a tehéntej-fehérjére adott hiperszenzitivitási reakció. Az entitás prevalenciája csecsemőkorban 2-6%, majd az életkor előrehaladtával csökken a betegség előfordulása, azonban bármely életkorban kialakulhat [10-14]. A tehéntej allergia prognózisa jónak mondható, tejmentes étrendet követve Polgár szerint a csecsemőkori tehéntejfehérje-allergiában szenvedők egy éves korra 15%-uknál, három éves korra 51%-uknál, négy éves korra 67%-uknál, várható gyógyulás [5, 19]. Ezzel szemben Høst az eliminációs diéta bevezetésétől számítva vizsgálta a gyógyulás időtartamát, miszerint a betegek 45-50%-a gyógyul meg egy év tejfehérje-mentes diétát követően, 60-75%-uknál két év után, 85-90%-uknál három év után és 90-95%-uknál öt-tíz év után tapasztalható a tolerancia kialakulása [50]. Több tanulmány számol be a sült, vagy magas hőmérsékleten hőkezelt tejszármazékokkal szembeni toleranciáról a TFA-s gyermekek nagy többségénél (kb.75%-uknál) [51-53].

4.1.3.2 Tojás allergia

A tehéntejfehérje mellett, a második leggyakrabban előforduló gyermekkori táplálékallergén a tojásfehérje, mely kisgyermekek körében 1-9% előfordulású. Rendkívül gyakran figyelhető meg, hogy a tojásallergia az inhalatív allergia és az asztma előfutára [40, 54]. A gyermekek 45-47%-a kettő, 66%-a négy és 71%-uk hat éves korára teljesen tolerálni tudja a tojásfehérjét. A főtt vagy sült tojást-hasonlóan a tejhez- a tojásallergiás gyermekek azon csoportja képes tünetek nélkül fogyasztani, akik az ovalbumin (összfehérje mennyiség kb. 55-60%-a, mérsékelt allergenitás), az ovotranszferrin (alacsony allergenitás) vagy lizozim (mérsékelt allergenitás) fehérjefrakciókra allergiások, mivel ezen fehérjék hőérzékenyek, szemben az ovomucoid proteinekkel (kb 11%-a a tojás összfehérje mennyiségének, allergenitása a legmagasabb a fehérjeösszetevők közül), így ez a fehérjefrakció hőkezelést követően is allergizál [55]. Hasonlóan a tejfehérje allergiához, sok

esetben a tojás elfogyasztása sem okoz allergiás reakciót serdülőkorban az előzőleg tojásallergiával diagnosztizált gyermeknél [56].

4.1.3.3 Földimogyoró és egyéb csonthéjas olajosmag allergia

Igen gyakran váltanak ki hiperszenzitivitási reakciót és anafilaxiát a földimogyoró és a csonthéjas olajosmagvak (mandula, brazildió, kesu, törökmogyoró, pekándió, dió), mely a gyermekek körülbelül 0,5-3%-át érinti. Az olajosmagvak és a földimogyoró esetében serdülőkorra ritkán alakul ki orális tolerancia. Földimogyoró esetében a betegek 20-25%-a, míg az olajosmagvak esetében csupán 9%-uk növi ki felnőttkorra a hiperszenzitivitást [57]. A földimogyoró- és olajosmag-allergia gyakran okoz igen súlyos tüneteket, sok esetben alakul ki anafilaxiás reakció, ami gyors beavatkozás hiányában halállal végződhet.

4.1.3.4 Búzaallergia

Gyermekek körében a búzaallergia is gyakori. Nem összetévesztendő a cöliákiával, ami a búzasiker által indukált autoimmun betegség, míg a búzaallergiában az amiláz és tripszin inhibitor komponensek felelősek az allergiás reakcióért [40]. Búzaallergia esetén gyakran fennáll más táplálékallergia is az érintett gyermeknél. A gyermekpopulációban körülbelül 0,1-1% az előfordulása [58].

4.3.3.5 Egyéb ételallergiák

4.3.3.5.1 Szójaallergia

A szójabab-allergia a csecsemők és kisgyermekek körében gyakoribb, azonban korábbi tanulmányok szerint az allergiás gyermekek több, mint 50%-ának hét éves korára nem okoz tünetet a szója fogyasztása [40, 59]. A betegség prevalenciája csecsemő- és gyermekkorban 0,07-0,4% az európai gyermekpopulációban [60].

4.3.3.5.2 Olajosmag allergia

Ide soroljuk a szezám, mák, mustármag, lenmag, repcemag és a tökmag okozta allergiás reakciókat. Az olajosmag allergia az utóbbi években, hasonlóan a többi étel által kiváltott allergiás megbetegedéshez, növekvő tendenciát mutat, közülük a leggyakrabban a szezám vált ki hiperszenzitivitási reakciót, prevalenciája gyermekek körében 0,1-0,9% [61]. A csekély szakirodalmi adat arra utal, hogy a földimogyoró-allergiához hasonlóan az olajosmag allergia is perzisztál felnőttkorban, az érintettek 20-30%-ánál alakul ki tolerancia [40, 62].

4.3.3.5.3 Hal és tenger gyümölcsei allergia

Bár világszerte gyakran előforduló ételallergia, és egyre több szakirodalmi adat áll rendelkezésre a betegség diagnosztizálásával és kezelésével kapcsolatban, a gyermekpopulációra vonatkozó adatok csekélyek [63]. Prevalenciája gyermekkorban szignifikánsan alacsonyabb (európai gyermek körében 0,08-1,3%), mint a felnőtt populációban [40].

4.1.4 Diagnosztikai módszerek

Az ételallergiák diagnosztikájában az elérhető szakmai irányelvek mellett is jelentős eltérések tapasztalhatók a különböző ellátók körében. Táplálékallergia gyanúja esetén a részletes anamnézis-felvétel a diagnosztikai algoritmus kiindulópontja, melynek segítségével meghatározhatók a szükséges diagnosztikai lépések, valamint a kapott eredmények megfelelő értelmezésében is kulcsfontosságú tényező [64, 65].

Az elsőként tisztázandó kérdés a potenciális allergén azonosítása, kitérve a páciens által ritkán vagy újonnan fogyasztott ételekre, valamint lehetséges kontamináció (keresztallergének) jelenlétére. A tünetek megjelenésének ideje (perceken belül vagy napok-heteket követően), valamint az elfogyasztott étel mennyisége irányadó információ lehet az allergiás mechanizmus (IgE- vagy nem-IgE-mediált) megítélés szempontjából. A reakciók csoportosítása és elnevezése az Európai Allergológiai és Klinikai Immunológiai Társaság javaslatai alapján jött létre [65]. Az általuk összeállított beosztás szerint I., III. és IV. típusú allergiáról beszélhetünk táplálékallergia kapcsán. Az I. típus az IgE-mediált adverz reakció, mely azonnali tüneteket okoz (táplálék elfogyasztását követő 45-60 percen belül), általában néhány percig, maximum néhány óráig tart. A III. típus késleltetett reakció, mely az allergénnel való találkozást követően órákon belül [5, 12-15, 43-46] jelentkezik, és néhány órán vagy napon át tart, ebben az esetben nem-IgE-mediált allergiáról beszélünk. Szintén nem-IgE-mediált a IV. típus sem. Ebben az esetben késői allergiás reakció alakul ki, mely 24-72 órával az allergén elfogyasztása után jelentkezik, és a tünetek több napig, akár több hétig is eltarthatnak. Az I. típus esetén a táplálék-specifikus IgE-szintje emelkedik, ennek hatására az össz-IgE-szint is nő, és a Prick teszt pozitív lesz. Az imént említett két diagnosztikai módszer a III. és IV. típus esetén nem megbízható. Mivel a III. és IV. típusú reakciók nem IgE-mediáltak, nem tapasztalható IgE-szint emelkedés (III. típus esetén főleg IgA, IgG antitest aktivációval jár), és a Prick teszt eredménye sem lesz pozitív.

A fenti diagnosztikai módszereket a mindennapi gyakorlatban a mai napig igen gyakran alkalmazzák az ételallergiák fennállásának alátámasztására, majd az esetlegesen negatív diagnosztikus eredmények alapján a táplálékallergia lehetőségét elvetik. Sem a Prick teszt, sem az össz-IgE-szint mérése nem használható önmagában ételallergia fennállásának alátámasztására vagy annak kizárására [46]. Az allergén elfogyasztására adott, ismétlődő (így reprodukálható) tünetek ismerete szintén az allergia mechanizmusára enged következtetni (*1. táblázat*).

A diagnózis felállításának alappillére az allergén étrendből való eliminációját követő visszaterhelés, melynek három fő variánsa a nyílt, a vak, és a kettős vak terhelés. Nyílt terhelés során a potenciális allergént tartalmazó élelmiszert hétköznapi formájában

fogyasztja el a páciens; előnye a könnyű és gyors kivitelezhetőség, hátránya lehet, hogy az allergén egyértelmű beazonosíthatósága a páciens és a vizsgálót is befolyásolhatja a kialakult tünetek értékelésében. Vak terhelés esetében a vizsgálni kívánt allergént tartalmazó ételt más ételekkel keverjük, mellyel a páciens allergénre adott reakciója objektívebb lehet a nyílt próbával összevetve, a megfigyelő személy befolyásolhatósága azonban nem változik. Ez utóbbi kivédésére végezhető a kettős vak, placebokontrollált táplálékprovokációs próba (DBPCFC=Double-blind, placebo-controlled food challenge) – ezen vizsgálati módszer a táplálékallergia diagnosztikájának aranystandardja [66, 67], emellett kutatási célokra is ez a tesztelési mód javasolt. Azonban, mivel a kettős vak, placebo-kontrollált táplálék terheléses diagnosztikai eljárás költséges, speciális személyzetet és környezetet igénylő, időigényes folyamat, előfordul, hogy a nyílt terhelés is elegendőnek bizonyul az allergia fennállásának bizonyítására [10].

Az esetleges diagnosztikai tesztek – Prick teszt vagy in vitro tesztek (ételspecifikus szérum IgE -szint mérés, lymphocita transzformációs teszt) - mindig a páciens specifikus klinikai anamnézisének alapos ismeretében szükséges kiválasztani és értelmezni, mivel a „pozitív” teszt (azaz szenzibilizáció vagy IgE-képződés egy adott anyaggal szemben) nem mindig utal klinikai allergiára [42, 68]. Amennyiben egy páciensnél egyértelmű anafilaxiás reakció lép fel egy adott élelmiszerre, a tesztelés szükségtelen, bár a folyamat hosszútávú monitorozása céljából egy kezdeti (baseline) allergénspecifikus IgE-szint meghatározható. A legtöbb olyan betegnél kerülni kell a tesztelést, akik anamnézisében nem szerepel IgE-közvetített reakció, kivéve, ha a „negatív” teszt a táplálék étrendbe való visszavezetését ösztönzi. Ha a beteg számára tünetek nélkül tolerálható egy élelmiszer, akkor az ételt csupán a „pozitív” IgE teszt miatt kiiktatni az étrendből ellenjavallt.

Az alábbiakban részletezett diagnosztikai tesztek elsősorban IgE-mediált allergia diagnózisának megerősítésére szolgálnak, önmagukban a diagnózis felállítására vagy elvetésére nem alkalmasak [69]. Gyakran alkalmazzák feltehetőleg nem-IgE patomechanizmusú ételallergiában szenvedő páciensek vizsgálatára is, mely gyakorlat diagnosztikai hibákhoz vagy felesleges eliminációs diéta indikálásához vezethet. A Prick teszt gyors és egyszerű eszköz az I. típusú túlérzékenységi reakciók diagnosztizálására.

Az immunoassay-k olyan in vitro vizsgálatok, amelyeket élelmiszer-specifikus IgE antitestek azonosítására használnak a szérumban. Előnyük – többek között a Prick teszttel szemben is –, hogy egyre szélesebb körben elérhető, antihisztamin szedése az eredményt nem befolyásolja, súlyos anafilaxia szempontjából veszélyeztetett betegeknél is biztonsággal elvégezhető. Hasznos olyan bőrgyógyászati betegségekben szenvedő betegeknél, akiknél előfordulhat, hogy a bőrvizsgálatot nem lehet elvégezni [69]. Nem ritka

emellett, hogy olyan allergén is pozitív eredményt mutat, melyet a páciens tünetek nélkül tolerál, emiatt is kritikus fontosságú a páciens klinikai kórtörténete mind az elvégzendő vizsgálatok meghatározása, mind a diagnózis megerősítése szempontjából.

A komponens-alapú allergiateszt során az egyedi allergénekre adott specifikus IgE-válaszok mérhetők, szemben a szérum IgE vizsgálatoknál használt, allergia szempontjából eltérő jelentőségű fehérjék keverékét tartalmazó allergénkivonatokra adott reakcióval. A meghatározott allergénnel szembeni specifikus IgE-reaktivitás mintázata segíthet meghatározni, hogy mely betegeknél nagyobb az allergiás reakciók kockázata azokkal szemben, akik bár érzékenységet mutatnak, de klinikailag toleránsak. Földimogyoró allergia vizsgálata során kiemelkedő jelentőséggel bír e diagnosztikai módszer; számos tanulmány megállapítása alapján a magtároló fehérjékben kimutatható specifikus IgE-szintje súlyosabb, tartós földimogyoró-allergiával jár együtt [70-72], míg a Bet v1 homológgal szembeni kizárólagos szenzibilizáció gyakrabban társul a reaktivitás alacsony kockázatával [71, 73]. Tej- és tojásallergia esetében a komponens-alapú tesztelés ígéretes prediktornak bizonyulhat az allergia későbbi perzisztálásának kockázatát, valamint a hőkezelt allergén tolerálhatóságát illetően [51, 74-77], azonban az eliminációt követő visszaterhelés, mint diagnosztikai lépés, ezen vizsgálatokkal továbbra sem kiváltható.

4.1.5 Kezelési lehetőségek

Az ételallergia kezelésének elsődleges célja az étellel szembeni tartós tolerancia kialakítása, tehát – allergén szempontjából - elimináció után az élelmiszer újbóli bevezetésével a korábbi klinikai reakció nem ismétlődik meg.

A táplálékallergiák terápiájának aranystandardja a tüneteket kiváltó allergén elkerülése, vagyis az eliminációs diéta. A sikeres diéta előfeltétele a betegek széles körű edukációja: az allergén hatékony elkerülése érdekében a termékek (élelmiszerek mellett gyógyszerek, kozmetikumok) összetevőinek részletes áttekintése, otthonukban biztonságos ételek elkészítése, éttermekben és a közétkeztetésben az allergén-mentes opciók megismerése fontos elsajátítandó ismeretek. Az elimináció szigorúságáról (pl. kis mennyiségben vagy hőkezelt formában fogyasztható-e az allergén) a páciens klinikai állapotát, tüneteit és egyéni szempontjait mérlegelve dönt a klinikus. Hatékony diéta mellett egyes ételallergiák (pl. tehéntej-, tojásallergia) a gyermekkor során „kinőhetők”, mások (pl. földimogyoró) nagyobb valószínűséggel felnőttkorban is perzisztálnak. A táplálékallergia új terápiás megközelítései két főbb csoportba sorolhatók: élelmiszer-allergén-specifikusak (pl. immunterápia natív vagy módosított rekombináns allergénnel, orális deszenzitiváció) vagy élelmiszer-allergén nem specifikus (pl. anti-immunglobulin) kezelések.

Az élelmiszerallergén-specifikus terápiák közé az orális, szublingvális és szubkután immunterápiák (OIT, SLIT és SCIT) sorolhatók (2. táblázat). Közös jellemzőjük, hogy a bejuttatott allergén dózisát hetente-kéthetente növelve a reakciót kiváltó küszöbdózis emelhető, vagy teljes tolerancia is elérhető a szisztémás mellékhatások csekélyebb kockázata mellett; ezzel csökken a véletlen expozícióból adódó tünetképződés esélye, valamint számos betegnek jelentős életminőségbeli javulást jelenthet.

2. táblázat Különböző típusú immunterápiák főbb jellemzői (Saját szerkesztésű táblázat Barni S. et al. 10. oldal alapján, 2020, magyarra fordítva [78])

	Orális Immunterápia (OIT)	Szublingvális Immunterápia (SLIT)	Epikután Immunterápia (EPIT)
Az expozíció útvonala	Az allergén szájon át történő bejuttatása	Az allergén nyelv alá helyezése, 2 percre	Allergént tartalmazó tapasz ép bőrfelületre helyezve
Káros hatások	Előfordulhatnak súlyosabb mellékhatások (pl. anafilaxia), az enyhébb mellékhatások gyakoriak (pl. gyomor-bélrendszeri)	Enyhébb mellékhatások (lokalizált, oropharyngealis reakciók)	Enyhe mellékhatások (pl: lokalizált, helyi bőrirritáció)
Hatékonyság	Magasabb deszenzitizációs arány	Közepes hatékonyság az OIT-hoz képest	Kevés TFA-ra vonatkozó adat; alkalmas lehet a magas kockázatú betegek OIT-re való felkészítésére
Beteg együttműködése	A súlyos mellékhatások miatt mérsékelt lehet	Könnyebb együttműködés az OIT-hez képest	Könnyebb együttműködés az OIT-hez képest

OIT: orális immunterápia, SLIT: szublingvális immunterápia, EPIT: epikután immunterápia, TFA: tehéntejfehérje-allergia

A hagyományos OIT protokoll három fázisból áll. A kezdeti eszkalációs szakaszban, amelyet egészségügyi intézményben felügyelet mellett végeznek, a cél a kezdő dózis (a legmagasabb biztonságosan tolerálható dózis) meghatározása, a beteg otthonában történő napi beadáshoz. Ezt a lépést egy „felépítő” (buildup) szakasz követi, amelynek során a napi adagot fokozatosan, rendszeres időközönként (például hetente vagy kéthetente) emelik a fenntartó adag eléréséig. Végül, az így meghatározott fenntartó allergén adagot a betegnek tartósan (hónapokig vagy évekig) naponta el kell fogyasztania. A fenntartó szakasz után a napi bevitt 4-12 hétre felfüggesztik, hogy DBPCFC-vel felmérjék a tartós

válaszképtelenség potenciális elérését. A klinikai reakció hiánya tartós toleranciát jelez [78, 79].

Az OIT mechanizmusának pontos immunológiai háttere továbbra is tisztázatlan. Feltételezések szerint a gyakori allergiás stimuláció a hízósejtek deszenzitizációjához és allergén-specifikus Foxp3⁺ Treg sejtek indukciójához vezet. A folyamatos, nagy dózisu allergénstimuláció IgG alosztályváltást ($\mu \rightarrow \gamma_3 \rightarrow \gamma_1 \rightarrow \gamma_2 \rightarrow \gamma_4$) indukálhat a szekvenciális osztályváltás helyett ($\mu \rightarrow \gamma_3 \rightarrow \gamma_1 \rightarrow \epsilon$, ami nagy affinitású IgE-t eredményezne). Az allergén-specifikus IgG4 antitestek képesek versengeni az allergén kötődésért, így gátolják a hízósejtek és a bazofil sejtek degranulációját. Az OIT során indukált IgG antitestek az Fc γ IIb gátló receptoron keresztül hatnak az IgE által közvetített túlérzékenység csökkentésére. Az OIT korai szakaszában a dendritikus sejtek IL-10-et, interferon- γ -t és csökkent mennyiségű IL-6-ot termelnek, ami elnyomja az IgE által közvetített túlérzékenységet [80].

Az OIT-ot omalizumabbal (anti-IgE monoklonális antitest) kombinálva vizsgálták, a módszer hatékonyságának lehetséges javítása, a mellékhatások súlyosságának enyhítése és a fenntartó dózis gyorsabb elérésének elősegítése céljából [78, 81, 82]. Mivel viszonylag kisszámú multicentrikus vizsgálat zajlott ezzel a kezelési sémával, a hatások pontosabb megítéléséhez további vizsgálatok szükségesek [83-85].

A SLIT-et és az EPIT-et alig vizsgálták TFA-ban szenvedő betegeknél (bár ezeknél a módszereknél ritkábban jelentkezik mellékhatás és magasabb a páciensek adherenciája), ezért nem vonható le biztos következtetés a hatékonyságukról [86-88]. Korábbi tanulmányok szerint a SLIT nem tudta elérni az OIT hatékonyságának szintjét, bár a tolerált allergén dózis többszörösére növelése elérhető volt enyhébb, főként lokális mellékhatásokkal [88].

A nem élelmiszer-specifikus terápiák célja elsősorban az allergiás immunválasz downregulációja, mérséklése. A kísérleti terápiák egyes alfajai átmeneti hatásúak, mások potenciálisan kuratívak. A nem allergén-specifikus kezelések közé tartozik az anti-IgE terápia, a toll-like receptor 9 (TLR9) agonista használata (2-es típusú T helper (Th2) válaszok csökkentése és az 1-es típusú T helper (Th1) válaszok indukálása), valamint a vazoaktív mediátorok, például a vérlemezke-aktiváló faktor blokkolása (PAF) hízósejtekből és bazofilekből.

4.1.6 A gyermekkorban előforduló táplálékallergiák összeglése

A gyermekkori táplálékallergia gyakorisága 6-8%, viszont az utóbbi években egyre erőteljesebb emelkedés figyelhető meg a betegség prevalenciájában. A gyermekkori táplálékallergiák többsége megfelelő eliminációs diéta szigorú tartásával nagyrészt kinőhető kamaszkorra (pl. tej, tojás), azonban van olyan allergén, mely egész életen át allergiás reakciót vált ki az arra érzékenyeknél. Az ételallergiák diagnosztizálásával és kezelésével kapcsolatban is vannak még megoldatlan kérdések, viszont kiemelkedő fontosságú lenne a hazai diagnosztikai és kezelési protokollok egységesítése és a nemzetközi aktuális szakmai irányelvekkel való megfeleltetése.

4.2 A gyermekkori tehéntejfehérje-allergia immunológiai háttere és terápiás lehetőségei

4.2.1 Bevezetés a TFA immunológiai hátterébe

A tehéntejfehérje-allergia állandó kihívást jelent az egészségügyi szolgáltatók és a betegek számára egyaránt. Az élelmiszer-allergiák növekvő előfordulása az iparosodott, városi környezetben, az orvosok diagnosztikai nehézségei, a megbetegedéssel összefüggő költségek [89], valamint az érintett egyének életminőségére gyakorolt jelentős hatás miatt a tehéntejfehérje-allergiával kapcsolatos kutatás fontos és szükséges a mai napig.

A TFA az allergiát kiváltó étel elfogyasztása után jelentkező reprodukálható túlérzékenységi reakció, amely rendkívül sokféle tünetet okozhat, beleértve a gyomor-bélrendszeri, légúti, bőr- és idegrendszeri problémákat is.

A TFA prevalenciája a csecsemők körében körülbelül 2-6% és az életkorral csökken, bár a tünetek bármely életkorban jelentkezhetnek [4, 5]. A betegek nagyjából 60%-ának IgE által közvetített TFA-ja van. A pontos gyakoriságot azonban nehéz nyomon követni, mivel a vizsgálatok jelentős része a páciensek szubjektív tüneteit veszi alapul, és viszonylag kevés a klinikailag igazolt TFA-t érintő vizsgálatok száma [6, 7]. Az IgE által közvetített TFA-ra vonatkozó, főleg az Amerikai Egyesült Államokból származó populációs becslések alapján a prevalencia csúcspontja az 1–5 év közötti kisgyermekkorban figyelhető meg (körülbelül 20%-ban szenzitizáltak, és a klinikai ételallergiák becsült aránya kb. 2%). A prevalencia az életkorral csökkenő tendenciát mutat, idősebb gyermekek és felnőttek körében 0,16% és 0,49% közé tehető [90].

A nem-IgE-mediált TFA epidemiológiájával jóval kevesebb tanulmány foglalkozik. Néhány nemzeti kohorszvizsgálat segít a különböző állapotok előfordulásának becslésében. A táplálékfehérje-indukált allergiás proctocolitis (FPIAP), mint a leggyakoribb nem-IgE-mediált háttérű rendellenesség, prevalenciája széles, 0,16-7%-os tartományban becsült, és a kumulatív incidenciája 17% körüli. A táplálékfehérje-indukált enteropathia (FPE) előfordulási gyakorisága idővel fokozatosan csökken, és egyes tanulmányok körülbelül 2%-os előfordulási arányt jeleznek. A táplálékfehérje-indukált enterocolitis szindróma (FPIES) ritka állapotnak számít; a kumulatív incidenciát 0,3-0,7%-ra becsülik csecsemőkorban [8]. A TFA prognózisa többnyire kedvező, és az esetek többségében iskolás korig megszűnik [8, 90].

Jelen áttekintő fejezet célja, hogy összefoglalja a TFA immunológiai hátterét, az orális tolerancia mechanizmusát, valamint a már használt vagy a még klinikai vizsgálat alatt álló lehetséges kezelési stratégiákat.

4.2.2 A tehéntejfehérje-allergia osztályozása és klinikai tünetei

A TFA két legfontosabb altípusa az allergénre adott immunológiai válasz és az azt követő tünetek megjelenése alapján az IgE- és nem-IgE-közvetített allergia. Előfordulhat ezek együttes megjelenése, a kevert mechanizmusú allergia, mely az IgE- és a nem-IgE-mediált immunválaszok ötvözete, tehát mindkét immunológiai út aktiválódik [8, 91]. Az 1. táblázatban foglaltuk össze a különböző immunológiai mechanizmusokhoz köthető tüneteket.

IgE-mediált allergiák esetén a tünetek az allergiát kiváltó étel fogyasztását követően percek alatt, de legfeljebb két órán belül megjelennek. A tünetek súlyossága enyhétől az életveszélyes anafilaxiáig terjedhet. Másrészt a nem IgE-mediált allergiás betegeknél a tünetek jelentkezése késleltetve, általában órákkal, de akár hetekkel az expozíció után jelennek meg.

A TFA okozta I. típusú túlérzékenységi reakciók különböző szervrendszereket érinthetnek, főként a bőrt, a gyomor-bélrendszert és a légutakat. Ezen állapothoz kapcsolódóan megfigyelt leggyakoribb tünetek közé tartozik az akut csalánkiütés, az angioödéma, az orális vagy egyéb testtájakon jelentkező viszketés, a duzzanat, a hányinger és/vagy hányás, a hasi fájdalom, a sípoló légzés, valamint szisztémás tünetek, mint például a hipotenzió, a hipotermia és a potenciálisan halálos anafilaxia [69, 92].

Az eozinofil gyomor-bélrendszeri betegségek (eozinofil oesophagitis, gastritis, gastroenteritis és colitis) a TFA megnyilvánulásai között külön betegségcsoportot alkotnak. Az eozinofil gastrointestinalis rendellenességek (EGID) pontos patofiziológiája jelenleg is kutatások tárgyát képezi, de jellemzően „kevert”, IgE és nem-IgE által közvetített kategóriába sorolják őket, mivel ennél a betegpopulációnál gyakran megfigyelhető allergiás szenzibilizáció [48]. A klinikai megnyilvánulások közé tartozik a hányás, gyomorégés, regurgitáció és hasi fájdalom [49]. Az eozinofil betegségek szorosan összefüggenek az allergiára való genetikai hajlammal: a betegek nagy része (körülbelül 70%) atópiás tüneteket is mutat [93].

4.2.3 A tehéntej allergén összetétele

A tehéntej teljes fehérje-összetétele két fő frakcióra osztható, amelyeket a nyerstej savanyításával nyernek (pH 4,6 20 °C-on): a kazeinfehérjéket tartalmazó alvadékra (az összes tejfehérje 80%-a) és a laktoszérumra (tejsavófehérjék, az összes tejfehérje 20%-a). A kazeinfrakció α s1-, α s2-, β - és κ -kazeint, valamint három γ -kazeint tartalmaz, amelyek a β -kazein hidrolíziséből származnak (ez utóbbi többnyire a sajtokban, nem pedig a tejben fordul elő). A kazeinek ellenállnak a hőnek, de érzékenyek az enzimatis le bomlásra. A

laktoszérum egyik legfontosabb összetevője a β -laktoglobulin, amely lineáris IgE-kötő epitópokat tartalmaz. További komponensek közé tartozik az α -laktalbumin (amely a humán megfelelőjéhez való nagy aminosavszekvencia-hasonlóság ellenére valódi, tejspecifikus epitópokat tartalmaz) és a szarvasmarha-szérumalbumin (amelynek feltehetően nemcsak a TFA-ban, hanem a marhahús-allergiában is szerepe van); végül egyes komponensek, például az immunglobulin G és a laktoferrin allergén aktivitása és klinikai jelentősége további vizsgálatokat igényel [94, 95] (3. táblázat). A kazein elleni IgE antitestekkel rendelkező betegeknél nagyobb az allergia fennmaradásának valószínűsége [80].

3. táblázat Rövid összefoglaló a főbb tehéntej-allergének jellemzőiről (Saját szerkesztésű táblázat Linhart et al. 4. oldal alapján, 2019, magyarra fordítva [95])

	Név	Molekula tömeg	Szerkezeti és funkcionális jellemzők	Allergén tulajdonságok
Tejsavó fehérje	alfa-laktalbumin (Bos d 4)	14,19 kDa	<ul style="list-style-type: none"> Nagy aminosav-szekvencia hasonlóság az emberi megfelelőjéhez Ca²⁺-kötő fehérje négy stabilizáló diszulfidhíddal 	Valódi, tejspecifikus IgE-epitópok a fehérje N- és C-terminális végén
	beta-laktoglobulin (Bos d 5)	18,3 kDa	<ul style="list-style-type: none"> Lipocalin fehérje két diszulfidhíddal (nagyfokú stabilitás a proteolitikus hasítással szemben) és egy szabad cisztein 	Az aminosavszekvenciában jelen lévő lineáris IgE-kötő epitópok
	serum albumin (Bos d 6)	67,0 kDa	<ul style="list-style-type: none"> Nagy aminosav-szekvencia hasonlóság az emberi megfelelőjéhez 	A tejfehérje-allergia mellett szerepet játszhat a marhahús-allergiában
	immunoglobulin (Bos d 7)	160,0 kDa	<ul style="list-style-type: none"> 4 polipeptid lánc, amelyek intra- és intermolekuláris diszulfid kötésekkel keresztül kapcsolódnak egymáshoz 	Az allergén aktivitás bizonytalan Az IgE a tehéntejfehérje-allergiás betegek 10-40%-ában ismeri fel
	laktoferrin (Bos d LF)	76,14 kDa	<ul style="list-style-type: none"> Vaskötő glikoprotein (antimikrobiális hatás a vas kelátképzésén és a bakteriális vasfelvétel csökkentésén keresztül) 	Ismeretlen klinikai jelentőségű, az IgE a tejfehérje-allergiás betegek 5-66%-ában ismeri fel
Kazein	alfa S1-kazein (Bos d 12)	22,89 kDa	<ul style="list-style-type: none"> Kalciumkötő foszfoproteinek Hőstabilak, de nagyon érzékenyek az enzimatis lebonlásra 	A kazein-specifikus IgE - antitestek felismerik a lineáris epitópokat
	alfa S2-kazein (Bos d 10)	24,35 kDa		
	beta-kazein (Bos d 11)	23,58 kDa		
	kappa-kazein (Bos d 12)	18,97 kDa		

4.2.4 A tehéntej feldolgozás technológiai módszereinek hatása az allergenitásra

A melegítés alapvető lépés a tej kereskedelmi forgalomba hozatalának lehetővé tételéhez a mikroorganizmusok mennyiségének csökkentése vagy azok eltávolítása miatt; pasztörözésnél a forráspont alatti hőmérsékletet alkalmazzák, míg az ultramagas hőmérsékletű feldolgozásnál 100 °C-ot meghaladó hőmérsékletre hevítik a tejet. A porított, tejalapú anyatej-helyettesítő tápszert párologtatással állítják elő, amely során a magas hőmérsékletnek való kitettség általában rövid ideig tart. Úgy tűnik azonban, hogy a melegítés mérsékelt hatással van a tejfehérjék allergén potenciáljára, bár egyes szerzők a tejsavófehérje allergenitásának csökkenését tapasztalták. A magas hőmérséklet csak a konformációs epitópokat módosíthatja, míg a lineáris epitópok érintetlenek maradnak; így továbbra is képesek megőrizni allergén potenciáljukat.

A hidrolízist a tejfehérjék allergenitásának megváltoztatására használják, de csak a nagymértékben hidrolizált tápszerek tekinthetők biztonságosnak a tehéntejfehérje-allergiában szenvedő betegek számára (ellentétben a részlegesen hidrolizált termékekkel). Az ultrafiltráció (amely eltávolítja a proteolízis után a szűrletben maradt emésztetlen fehérjéket) és a hidrolízis kombinációja tovább javíthatja a hipoallergén termékek biztonságos alkalmazását [95].

A TFA-s betegek egy csoportja képes tolerálni a hőkezelt tejet sült termékekben vagy pékárukban, mivel ebben a betegpopulációban több Treg-sejtet és alacsonyabb tejspecifikus IgE-szintet mutattak ki [51, 93, 96]. Azon betegcsoportnál jellemző a sült, vagy magas hőmérsékleten hőkezelt tejszármazékok toleranciája, akik a tejsavófehérjékre (laktalbumin, laktoglobulin) allergiások, mivel hőre labilis konformációs epitópokat tartalmaznak, melyek denaturálódnak magas hő hatására- szemben a tej kazeinfrakciójára allergiásokkal, mivel a kazein szekvenciális, hőálló epitópokat tartalmaz, melyek hőkezelést követően is allergiás reakciót váltanak ki az arra érzékenyeknél [52]. A tejfehérjék és az élelmiszer-mátrix egyes komponensei (pl.: búza) közötti kölcsönhatás egy további tényező, amely valószínűleg a „sült tejtermékek” csökkent allergenitásával hozható összefüggésbe; a mátrixba ágyazott tejeredetű allergének következetesen csökkentett allergenitást mutattak a csupán hőkezelt tejhez képest [97].

4.2.5 A tehéntejfehérje-allergia kóréletana és az orális tolerancia kialakulásának háttere

4.2.5.1 IgE-mediált tejfehérje-allergia

Az ételallergia patogenezisének kulcsfontosságú eleme az orális tolerancia (fiziológiás immunológiai reakcióképtelenség) hiánya az élelmiszer-allergénekkal szemben.

A szenzitizáció a tünetekkel járó ételallergia kialakulásának megelőző lépése, és a „kettős allergén expozíciós hipotézis” számos fontos mechanizmusára világít rá, amelyek az ételallergia kialakulásához vezetnek. Ellentétben a szenzitizációról szóló korábbi elmélettel, amely a bélben (anyatejjel vagy szájon át fogyasztott táplálékkal) az étrendi antigéneknek való kitettség szerepét hangsúlyozta, egyre több bizonyíték utal arra, hogy a korai életkorban a bőrön keresztüli allergénexpozíció fontos szerepet játszik az ételallergia későbbi megnyilvánulásában, míg a korai orális expozíció toleranciát alakíthat ki [98, 99]. A pontos mechanizmus, melyen keresztül a bőr eredetű Th2 mediált immunválasz elérheti a bélrendszert, továbbra sem tisztázott, bár (állatmodellek alapján) feltételezhető, hogy a bőr dendritikus sejtjei (DC-k) retinsav termelésén keresztül stimulálják az allergén-specifikus T-sejtek intestinalis homing markereinek expresszióját [100, 101].

Az élelmiszer-antigének az emésztés során peptidekre és aminosavakra bomlanak; kis részük azonban ép formában eljuthat a bélhámába, ami lehetővé teszi az antigénprezentáló sejtekkel való interakciót.

Az étrendi antigének méretüktől és oldhatóságuktól függően képesek átjutni a bélhámán, hogy ezt követően passzív vagy aktív transzport útján jussanak el a nyálkahártyában található antigénprezentáló sejtekhez. A passzív transzport, más néven paracelluláris diffúzió, akkor történik, amikor egy élelmiszer-antigén áthalad két szomszédos enterocytá között.

Homeosztatisz körülmények között az enterocyták közötti szoros kapcsolatok (tight junction-ök) megakadályozzák az antigének paracelluláris átjutását. Az ép antigén fokozott transzportja a hámsejteken keresztül annak allergén aktivitásával függ össze.

Az aktív rendszer különböző sejt típusokon keresztül megy végbe. A microfold (M) sejtek lapított hámsejtek, amelyek a Peyer-plakkokat fedik; az ezeken a sejteken keresztül történő mintavétel az IgA termelés indukciójával jár együtt, amely kritikus szerepet játszik a bél lumenében. A kehelysejtek az oldható antigéntranszportban is részt vesznek azáltal, hogy kehelysejt-asszociált antigén passzázsokat (GAP) hoznak létre, amelyek azután antigéneket juttatnak el a CD103+ CX3CR1-dendritikus sejtekhez, mely egy, a tolerancia kialakulásához kapcsolódó DC alcsoport. A mucin szekréciója növeli az antigén transzportját a kehelysejteken keresztül és felvételét a fent említett DC alcsoport által [102];

emellett a hiperglikozilált mucin MUC2 kondicionáló hatást fejt ki a CD103+ DC-k és a bélhámsejtek szabályozó fenotípusa felé [103].

A CX3C receptor 1 expresszióval rendelkező speciális makrofágok képesek transzepiteliális dendriten vagy fagocitózison keresztül a DC-kre továbbítani a befogott antigént, hogy a mesenterialis nyirokcsomókba (MLN-ek) szállítsák, ahol az elsődleges immunválaszban részt vevő sejteket, például a lamina propria DC-ket aktiválja [104]. A lamina propriában található CD103+ dendritikus sejtek képesek elősegíteni a naiv T-sejtek differenciálódását antigén-specifikus forkhead box P3 (FOXP3+) szabályozó T (Treg) sejtekké, valamint feltehetőleg FOXP3-, IL-10-szekrúciós, 1-es típusú szabályozó T-sejtekké is [78, 101, 103, 105].

A TGF β -t expresszáló Th3 sejtek, amelyek bizonyos átfedő funkciókat és lehetséges plaszticitást mutatnak a Foxp3+ T sejtekkel, az antigén bejutása után indukálódnak. A Tr1 sejtek az IL-10 révén immunszuppresszív hatást fejtenek ki, így képesek megakadályozni a vastagbélgyulladást, bár pontos szerepük az orális toleranciában az ellentmondásos kutatási eredmények miatt még nem határozható meg [103].

Az antigének szállítása a másodlagos lymphoid szövetekbe, például a MLN-kba vagy a Peyer-plakkokba, elősegíti a toleranciát, bár ezen másodlagos lymphoid szervek pontos jelentőségének meghatározása további vizsgálatokat igényel [106-108].

A fehérjék nagyon kis része (becslések szerint 2%) sértetlen formában halad át a bélhámra, amely azután a májba vagy a másodlagos lymphoid szövetekbe kerülhet antigénprezentáció céljából [102]. Nagy dózisú antigénexpozíció után a májban és a MLN-kban lévő plazmacitoid DC-k által közvetített mechanizmuson keresztül az antigén-specifikus CD8+ és CD4+ T-sejtek deléciója orális toleranciát vált ki. [109, 110].

Több Treg populáció játszik szerepet az orális tolerancia kialakulásában, különösen az antigén-specifikus CD4 + CD25 + Foxp3 + Treg – a Treg alcsoportok legszélesebb körben tanulmányozott és ismert csoportja –, amely döntő szerepet játszik az intesztinális tolerancia létrejöttében [111].

Az orális tolerancia komplex kialakulásának másik tényezője a Treg sejtek bélbe való bejutása, amelyet a CD103+ DC-k által termelt retinsav és az ezt követő $\alpha 4\beta 7$ integrin expressziója segít elő. Egy humán vizsgálat, amely a Treg sejtek alapvető szerepét hangsúlyozza, kimutatta, hogy a Foxp3 lókuszt hipometilációja megnöveli a transzkripcióhoz való hozzáférést azoknál a betegeknél, akik kedvezően reagálnak az orális immunterápiára (funkcionális tolerancia kialakítása és fenntartása) [101].

Egyre több tanulmány világít rá a szájüregi immunszövetek, illetve a mandulák potenciális szerepére az orális tolerancia kialakulásában. A CD4+ Foxp3+ Treg és

allergénspecifikus Treg sejtek anatómiai elhelyezkedése és mennyisége azt jelzi, hogy a mandulák jelenthetik az élelmiszer-allergénnel szembeni orális tolerancia indukciójának első állomását [112].

A szabályozó Treg sejtek indukciója mellett az anergia (az antigénre való válaszképtelenség) és a T-sejt depléción (antigén-specifikus T-sejtek apoptózisa) is olyan mechanizmusok, amelyek révén orális tolerancia érhető el. Az előbbi jelenség nagy dózisu antigén expozíció után, míg az utóbbi alacsony dózisu expozíció után következik be [103].

Az IgE-mediált ételallergiában szenvedő betegeknél a fiziológias tolerancia zavart szenved, például patogén-asszociált molekuláris mintázatoknak (PAMP) vagy epitheliális károsodásnak való kitettség után, ami IL-25, IL-33 és thymus stroma limfopoietin (TSLP) termelődéséhez vezet.

Ezek a változások módosítják a Treg-sejtek indukcióját, amelyek helyett antigén-specifikus Th2 sejtek termelése veszi kezdetét. A Th2 sejtek IL-4 termelésén keresztül stimulálják a B-sejteket, ami immunglobulin E termelést és hízósejt-expanziót eredményez. A tolerogén Treg funkciót az IL-4 elnyomja, és végül ezeket a sejteket átprogramozzák, hogy maguk is termeljenek IL-4-et, így tolerogénből patogén funkció alakul ki [113].

Az IL-4-et és IL-13-at szekretáló, 2-es típusú veleszületett lymphoid sejtek (Th2-szerű sejtek antigénspecifitás nélkül), tovább gátolják a Treg-aktivitást [78]. A szekretált IgE a bazofilek és a hízósejtek felszínéhez kötődik. Ha a beteg ismételtén érintkezik az élelmiszer-antigénnel, az a hízósejtek és a bazofil sejtek felszínén lévő Fcε receptorokhoz kötődő élelmiszer-specifikus IgE-t köti meg, ami a korábban említett veleszületett immunsejtek degranulációjához vezet. Az allergiához kapcsolható mediátorok, például a hisztamin felszabadulása felelős az azonnali allergiás reakciók kialakulásáért [114].

4.2.5.2 Nem-IgE-mediált tejfehérje-allergia

A nem-IgE által közvetített TFA molekuláris háttere sokkal kevésbé ismert, mint az IgE által közvetített variánsé. Feltételezhető, hogy a keringő sIgE hiányában a sejtes immunitás a kulcstényező az allergiás reakciókban, bár korábban már leírták a lokális, intesztinális IgE választ [115].

Korábbi kutatások élelmiszer-specifikus T-sejtek jelenlétét mutatták élelmiszer-fehérje által kiváltott enterocolitis szindrómában (FPIES), de szerepüket pontosan még nem azonosították. Bár a Th2-válaszokat általában az IgE által közvetített allergiával összefüggésben írták le, feltételezhető szerepük FPIES-ben (fokozott IL-4, IL-5, IL-9 és IL-13 termeléssel) az atópia, mint társbetegség magas arányával magyarázható [116].

Tanulmányok kimutatták, hogy a veleszületett immunrendszer (monocyták, neutrofilek, eozinofilek és természetes ölősejtek (NK)) széles körben aktiválódik FPIES-ben szenvedő betegeknél orális táplálékprovokáció („oral food challenge”, OFC) után. Valószínűsíthető, hogy a hízósejtek az allergiás tünetek kialakulásában is szerepet játszanak, amint azt az in vitro megfigyelt IL-9 termelés és a pozitív ételterhelést produkáló FPIES-páciensek szignifikánsan magasabb kiindulási triptáz szintje jelzi. A magasabb IL-8 szint ebben a betegcsoportban neutrofil aktivációt jelez [8, 47].

A jejunális nyálkahártya szerkezeti károsodása és a következményes felszívódási zavar az élelmiszerfehérje által indukált enteropátia (FPE) fontos jellemzői, amelyeket az élelmiszer-specifikus T-sejtek (elsősorban citotoxikus CD8 + T-sejtek) infiltrációja okozhat [8, 117].

Az élelmiszerfehérje által indukált allergiás proctocolitisre (FPIAP) jellemző a rectosigmoid nyálkahártya sűrű eozinofil infiltrációja. Mivel ez a betegség túlnyomórészt a szoptatott csecsemőket érinti, az anyatej immunológiai komponenseinek lehetséges szerepe és étrendi fehérjékkel való kölcsönhatása szerepet játszhatnak az állapot kialakulásában [49].

Az eozinofil gastrointestinalis rendellenességeket a nyelőcső, a gyomor, a vékonybél vagy a vastagbél kóros eozinofil beszűrődése jellemzi, ami az érintett szervek diszfunkciójához és klinikai tünetek megjelenéséhez vezet. Bár ezen állapotok patomechanizmusa még további tisztázásra szorul (az eozinofil nyelőcsőgyulladás a legtöbbet vizsgált altípusa ezeknek a betegségeknek), a rendelkezésre álló adatok allergiás (általában élelmiszer-allergének által kiváltott) háttér kóros szerepét vetik fel, mely kevert immunológiai mechanizmusok (IgE- és nem-IgE-mediált) által jön létre [49].

A Th2 válasz központi szerepét igazolták az eozinofil oesophagitis patogenezisében, olyan mediátorok felszabadulásával, mint a TSLP, IL-4, IL-5, IL-13, TGF β és eozinofil kemokinek (eotaxin 1-3) /CCL11-CCL24-CCL26 és RANTES/CCL5) [118]. Eozinofil oesophagitisben szenvedő betegeknél leírták, hogy az invariáns citotoxikus T-sejtek (iNKT-k) - a tehéntejben lévő szfingolipidek által aktivált T-sejtek alcsoportja, amely általában az IgE által közvetített ételallergiával fordul elő - perifériásan alacsonyabb és a nyelőcsőben magasabb szintet mutat [93, 119].

A TFA-t számos, nem specifikus tünettől, például allergiás diszmotilitással (GERD, diszpepszia és székrekedés) hozták összefüggésbe, azonban a mögöttes patomechanizmusok részleteiben továbbra sem ismertek. Állatmodelleken végzett vizsgálatok azt mutatják, hogy az allergiás reakcióknak jelentős moduláló szerepük van az intesztinális motilitásban. Az élelmiszer-allergénekre adott Th2-domináns válasz IL-4 és IL-13 felszabadulását idézi elő, amelyek TGF β -upreguláción keresztül megváltoztatják a simaizom-motilitást és a spontán

kontraktilitást [120]. Egy másik állatkísérlet eredményei szerint, az IgE-degranuláló hízósejtek szöveti infiltrációja a nyálkahártyában és a MLN-kban laza székletet és elégtelen súlygyarapodást okoznak [121]. Atópiás betegekben a hízósejtek képesek a bélben szenzomotoros diszfunkciót generálni, így szerepet játszanak az atópiás betegek funkcionális diszpepsiájában is [93, 122].

4.2.6 Diagnózis: jelenlegi gyakorlat és jövőbeli lehetőségek

A TFA diagnózisának kezdeti lépései az alapos klinikai anamnézis felvétele (lehetőleg nyitott kérdések feltétele) és a fizikális vizsgálat elvégzése. Ha IgE-mediált allergia gyanúja merül fel, a specifikus szérum IgE-szint (sIgE) mérése és a Prick teszt (SPT) elvégzése a következő lépés, bár meg kell jegyezni, hogy ezek a tesztek önmagukban nem elegendők a TFA diagnózisának felállításához [69, 123].

Az SPT negatív prediktív értéke magas, de a pozitív teszt nem alkalmas a tejfehérje-allergia diagnózisának megerősítésére; szenzitizációt is jelezhet. Az allergén kivonatot egy kis lándzsa hegyére visszük fel, amely áthatol a hámrétegen, és hízósejtek degranulációját okozza az erre érzékeny egyéneknél, ami csalánkiütés-szerű bőrjelenségek formájában jelentkezik [101].

A specifikus szérum IgE-szint (sIgE) mérésének fő előnye, hogy a sIgE-koncentrációk korrelálnak az allergénre adott klinikai reakció lehetőségével és súlyosságával, bár a pontos küszöbértéket nehéz meghatározni (a szintek az életkortól és az allergén típusától függően változnak) [78].

Az ezt követő orális táplálékprovokáció előtt - amely napjainkban is az élelmiszer-allergia diagnózisának aranystandardja -, a fent említett diagnosztikai módszerek kockázatbecslésre (pl. anafilaxia valószínűsége) alkalmasak.

Az orális táplálékprovokáció során a feltételezett allergén növekvő dózisait szájon át adják a páciensnek a klinikai tünetek megjelenéséig vagy a maximális tolerálható dózis eléréséig [101].

A DBPCFC az egyik legjobb módszer a diagnózis felállítására, de a magas költségek és időigényessége miatt ritkán használják a mindennapi klinikai gyakorlatban. Ezen túlmenően a szájon át történő táplálékprovokációt speciális kórházi osztályon kell elvégezni, ahol a személyzet és a felszerelés is alkalmas az akut allergiás reakciók azonnali kezelésére.

A FC-t az elmúlt évtizedekben sikeresen alkalmazták a gyomor-bélrendszeri gyulladások diagnosztizálására és monitorozására, mivel ennek a biomarkernek a mennyiségi meghatározása egyszerű, gyors és viszonylag olcsó eljárás. Amint azt néhány

tanulmány nemrégiben bebizonyította, értékes eszköze lehet a nem-IgE-mediált TFA diagnózisának megerősítésében [39, 124].

Ígéretes módszer az ételallergiák pontosabb és objektívebb diagnosztizálására a komponens-alapú allergiateszt. Ebben a módszerben tisztított vagy rekombináns allergéneket használnak az allergén-specifikus IgE és IgG4 antitestek azonosítására [125, 126].

Gyermekpopulációban a módszer legnagyobb előnye a hagyományos tesztekhez képest, hogy a vizsgálat elvégzéséhez kisebb mennyiségű vérszérum is elégséges; akár a kapilláris vérvétel is megfelelő. Mivel a korábbi vizsgálatok eredményei ellentmondásosak, így további vizsgálatok szükségesek a módszer hatékonysága és a hagyományos sIgE-mérésekkel, valamint az SPT-vel szembeni lehetséges fölényének igazolására. Az egyik figyelemre méltó terület, ahol a komponens-alapú diagnosztika előnyös lehet a TFA-ban szenvedő betegek számára, a sütéssel hőkezelt vagy nyers tejre való allergiás reakciók megkülönböztetése, így meghatározva a prognózist és a tejtoleranciát kiváltó intézkedéseket [127].

A bazofil aktivációs teszt (BAT) ígéretes, biztonságos, in vitro diagnosztikai módszer; bár jelenleg leginkább kutatási környezetben használják, javíthatja az IgE-mediált ételallergiák diagnosztikai pontosságát. A BAT során a bazofilek aktiválása az IgE-receptoron keresztül a felszíni markerek (CD63 és CD203c) növekedéséhez vezet, amelyek expressziós szintjét áramlási citometriával mérik [101, 114].

4.2.7 Kezelési lehetőségek – jelen és jövő

A TFA kezelésének legszélesebb körben elfogadott és leggyakrabban alkalmazott koncepciója a „passzív” megközelítés, amely a tehéntej és a tejtermékek teljes kiiktatását jelenti a beteg étrendjéből. Míg a szigorú eliminációs diéta betartása a legtöbb esetben a tünetek megszűnéséhez vezet, a potenciálisan életveszélyes reakciók kockázata, valamint az érintett egyének táplálkozási állapotára és általános életminőségére gyakorolt esetleges negatív hatás indokolja az újabb, proaktív [128, 129] szemléletű terápiás lehetőségek feltérképezését.

A csecsemők szoptatása folytatható, ha az anya vállalja a szigorú eliminációs diéta tartását, így kiküszöbölhető a csecsemő anyatejjel történő allergénnek való kitettsége. A szoptatás bármely okú sikertelensége esetén extenzíven hidrolizált tápszerre (EHF), vagy a TFA legsúlyosabb eseteiben aminosav alapú tápszerre (AAF) való váltás javasolt [128, 129]. A hidrolizálásnak köszönhetően az IgE-kötő epitópok „eltűnnek”, így megakadályozzák az allergiás reakció létrejöttét [128]. A hidrolizált peptidek aktív immunmoduláló hatást

fejtenek ki: in vitro és ex vivo vizsgálatokban is megfigyelték, hogy erősítik az epiteliális barriert a szabályozó citokinek (IL-10) mennyiségének növekedésével és a gyulladásos mediátorok (ciklooxygenáz 2/COX-2/, NF- κ B, IL-8) szintjének csökkenésével [129, 130]. Kísérletes vastagbél-gyulladásos állatmodellekben a Fox3+ Treg sejtek számának növekedését is megfigyelték a MLN-kban, kazein-hidrolizátum beadása után.

Idősebb gyermekeknél standard eliminációs diéta tartása és súlyos, IgE-mediált allergia fennállásakor, az esetleges véletlen allergénbevitel esetén adrenalin-autoinjektor használata szükséges a remisszió fenntartásához és az életveszélyes reakciók hatékony mérsékléséhez; azonban a hangsúly azon terápiás lehetőségek felé tolódik el, amelyek esetleg elősegíthetik a tartós immunológiai válaszképtelenség vagy akár a valódi tolerancia állapotának kialakítását.

4.2.7.1 Immunterápia TFA-s gyermekek körében

Az élelmiszerallergiák, így a TFA immunterápiája is az allergén beadási módja alapján osztályozható: az OIT az allergén szájon át történő bevitelét igényli; a SLIT jellemzője, hogy az allergént 2 percig a nyelv alatt tartják; az EPIT pedig egy allergén tapasz bőrre történő felhelyezésén alapul [78, 131] (2. táblázat).

Az OIT-t omalizumabbal kombinálva vizsgálták annak érdekében, hogy növeljék a módszer hatékonyságát, enyhítsék a mellékhatások súlyosságát, és elősegítsék a fenntartó dózis gyorsabb elérését [78, 81, 82]. Mivel ezen kezelési stratégiával kapcsolatban viszonylag kevés multicentrikus vizsgálat zajlott le, a határfok pontosabb értékelése érdekében további vizsgálatokra van szükség [83-85].

A SLIT és EPIT alkalmazását TFA-ban szenvedő betegeknél alig vizsgálták kellő részletességgel. Bár ezeknél a módszereknél ritkábban jelentkezik mellékhatás, nem áll rendelkezésre elegendő adat a hatékonyságuk megbízható értékeléséhez [86-88]. Korábbi szakirodalmi adatok szerint a SLIT nem érte el az OIT hatékonyságának szintjét, bár enyhébb, főként lokális mellékhatásokkal járó magasabb tolerált allergén dózis volt elérhető [88].

Egy tejfehérje-allergiás betegek bevonásával, az EPIT hatékonyságának és biztonságosságának értékelésére készült, kis elemszámú kísérleti tanulmány kimutatta annak lehetőségét, hogy súlyos reakciókban (pl. anafilaxia) szenvedő betegek részesüljenek ebből a terápiás lehetőségéből, amely után kevesebb mellékhatással tolerálhatják az OIT-t [128].

A nem-IgE-mediált TFA prognózisa kedvező, bár az orális tolerancia minél gyorsabb elérése ebben a betegcsoportban is észszerű célkitűzés lehet a terápiás megközelítésben. Egyes tanulmányok az eliminációs étrend mellett alkalmazott probiotikumok jótékony

hatását említik a tolerancia megszerzésében [128, 132-134]. A nem-IgE-mediált TFA patofiziológiájának pontosabb megértése további lehetséges terápiás célpontokra is fényt deríthet.

4.2.8 A tejszfehérje-allergia háttérében húzóóó immun-mechanizmusok összegzése

A tehéntejszfehérje-allergiás gyermekek számának folyamatos növekedése egyre nagyobb terhet jelent az egészségügyi szektorra, a gyermekekre és családjaikra, ami felhívja a figyelmet az ezen a területen folyó kutatások jelentőségére. A TFA patomechanizmusának molekuláris szintű, mélyebb megértése elősegítheti új potenciális terápiás célpontok felismerését a jövőben.

Míg az IgE-mediált allergiás reakciók molekuláris jellemzőit megfelelő részletességgel írták le, a nem-IgE által közvetített allergiás reakciók és a kevert allergiás betegségek néhány mechanizmusa továbbra is ismeretlen, emiatt további kutatásokra van szükség a diagnosztikai módszerek és terápiás lehetőségek szélesebb spektrumának feltárása és megértése érdekében.

Napjainkban paradigmaváltás zajlik (a „passzívról” a „proaktív” kezelésre) a TFA terápiás megközelítését illetően, ami rávilágít a tehéntej-fogyasztásához kapcsolódó különféle immunológiai mechanizmusok alaposabb megértésének jelentőségére. A TFA kialakulásának mechanizmusaira vonatkozó átfogó ismeretek még tovább javíthatják a jelenlegi prevenciósi stratégiákat.

5. Tanulmány a gyermekkori tehéntejfehérje-allergia diagnosztikai kihívásairól

5.1 Bevezetés

A tehéntej allergia a tehéntej fehérjére adott hiperszenzitív reakció, mely többféle klinikai formában jelenhet meg. Megkülönböztetünk IgE-mediált, nem-IgE-mediált és kevert formákat, melyek egymásba átalakulhatnak [135]. Az entitás prevalenciája csecsemőkorban 2-6%, és bár az életkor előrehaladásával a gyakoriság csökken, a TFA bármely életkorban kialakulhat [5, 19, 50, 136, 137]. A prognózis, mint a 4.1.3.1 fejezetben bemutatásra került, jónak mondható, néhány év szigorú eliminációs diétát követően az esetek túlnyomó többségében kialakul az allergénnel szembeni tolerancia [5, 19, 50]. Klinikailag leggyakrabban gastrointestinalis, bőr- és légúti tünetek, valamint viselkedésbeli eltérések formájában jelentkezhet.

A kórkép diagnózisában a klinikai tünetek mellett a széklet okkult vérzés kimutatása, serum IgE-szint meghatározás, későbbi életkorban nutritív Prick teszt a leggyakrabban alkalmazott vizsgálati módszerek, ritkábban LTT-t végeznek az allergia kimutatására [138].

A klinikai gyakorlatban a fenti tesztek negatív eredménye esetén sok esetben elvetik a táplálék-allergia diagnózisát. Fontos azonban megjegyezni, hogy a táplálékterheléssel összehasonlítva a Prick tesztnek és a specifikus IgE vizsgálatnak specifitása és pozitív prediktív értéke alacsony, szenzitivitása és negatív prediktív értéke azonban magas [16], valamint, hogy az LTT IgE-mediált táplálékallergia fennállásának bizonyítására nem javasolt [123], így önmagukban elvégezve a diagnózis felállításához történő alkalmazásuk nem célszerű [16-18].

A TFA jellegzetes klinikai tünetei között említhetjük a gastrointestinalis, bőr- és légúti érintettséget, valamint a viselkedésbeli eltéréseket. A TFA egyik leggyakoribb megjelenési formája az allergiás bélgyulladás, melynek következményei a hasfájás, a – gyakran véres – hasmenés, esetleg szorulás, puffadás, hányás. A tejfehérje-mentes diéta alkalmazása jelentős javulást eredményez ezen tünetekben, ugyanakkor azok regressziója nem objektív mutatója az allergiás colitis gyógyulásának [42]. A kalprotektin székletből való kimutatása non-invazív módon nyújt információt a colitis fennállásáról és annak súlyosságáról. TFA-s betegek esetében kevésbé elterjedt mérési módszer, vizsgálataink tervezésekor igen kis számú tanulmány állt rendelkezésre a FC kimutatás diagnosztikus és prognosztikus értékéről TFA-s gyermekpopulációban [38, 39, 139].

Az elmúlt 25 évben nagy szerephez jutott a gastrointestinalis gyulladások diagnosztikájában a kalprotektin. Az említett biomarker mennyiségi meghatározása

egyszerű, gyors és viszonylag olcsó eljárás. A kalprotektin (ismert még MRP8/14 vagy S1000A8/A9 néven is) egy 36 kDa molekulású, kalcium- és cinkkötő fehérje, az S-100 fehérjecsalád tagja, melyet először fehérvérsejtekből izoláltak. A neutrofil granulocyták citoszol fehérjéinek 60%-át alkotja, de a monocyták és makrofágok is nagy mennyiségben tartalmazzák, így az egész emberi szervezetben fellelhető, vérplazmában, vizeletben, agyvízben, székletben, nyálban és a szinoviális folyadékokban is [35, 36, 140]. Számos élettani folyamatban játszik szerepet, a gyulladásos folyamatokban aktív mediátor, valamint a neutrofil granulocyták migrációjában, adhéziójában, fagocitózisban és kemotaxisban való részvételét is fokozza. Tekintettel arra, hogy a széklet a bélnyálkahártyával közvetlen kontaktusban áll, a széklet kalprotektin sokkal érzékenyebb jelzője a bélgyulladásnak/bélkárosodásnak, mint a szérumban mérhető biomarkerek. Ez az egyszerű, non-invazív és költséghatékony teszt a legszélesebb körben használt diagnosztikus módszer a bélgyulladás kimutatására és monitorozására [37, 141].

Tehéntejfehérje-allergiás gyermekek esetében gyakran megfigyelhető, hogy a szervi eltérések mellett magatartásbeli problémák is jelentkeznek: a szülők gyakran figyelemzavarról, fokozott impulzivitásról, alvászavarról számolnak be, melynek biológiai háttere pontosan nem ismert. ADHD-s gyermekek esetében több tanulmány felveti a a tehéntejfehérje-mentes diéta jótékony hatását [31, 32, 142]; azonban fordított összefüggésben, miszerint a tehéntejfehérje allergiás gyermekek magatartászavara a diéta bevezetése után jelentős javulást mutat, egyelőre nem áll rendelkezésre átfogó vizsgálat.

A viselkedésbeli probléma biológiai háttere, illetve a tejfehérje kóroki szerepe nem tisztázott; legjobb tudomásunk szerint csekély számú tanulmány található az irodalomban, amely ezen összefüggést vizsgálja. Hipotézisünk szerint a CRH-ACTH-kortizol tengely, illetve az allergiás folyamatokban jelen lévő mediátorok, mint pl. a szerotonin és a hisztamin, szerepet játszhatnak a hiperaktivitás, koncentrációs nehézségek és az alvászavar kialakulásának patomechanizmusában.

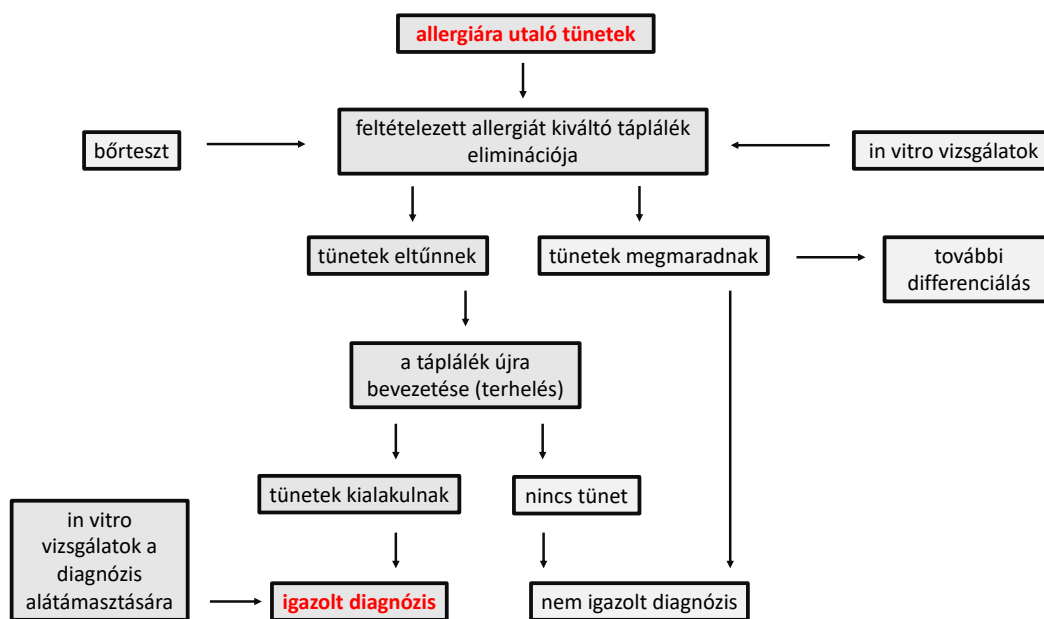
Humán részkutatásunk célja a gyermekkori TFA által indukált komplex élettani- és pszichológiai folyamatok pontosabb megértése volt. A mérések és a kérdőívek kiértékelésének segítségével mértük fel, hogy milyen organikus és esetlegesen pszichés eltérések jelentkeznek TFA-ban, és ezekre milyen hatással van a tejfehérjementes diéta bevezetése. A betegség több aspektusára kiterjedő, átfogó vizsgálatot végeztünk el. Longitudinális vizsgálatunk célja az volt, hogy megfigyelhessük, a tejfehérjementes diéta jótékony hatása hogyan monitorozható objektív paraméterek segítségével.

5.2 Módszer

5.2.1 Minta

Longitudinális vizsgálatunk során a mintagyűjtésre 2017. februárja és 2017. decembere között került sor a Tolna Vármegyei Balassa János Kórház gyermek-gasztroenterológiai szakrendelésén, Szekszárdon. A vizsgálati populáció 1-18 éves, TFA gyanúját felvető tünetekkel rendelkező csecsemők, gyermekek, serdülők csoportja.

A beteg kiválasztás módja nem véletlenszerű, célirányos, szakértői mintaválasztás volt. Kizárási kritériumként a következő betegségek fennállását jelöltük meg: IBD (Crohn betegség, colitis ulcerosa), cöliákia (CD), szénhidrát emésztési - vagy felszívódási zavar. A vizsgálatban való részvételhez szóbeli és írásos tájékoztatást követően, beleegyező nyilatkozatot tettek a gyermekek szülei/törvényes képviselői. A részvétel teljesen önkéntes volt és a vizsgálatot indoklás nélkül bármikor megszakíthatta a vizsgálatban résztvevő gyermek, vagy a szülő/törvényes képviselő. Az adatok kezelése és tárolása anonim módon történt. A diagnózis felállításához az 1. ábra szerinti diagnosztikai algoritmust vettük alapul [9, 19].



1.ábra: Diagnosztikai algoritmus a táplálékallergia igazolására (Saját szerkesztésű ábra Dr. Polgár Marianne Adverz Táplálékreakciók, 1997 könyv alapján [5])

A mintagyűjtés két lépésben zajlott, a résztvevők azonban háromszor látogattak el a gyermek-gasztroenterológiai szakrendelésére. Az első vizit alkalmával tehéntejfehérje-allergiára utaló tüneteket mutató betegek jelentkeztek az ambuláns ellátásra, ahol a résztvevő gyermekek és szülei/törvényes gondviselőik teljes körű szóbeli és írásbeli tájékoztatást kaptak a vizsgálat felépítéséről és a mintavételi módszerekről. Ezen megjelenéskor nutritív

Prick teszt, valamint LTT elvégzése céljából vérvétel történt, emellett a diéta megkezdése előtt nyál- és székletmintákat gyűjtöttünk. Az első látogatást követő 72 órában megtörtént a székletminták és a szülők/gondviselők által kitöltött, saját szerkesztésű kérdőívek begyűjtése. A széklet mennyiségét ellenőriztük, és ha a bemutatott mennyiség nem bizonyult elegendőnek a későbbi diagnosztikai elemzéshez, 24 órán belül új minta benyújtását kértük.

Egy hónapig tartó, szigorú tejmentes diétát követően kértük a szülőket, hogy vezessenek vissza a gyermek étrendjébe tejfehérje tartalmú élelmiszert; a tapasztalatokat egy újabb kérdőív segítségével rögzítettük [19]. Ha a gyermek az eliminációs diéta alatti panaszmentes időszak után a tejtermékek fogyasztását követően tüneteket mutatott, TFA diagnózisát állapítottuk meg, és a gyermeket bevontuk a végső vizsgálatba.

Három hónapos szigorú eliminációs diéta után ismételt biológiai minták levétele, illetve összegyűjtése történt, hasonlóan az első alkalomhoz, hogy az eliminációs diéta hatékonyságát objektív paraméterek segítségével ellenőrizni lehessen; emellett egy harmadik kérdőívet is kitöltöttek a szülők a gyermek aktuális egészségi állapotáról és az eliminációs diétával kapcsolatos tapasztalatokról.

Az 55 vizsgálatba bevont gyermek közül nyolcan (14,55%) nem teljesítették a feltételeket, így ők nem vehettek részt a kutatásban, tehát vizsgálatunkban 47 (fiú: 57,4%, átlag életkor: $7,36 \pm 4,22$ év) gyermek biológiai mintáit dolgoztuk fel. A kizárás okai: hiányosan kitöltött kérdőív ($n=1$, 1,82%); a biológiai minták hiánya, vagy nem megfelelő mennyisége ($n=3$, 5,45%); az egy hónapos eliminációs diéta, majd a tejfehérjével való visszaterhelés során nem igazolódott az allergia ($n=1$, 1,8%); a kutatásban való részvétel önkéntes visszamondása ($n=3$, 5,5%). A teljes mintából ($n=47$) a viselkedésbeli eltéréseket vizsgáló részkutatásunkban további 4 (8,5%) kisgyermeket zártunk ki, mert velük kapcsolatban a DSM-5(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders/ Mentális zavarok diagnosztikai és statisztikai kézikönyve) ADHD-tünetlista alapján összeállított kérdőív nem volt alkalmazható (3 év alattiak voltak, vagy nem jártak még közösségbe). IBD, cöliákia, valamint szénhidrát emésztési - vagy felszívódási zavar miatt nem volt szükség a vizsgálatból való kizárásra.

5.2.2 Prick teszt

A Prick teszt egy gyors és egyszerű mód különböző allergénekre adott túlérzékenységi reakció diagnosztizálására. Leginkább az I. típusú (IgE-mediált) allergiás reakciók, főleg a légúti allergének kimutatására alkalmas módszer, de táplálékallergia fennállásának gyanúja esetén is az első diagnosztikai módszerek közt szerepel. Az alkar hajlító felszínére, a csuklótól és a könyökhajlattól legalább 2-3-cm-re cseppentettük a nutritív allergén kivonatokat (negatív és pozitív kontrollal együtt), majd a cseppek alatti bőrfelületet prick lándzsával megsértettük, ezáltal az allergén a mélyebb hámrétegekbe is bejutott. A vizsgált bőrfelületet 15 perc elteltével ellenőriztük. Amennyiben az allergiás göb átmérője meghaladta a 3 mm-t, az eredményt pozitívnak értékeltük [143].

5.2.3 Lymphocita-transzformációs teszt

Az LTT elsősorban gyógyszerallergiák kimutatására szolgáló in vitro eljárás, de táplálékallergiák diagnosztikájában is alkalmazható [5, 19, 138]. A gyermekekből nyert alvadásgátolt (citrát, heparin vagy EDTA) vérmintákból, sűrűség-grádiens centrifugálás útján mononuclearis sejteket izoláltunk, melyeket kereskedelmi forgalomban kapható tehéntej 10x és 100x hígításában, standardizát körülmények között (37 °C, 5% CO₂, 72 óra) sejt kultúrában tenyésztettünk (RPMI- 1640, 10% FBS, 1% L-glutamin, 1% antibiotikum/antimycoticum). Az allergén-specifikus szenzitizáción átesett gyermekek mintáiban az allergént felismerő lymphocyták klonális proliferációja történt. Ennek mértékét az inkubációs idő leteltével, a mintához adott thiazolyl blue tetrazolium bromid (MTT) segítségével határoztuk meg. A módszer a keletkezett színreakción keresztül megmutatja a stimulált életképes lymphocyták metabolikus aktiválódásánál végbemenő oxido-redukciós folyamatok összességét. A sejtek osztódási rátájának meghatározása kontroll, stimulálatlan tenyészethez viszonyítva történt.

5.2.4 Nyálmintavétel és kortizol-szint meghatározás

A nyálminták gyűjtése a gyermekek otthonában, meghatározott időpontokban és módszerekkel történt, melyek a következők voltak: a reggeli nyál minta gyűjtése ébredést követően azonnal, a száj tiszta vízzel történő öblítését követően 2-3 perccel, az esti minta levétele 18:00 és 20:00 óra között történt, előre feliratozott, 1,5 ml-es Eppendorf-csővekbe. A mintavétel előtt minimum 30 perccel az étkezés, a folyadékfogyasztás, a dohányzás, a rágógumi-használat és a testmozgás kerülését kértük. A mintavételt követően a nyálmintákat hűtőben, 2-8 °C-on tároltuk maximum 72 órán keresztül, ezt követően 5 perc időtartamú,

3000 rpm fordulatszámú centrifugálással készítettük elő további vizsgálatra. A kortizol-szint meghatározásai a mintákat -80 °C-on tároltuk [144].

A korábban előkészített nyálmintákból ELISA módszer segítségével határoztuk meg a kutatásban résztvevők nyál kortizol-szintjét. A méréshez a Novatech Immundiagnostica GmbH (Dietzenbach, Németország) ELISA kitjét (DSNOV20 Cortisol Saliva ELISA) használtuk. A nyálmintákat duplikátumban vittük fel a plate-re (25µl/lyuk). Az intraassay variációs koefficiens: <10%, az interassay variációs koefficiens: <8,3%.

A mérés során kapott mennyiségek mértékegységét (ng/ml) átváltottuk (nmol/l) a 4. táblázat alapján [145-147].

4. táblázat Kortizol átváltási formulák (Hanrahan K. et al, 99. oldal alapján, 2006, magyarra fordítva [145])

Kapott mértékegység	Átváltási faktor	Átkonvertált mértékegység
nmol/l	× 0,03625	µg/dl
ng/ml	× 2,76	nmol/l
µg/dl	× 27,6	nmol/l

5.2.5 Széklet mintavétel és konzisztencia meghatározás

A székletminták gyűjtése szintén a gyermekek otthonában történt, előre feliratozott székletgyűjtő tartályokba. A mintavétel pontos időpontjának feljegyzését kértük. A mintavételt követően a székletmintákat 72 órán belül visszahozták a szülők a szakrendelésre, ahol a Bristol székletskála (BFS) segítségével meghatároztuk a széklet állagát (2. ábra).

A széklet vizsgálata a BFS segítségével nagyon egyszerűen, gyorsan, non-invazív módon sorolja be a széklet konzisztenciáját különböző osztályokba (2. ábra), mely segítségével rendkívül könnyen lehet nyomon követni a széklet állagának változását a szigorú eliminációs diéta hatására. Szakirodalmi adat azonban csak az utóbbi évekből, a CoMiSS pontrendszer részeként említett közleményekben olvasható [2, 3, 21]. Mivel a tejfehérje allergia sokszor okoz gastrointestinalis tünetet, így rendkívül sok kisgyermeknél tapasztalható székletük normál megjelenéstől való eltérése; gyakran híg, nyákos hasmenés jellemző, de ugyanígy előfordul a „bogyós”, kemény széklet is.

A kontrollvizsgálat során ellenőriztük a tejmentes diéta esetleges hatásait a széklet konzisztenciájára.

BRISTOL SZÉKLETSKÁLA				
TÍPUS 1		kemény, különálló csomók,ogyoróhoz hasonló	KÓROS	
TÍPUS 2		kolbász alakú kemény széklet, felülete csomós, fodros	KÓROS	
TÍPUS 3		kolbász alakú és állagú széklet de repedezett, egyenetlen felszínű	NORMÁLIS	
TÍPUS 4		kolbász alakú széklet, sima felületű és puha	IDEÁLIS	
TÍPUS 5		puha, sima felületű, több darabban érkező széklet	NORMÁLIS	
TÍPUS 6		bolyhosan összeálló szakadozott székletdarabok, pépes állag	KÓROS	
TÍPUS 7		vizes, teljesen folyékony széklet, szilárd darabokat nem tartalmaz	KÓROS	

2. ábra: A széklet konzisztenciájának osztályozása a Bristol széklet skála alapján

(Forrás: https://www.synlab.hu/storage/6152/FOB-Gold-szeklet-ver-immunologiai-vizsgalat_Mintaveteli-tajekoztato_20230112.pdf, letöltés dátuma: 2023.01.23.)

5.2.6 Székletmintavétel és -kalprotektin szint meghatározása

5.2.6.1 Széklet mintavételezése

A székletminták gyűjtése és analízise a kalprotektin teszt gyártója által meghatározottak szerint történt (Quantum Blue fCAL, Bühlmann Laboratories AG, Schönenbuch, Switzerland). A székletminták gyűjtésére kiskanállal ellátott, csavaros kupakú, feliratozott műanyag csöveket adtunk át a vizsgálatban résztvevők szüleinek. A minták visszaszállítása a gyermek-gasztroenterológia szakrendelésre a csövek kiosztásától számított maximum 72 órán belül megtörtént. A mintákat ezt követően -80 Celsius-fokon tároltuk a vizsgálatig.

5.2.6.2 Széklet kalprotektin szint meghatározása

A székletmintákat szobahőmérsékleten hagytuk felolvadni. A mintákat Quantum Blue fCAL (Bühlmann Laboratories AG, Schönenbuch, Switzerland) kalprotektin gyorseszteszt segítségével teszteltük. Egy gramm natív székletmintára volt szükség a mérés elvégzéséhez.

A módszer három lépésből állt: 1. A minta kivonása a készlethez mellékelt kémcsőben történt a használati útmutatónak megfelelően. 2. A székletmintát 10 percig hagytuk ülepedni, majd a felülúszót 1:1,6 arányban hígítottuk az extrakciós pufferrel; vortexet használtunk a keverék elegyítésére. Az oldatot 5 percig hagytuk állni 18-28 °C-on a következő lépésig. 3. A minta Quantum Blue Reader segítségével történő értékelésére kétféle megközelítés létezik: CAL_720 és CAL_0. Az első minta mérése a CAL_720 módszerrel történt. A hígított székletmintából 60 µl-t pipettával adtunk a tesztkazettához, majd a „Start” gomb megnyomásával elindul a mérési folyamat. A szkennelés 12 perc (720 másodperc) után automatikusan elindult. Mivel az első mérendő mintával egy időben további mintákat is előkészítettük mérésre, ezen minták esetében a 12 perces inkubációs időszak a gépen kívül zajlott, így a további méréseknél a CAL_0 módszert alkalmaztuk. A „Start” gomb megnyomása után a szkennelés azonnal megkezdődött.

A kontroll mérések a fent leírt módszertant követték, 60µl kontrolloldatot használva a 60 µl hígított székletminta helyett. A FC rezisztens a proteázokkal, valamint a hasnyálmirigy és bél eredetű bakteriális lebontással szemben, in vitro és in vivo környezetben is. A székletben homogén eloszlású, szobahőmérsékleten egy hétig, -20 °C-on több évig stabil marad [35, 37, 140, 148]. A gyártó által megadott normál cut-off érték 30µg/g.

Egy 2020-ban publikált holland tanulmány arra a következtetésre jutott, hogy a több napig tartó szobahőmérsékleten való tárolás veszélyeztetheti ennek a fehérjének a

stabilitását, ezért javasolták a minták azonnali hűtőszekrénybe (4-6 °C) vagy fagyasztóba (-20 °C) helyezését [149].

5.2.7 Kérdőíves adatfelvétel

A kutatócsoport által kidolgozott kérdőívek kitöltése az első, szakrendelésen történő megjelenéskor, valamint az első és második kontrollvizsgálat alkalmával történt. Az első kérdőív a szociodemográfiai adatokra, az életmóddal kapcsolatos szokásokra, az egészségi állapotra, a születési körülményekre és a TFA-val kapcsolatos tünetekre vonatkozó kérdésekből állt. Az első és második kontrollvizsgálat során használt kérdőív az étrend betartására, az antropometriai paraméterek változására, a szigorú tejfehérje-mentes diéta során észlelt nehézségekre és a tejfehérje-allergiával kapcsolatos tünetek változására vonatkozó kérdéseket tartalmazott.

A viselkedéssel kapcsolatos eltérések objektív felmérése okán mindhárom kérdőív tartalmazta a DSM-5, ADHD pontozóskálájának kérdéseit [150].

5.2.8 Statisztikai analízis

A statisztikai elemzésekhez az SPSS, Chicago, Illinois, IBM SPSS 28.0, és a GraphPad, Boston, MA, Prism 9.5.1 nevű szoftverét használtuk: leíró statisztikát végeztünk, a hipotézisvizsgálatok során a normalitásvizsgálat eredményei alapján (Kolmogorov-Smirnov próbák) páros és független mintás t-próbákat és Wilcoxon rangösszeg próbát, Mann-Whitney U-teszteket végeztük el. A kalprotektin szint előrejelző faktorainak meghatározásához lépésenkénti módszerrel, többváltozós lineáris regressziót hajtottunk végre, ahol a függő változó a kalprotektin-szint, a független változók pedig az életkor, a nem és a tünetek. A statisztikai szignifikancia szintjét $p < 0,05$ -re állítottuk be.

5.2.9 Etikai szempontok

A kutatás protokoll szerinti elvégzését a Tolna Vármegyei Balassa János Kórház Intézeti Kutatás-Etikai Bizottsága a 2017. 02. 22-i ülésén engedélyezte, majd a regionális engedélyt a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Regionális és Intézményi Kutatás-Etikai Bizottságától 2017. 06. 09-én kaptuk meg (Ügyiratszám: 6750).

Az adatok begyűjtése kizárólag tudományos céllal történt. Kutatásunk során gyűjtött minden információt szigorúan bizalmasan kezeltünk. Az adatokat harmadik személy számára nem adtuk ki, kóddal ellátva, biztonságos számítógépen, a kérdőíveket elzárt szekrényben őriztük. Az egyéni kódot minden kérdőív esetében a kutatásban résztvevő

személy adta, és csak ő ismerte. Sem az adatokból, sem az eredményekből egyetlen résztvevő azonossága sem állapítható meg. A kutatásban való részvétel teljesen önkéntes.

A kutatás az Orvosok Világszövetsége által 1964-ben megfogalmazott Helsinki Deklaráció ajánlását, illetve annak kiegészítéseit – beleértve a legutóbbi 2013-as Fortaleza-it – betartva valósul meg, valamint hatályos hazai törvényeknek és szabályozásoknak megfelelően zajlott [151].

5.3 Eredmények

5.3.1 Szocio-demográfiai és klinikai adatok

Vizsgálatunkban összesen 47 gyermek vett részt (5. Táblázat). A nemek aránya közel azonos, 27 fiú és 20 lány volt a vizsgált gyermekek között.

Óvodás (31,9%) és kisiskolás (40,4%) korúak alkották a vizsgált populáció nagy részét, kisebb részben kisdéd (6,4%), pre-pubertás (8,5%) és pubertás (12,8%) korcsoportba sorolt gyerekek.

A vizsgált gyermekek közel 50%-ánál fordult elő a testvéreik körében atópia vagy gyulladós bélbetegség, míg ebben a tekintetben a szülők körében alacsonyabb volt a betegségek előfordulási aránya (apa: 25,5%, anya: 23,4%).

A vizsgált populációban 4 gyermek volt koraszülött, 40 terminusra született, 3 gyermek szülője nem válaszolt erre a kérdésre. A gyermekek nagy része (74,5%) hüvelyi úton született, kisebb részük császármetszéssel jött világra. A résztvevők több mint fele (61,7%) életének első fél évében anyatejes táplálást vagy hipoallergén tápszert kapott, valamint közel 50%-uknál kerültek a tejtermékek bevezetésre 12 hónapos kor előtt.

A kutatás résztvevői leggyakrabban gastrointestinalis (85,1%) tünetekről számoltak be, de a légzőszervi (57,4%), a bőr- (63,8%) és idegrendszeri (44,7%) szimptomák is nagy számban fordultak elő. Legtöbb esetben több szervrendszert érintő panaszokkal érkeztek szakrendelésünkre a gyermekek.

A Prick teszt csupán 2 (4,3%) gyermeknél adott pozitív eredményt tejure vonatkozóan. Három gyermeknél (6,4%) nem végeztük el ezt a vizsgálatot szülői beleegyezés hiánya miatt. Mindkét gyermek, akiknek pozitív lett a Prick teszt eredménye, fiú és mindkettőjükönél jelentkeztek bőr-, és légzőszervi tünetek, ezen felül egyikükönél gastrointestinalis és idegrendszeri problémákról is beszámolt a szülő.

Az LTT eredményeket vizsgálva 8 (17%) gyermeknél kaptunk pozitív, 4-nél (8,5%) pedig kétes eredményt. A kétes eredményű gyermekek körében a vizsgálat ismétlése indokolt, de mivel nagyon kis százalékban mutatott pozitívítást ez a módszer a mintában, a mérés ismétlésétől eltekintettünk.

5. táblázat A vizsgált gyermekek demográfiai és klinikai adatai (Szekszárd)

Változók	Vizsgálatban résztvevők, N=47, n (%)
Nem	
Fiú	27 (57,4%)
Lány	20 (42,6%)
Korcsoport	
Kisded (1-3 év)	3 (6,4%)
Óvodás (<3-6 év)	15 (31,9%)
Kisiskolás (<6 – 12 év)	19 (40,4%)
Pre-pubertás (<12-14 év)	4 (8,5%)
Pubertás (<14- 18 év)	6 (12,8%)
Családi anamnézis	
Atópiás vagy gyulladásoos bélbeteg anya	11 (23,4%)
Atópiás vagy gyulladásoos bélbeteg apa	12 (25,5%)
Atópiás vagy gyulladásoos bélbeteg testvér	16 (45,7%)
Perinatális körülmények	
Koraszülött	4 (8,5%)
Terminusra született	40 (85,1%)
Hüvelyi úton született	35 (74,5%)
Császármetszéssel született	12 (25,5%)
Min. 6 hónapos korig kizárólag anyatejjel táplálkozott	18 (38,3%)
Min. 6 hónapos korig normál vagy AR tápszert kapott	14 (29,8%)
Min. 6 hónapos korig HA vagy HA-AR tápszert kapott	11 (23,4%)
Tejtermékek bevezetése 12 hónapos kor előtt	22 (46,8%)
Tejtermékek bevezetése 12-24 hónapos kor között	23 (48,9%)
Tejtermékek bevezetése 24 hónapos kor után	2 (4,3%)
Tünetek	
Gastrointestinalis	40 (85,1%)
Légzőszervi	27 (57,4%)
Bőr	30 (63,8%)
Idegrendszeri	21 (44,7%)
Elvégzett diagnosztikai módszerek	
Pozitív Prick-teszt	2 (4,3%)
Pozitív LTT	8 (17%)
Kétes LTT	3 (8,5%)

AR: antireflux tápszer, HA: hipoallergén tápszer, HA-AR: hipoallergén-antireflux tápszer, LTT:lymphocyta transzformációs teszt

5.3.2 Viselkedészavar, hiperaktivitás, alvászavar

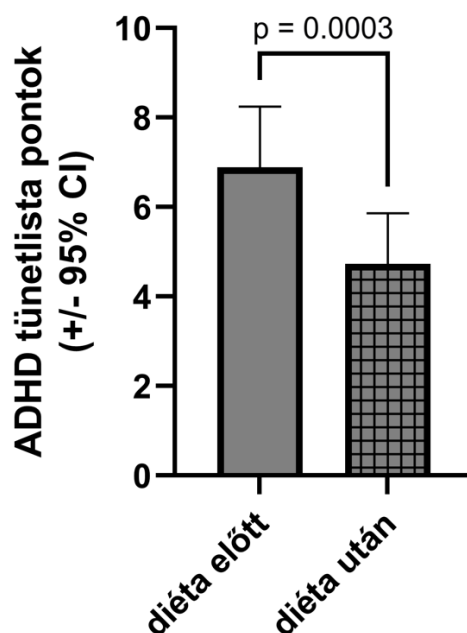
A vizsgálatban résztvevő 47 gyermekből ebben a részvizsgálatban 4 kisgyermeket (8,5%) kizártunk ($n=43$, 58,1% fiú, átlag életkor: $7,88\pm 4,02$ év), mert koruknál fogva (3 év alatti, közösségbe nem járó gyermekek) a DSM-5 ADHD tünetlistával kapcsolatos kérdéseket rájuk vonatkozóan nem lehetett kitölteni ($n=43$). Első megjelenéskor 9 (20,9%) gyermek szülője figyelemzavarra, 8-é (18,6%) hiperaktivitásra panaszkodott. 16 (34%) szülő említette, hogy gyermeke nehezen alszik el, nyugtalanul alszik, vagy az éjszaka folyamán többször felébred.

A 3 hónapos eliminációs diétát követően arról számoltak be a vizsgált gyermekek szülei, hogy ezek a viselkedésbeli tünetek nagyrészt elmúltak. Tizenkét (27,9%) gyermeknél nyugodtabb viselkedést figyeltek meg napközben, és tizenöt (34,9%) gyermek szülője számolt be kiegyensúlyozottabb alvásról a vizsgálat megkezdését követően 3 hónappal. Egy gyermeknél (2,3%) nem hozott jelentős javulást alvásminőség tekintetében az eliminációs diéta.

Az ADHD tünetlista alapján kitöltött kérdéssor eredményeit tekintve objektívebb képet kaphatunk a pszichés eltérésekről. Gyermekeik viselkedésével kapcsolatosan a szülőkkel töltöttük ki a DSM-5 ADHD-ra vonatkozó kérdéssorát, melynek kiértékelését követően azt tapasztaltuk, hogy több gyermeknél állnak fenn pszichés tünetek, mint ahányan megemlítették a tünetek közt az első, gasztroenterológiai szakrendelésen való megjelenésükkor.

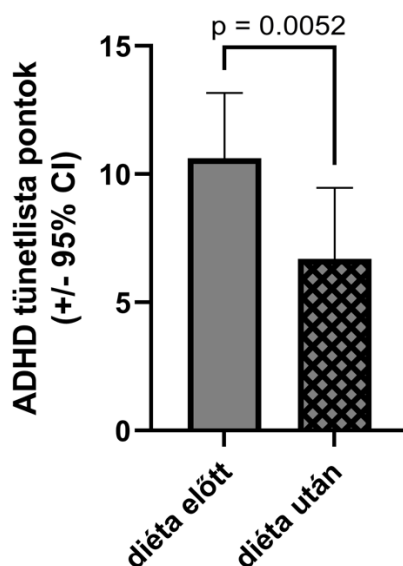
A kérdéssor első kilenc kérdését tekintve a minimum hat igen válasz esetén figyelemzavaros, a 10-18. kérdésekkel kapcsolatban a minimum hat igenlő válasz megléte esetén hiperaktív kategóriába soroltuk a gyermekeket. Ez alapján kilenc (20,9%) gyermek került a figyelemzavaros, tíz (23,3%) pedig a hiperaktív csoportba.

Összességében nézve a kérdőívek alapján számolt ADHD pontokat elmondhatjuk, hogy a diétát követően szignifikáns, erős különbség figyelhető meg ezen a téren. Míg a diétát megelőzően az ADHD pontok a teljes mintában átlagosan $6,88\pm 4,43$, addig a diétát követően ez az érték $4,73\pm 3,73$ volt, $t(42)= 3,951$ $p=0,0003$ (2-tailed), $r=0,521$ (3. ábra).



3. ábra: ADHD-szerű tünetek jelentkezése az eliminációs diéta hatására. A DSM-V ADHD pontozólistája alapján kapott pontszámok a szigorú tejfehérje-mentes diéta hatására szignifikánsan lecsökkentek a vizsgálati populációban ($n=43$, $p=0,0003$).

Megvizsgálva az alvászavarral érkező gyermekek ($n=13$) ADHD pontjait ($10,62 \pm 4,23$), szignifikáns, erős különbséget találtunk a diétát követően ($6,69 \pm 4,59$) ebben az alcsoportban is, $t(12)=3,406$ $p=0,005$ (2-tailed), $r=0,701$ (4. ábra).



4. ábra: Alvászavarban szenvedők ADHD-pontjainak alakulása az eliminációs diéta hatására. Viselkedésbeli eltéréseket mutató, alvási problémákkal érkező gyermekek ADHD pontjai is erős szignifikáns változást mutattak az eliminációs diétát követően ($n=13$, $p=0,005$).

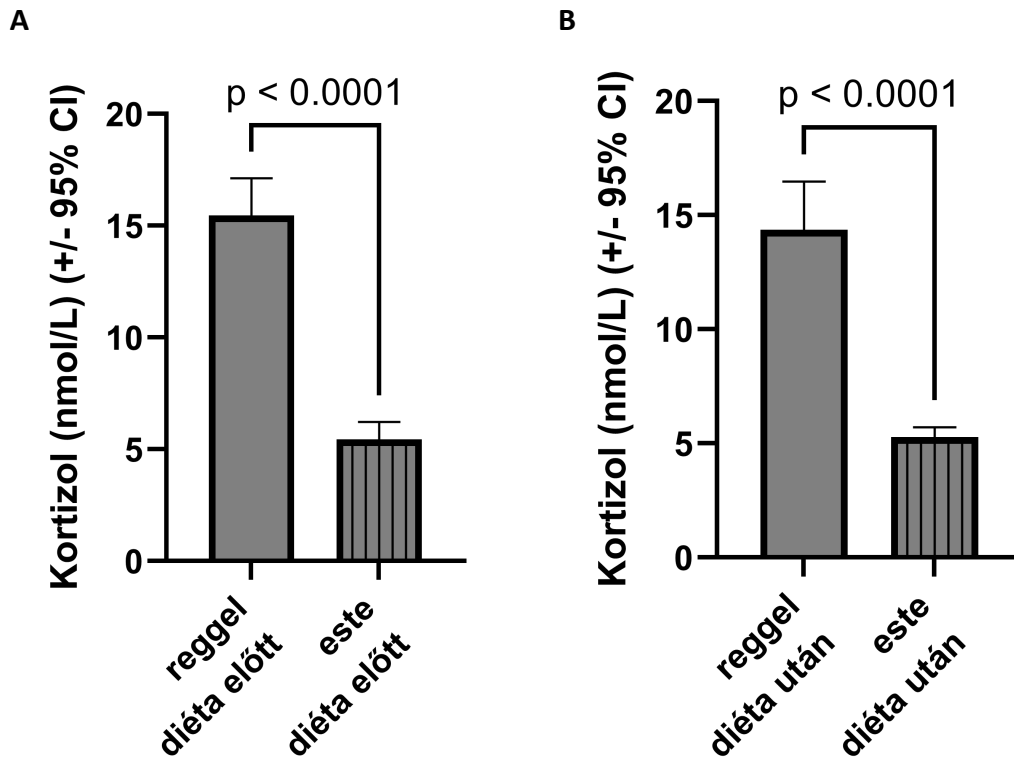
5.3.3 Kortizol

A vizsgálati csoportból 2 gyermek nyál kortizol szintjét nem tudtuk meghatározni, mivel a vizsgálathoz szükséges biológiai minta elégtelen mennyiségűnek bizonyult, így 45 gyermek reggeli és esti kortizol szintjét mértük ELISA módszerrel. A 6. táblázat a mintavételezés időpontjait és az átkonvertált kortizol szinteket tartalmazza.

6. táblázat Kortizol mintavételi időpontok és mérési eredmények

	Diéta előtt (átlag±szórás)	Diéta után (átlag±szórás)
Reggeli mintavételi időpont (óó:pp)	07:15±00:54	07:34±01:03
Reggeli kortizol szint (nmol/l)	15,46±5,54	14,99±6,70
Esti mintavételi időpont (óó:pp)	19:35±0:50	19:16±01:42
Esti kortizol szint (nmol/l)	5,44±2,63	5,50±0,99

A diéta megkezdését megelőzően, illetve a 3 hónap múlva mért kortizol-szintek között nem találtunk szignifikáns különbséget sem a reggeli (diéta előtti kortizol-szint átlag: 15,46±5,54 nmol/l; diéta utáni kortizol-szint átlag: 14,99±6,70 nmol/l, $t(44)=0,363$ $p=0,721$ (2-tailed)) sem az esti minták tekintetében (diéta előtti kortizol-szint átlag: 5,44±2,63 nmol/l; diéta utáni kortizol-szint átlag: 5,27±1,48 nmol/l, $t(44)=0,143$ $p=0,893$ (2-tailed)). Diéta előtti és utáni kortizol-szintek között szignifikáns, erős különbséget találtunk; diéta előtt a reggeli értékhez képest a kortizol szintje az esti mérés idejére lecsökkent (15,46±5,54 nmol/l vö. 5,44±2,63 nmol/l), $t(44)= 13,077$ $p<0,0001$ (2-tailed) $r=0,893$. Hasonló eredményt tapasztaltunk a diéta utáni kortizol értékek napszaki változásában is (14,99±6,70 nmol/l vö. 5,27±1,48 nmol/l), ami pontosan követi a kortizol cirkadián ritmusát, $t(46)= 9,03$ $p<0,0001$ (2-tailed) $r=0,804$ (5. ábra).



5. ábra: Kortizol-szint napszaki változása a szigorú eliminációs diéta előtt és után. A kortizol cirkadián ritmusa mind a diéta előtti (A), mind a diéta utáni (B) értékekben megmutatkozott. Az ébredést követő kortizol-csúcsot követően az esti kortizol értékek szignifikáns csökkenése volt megfigyelhető. (A: $n=45$, $p<0,0001$, B: $n=45$, $p<0,0001$).

5.3.4 Széklet vizsgálatának eredményei

5.3.4.1 Szigorú eliminációs diétát tartók szociodemográfiai és klinikai adatai

A teljes vizsgálati populációból a szigorú tejmentes diétát 35 gyermek tartotta (7. táblázat). A diétázók körében is elmondható, hogy a nemek aránya közel azonos; 19 fiú és 16 lány volt a vizsgált gyermekek között. A diétát a fiatalabb gyermekeknél nem tudták szigorúan betartatni a szülők, vagy betartani a gyermekek, viszont a vizsgálatba bevont pre-pubertás és pubertás korcsoportú gyermekek 100%-a betartotta az előírt étrendet.

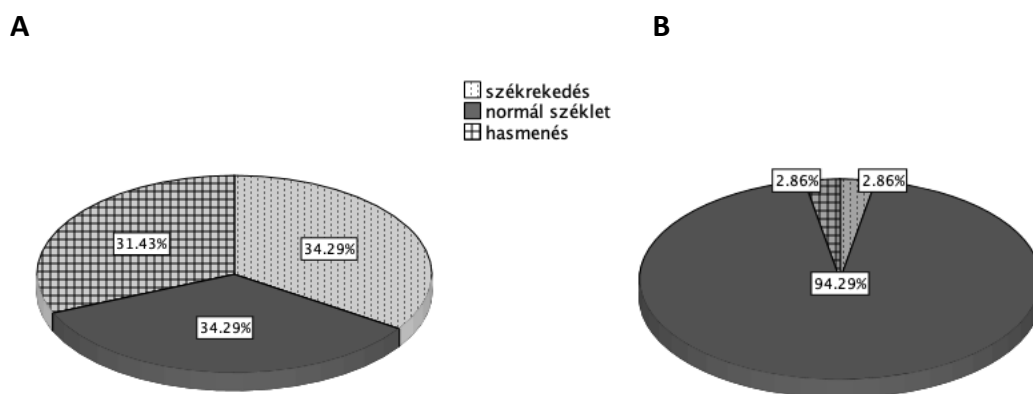
7. táblázat A teljes vizsgálati populáció és a kérdőívek alapján a szigorú eliminációs diétát tartó gyermekek csoportjának szociodemográfiai és klinikai adatai (Szekszárd)

Változók	Teljes vizsgálati populáció N=47, n (%)	Diétát szigorúan tartók csoportja n=35, n (%)
Nem		
Fiú	27 (57,45%)	19 (54,29%)
Lány	20 (42,55%)	16 (45,71%)
Korcsoport		
Kisded (1-3 év)	3 (6,38%)	2 (5,71%)
Óvodás (<3-6 év)	15 (31,91%)	11 (31,43%)
Kisiskolás (<6 – 11 év)	19 (40,43%)	12 (34,29%)
Pre-pubertás (<11 - 14 év)	4 (8,51%)	4 (11,43%)
Pubertás (<14- 18 év)	6 (12,77%)	6 (17,14%)
Családi anamnézis		
Atópiás vagy gyulladásoos bélbeteg anya	11 (23,40%)	8 (22,86%)
Atópiás vagy gyulladásoos bélbeteg apa	12 (25,53%)	9 (25,71%)
Atópiás vagy gyulladásoos bélbeteg testvér	16 (45,71%)	11 (44,00%)
Tünetek		
Gastrointestinlis	40 (85,11%)	30 (85,71%)
Légzőszervi	27 (57,45%)	16 (45,71%)
Bőr	30 (63,83%)	20 (57,14%)
Idegrendszeri	21 (44,68%)	19 (54,29%)

5.3.4.2 A széklet konzisztenciájának változása Bristol skála alapján

Az első megjelenést követően és a három hónapos szigorú eliminációs diéta után vett székletmintákon végeztük el a Bristol skála szerinti besorolást. A vizsgálat korábban, az 5.2.5 alfejezetben került ismertetésre.

A szigorú diétát tartó 35 gyermek diéta előtti széklet-állag vizsgálata a következő eredményeket hozta: 12 gyermek székletét soroltuk a normál kategóriába (34,29%), 12-en a „székrekedéses” (34,29%), 11-en a „hasmenéses” (31,43%) osztályba voltak sorolhatók. A 6. ábrán mutatjuk be a széklet konzisztenciájában elért szignifikáns javulást a 3 hónapos diétát követően, $p < 0,001$ (1-tailed) $n=35$. Harminchárom gyermek széklete volt normális (94,29%) osztályba sorolható, és csupán két gyermek (5,72%) széklete maradt a kóros állapotjelző osztályokban (egy „székrekedéses”, egy „hasmenéses”).



6. ábra: A széklet konzisztenciájának változása a szigorú tejmentes diétát tartók csoportjában.

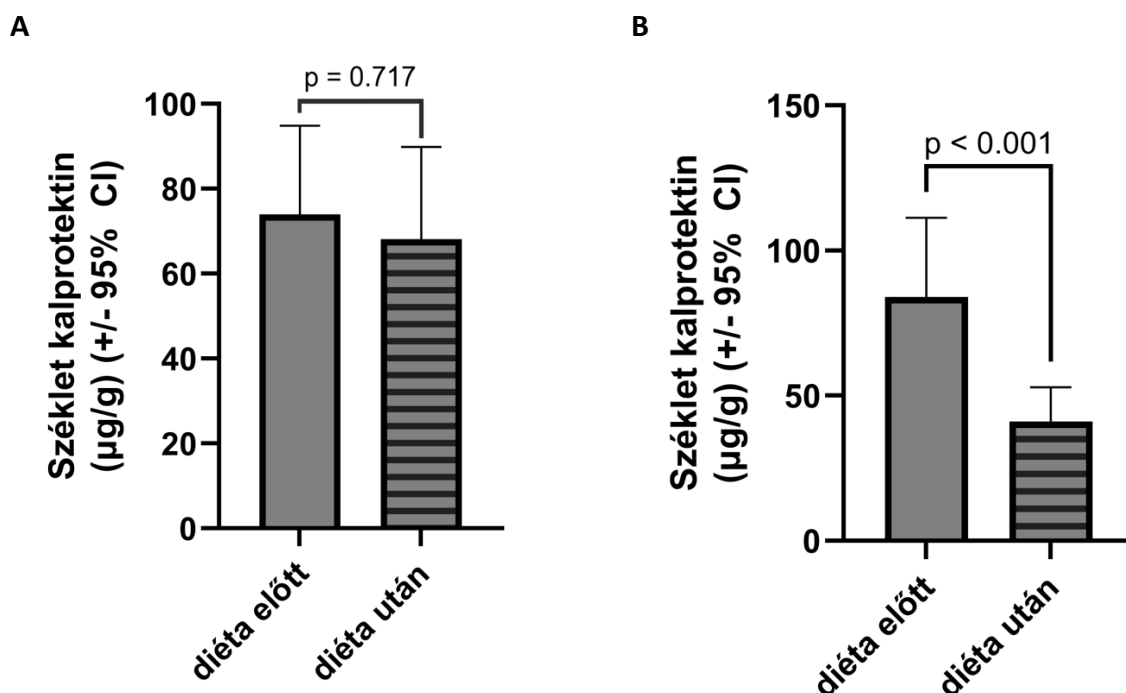
A: Diéta előtti székletkonzisztencia szerinti besorolás, **B:** Diéta utáni székletkonzisztencia besorolás. A diétát szigorúan tartó gyermekek széklet konzisztencia vizsgálata szignifikáns javulást eredményezett, míg a diéta előtt a gyermekek közel 2/3-ának széklete kóros osztályokba volt sorolható, a diétát követően a gyermekek közel 95%-ának széklete a normál széklet kategóriába sorolódott ($n=35$, $p < 0,001$).

5.3.4.3 Széklet kalprotektin szint változása a szigorú eliminációs diéta hatására

A teljes vizsgálati populációt tekintve (N=47) az átlagos FC szint $73,98 \pm 71,12 \mu\text{g/g}$ volt a szigorú diéta előtt, és $68,11 \pm 74,4 \mu\text{g/g}$ a három hónapos diéta után, $t(46)=0,365$ $p=0,717$ (2-tailed). Mivel a vizsgálatban részt vevő gyerekek egy része tartotta helyesen a három hónapig tartó szigorú diétát (n=35), ezért a résztvevőket a szülők által kitöltött kérdőívek alapján két csoportra osztottuk (diétát tartó és nem diétázó). A diétázók kalprotektin-szintjeit összehasonlítva szignifikáns, közepes erősségű különbség volt megfigyelhető 3 hónap után ($84,06 \pm 79,48 \mu\text{g/g}$ vö. $41,11 \pm 34,24 \mu\text{g/g}$) $t(34)=2,949$ $p<0,001$ (2-tailed) $r=0,454$ (7.ábra).

A szakirodalom szerint az FC-t körülbelül 4 éves kortól felnőtt referenciaértékek alapján lehet értékelni. Megvizsgáltuk a 4 év alatti gyermekek kalprotektin-szintjét is diéta előtt és után, azonban nem találtunk különbséget a korcsoportok között, $t(12)=1,695$ $p=0,859$ (2-tailed) [152, 153] (8. táblázat).

A mért eredményeket nemek között is összehasonlítottuk, és e tekintetben sem találtunk szignifikáns különbséget, $U=245,5$ $Z=-0,529$ $p=0,597$ (2-tailed).



7. ábra: Széklet kalprotektin szintek változása diéta előtt és a három hónapos szigorú eliminációs diéta után. A szigorú eliminációs diéta hatására a teljes mintában nem tapasztaltunk szignifikáns változást a FC tekintetében (A: N=47 $p=0,717$), míg a szigorú diétát tartó gyermekek csoportjában a FC szintje szignifikáns javulást eredményezett (B: n=35 $p<0,001$)

FC: széklet kalprotektin

8. táblázat A kutatásba bevont gyermekek széklet kalprotektin szintje diéta előtt és diétát követően

	Kalprotektin szint ($\mu\text{g/g}$); átlag \pm szórás		<i>p</i>
	Diéta előtt	Diéta után	
Vizsgálati populáció (N=47)	73,98 \pm 71,12	68,11 \pm 74,04	0,331
1-3,99 éves gyermekek (n=13)	68,82 \pm 70,79	73,73 \pm 87,10	0,859
4-18 éves gyermekek (n=34)	75,56 \pm 72,14	66,39 \pm 70,88	0,325
Fiúk (n=27)	65,56 \pm 61,16	71,26 \pm 76,54	0,851
Lányok (n=20)	85,35 \pm 82,99	63,85 \pm 72,26	0,173
Tejmentes diétát szigorúan tartó gyermekek (n=35)	84,06 \pm 79,48	41,11 \pm 34,24	0,001**

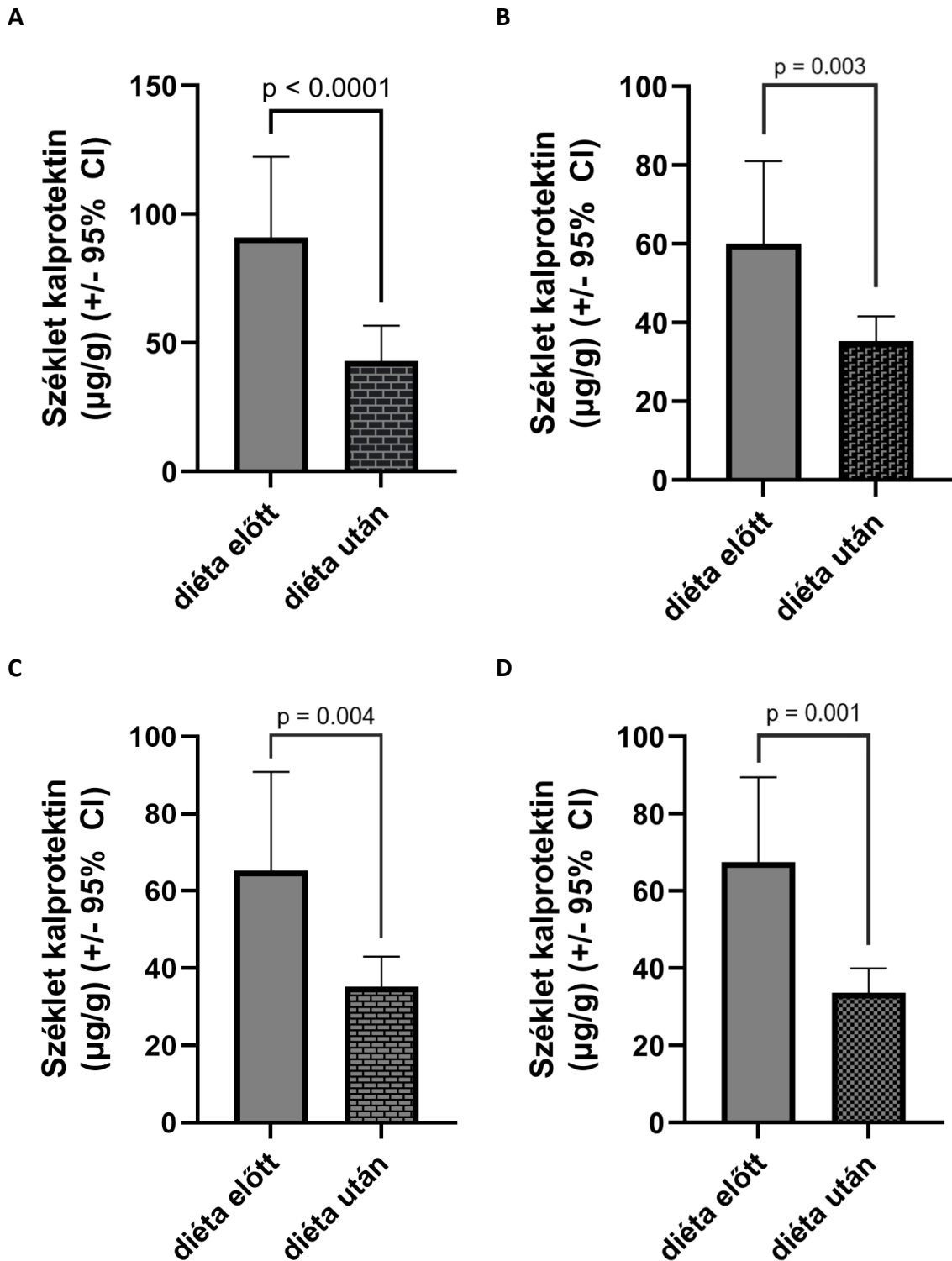
***p*<0,01

A 9. táblázatban foglaltuk össze a különböző tünetekkel érkező gyermekek kalprotektin szintjét diéta előtt és után, a diétát tartó alcsoportban (n=35). Szembetűnő, hogy nem csak a gastrointestinalis tünettől érkező gyermekeknek volt emelkedett a diéta előtti FC értéke, hanem a bőr-, légzőrendszeri- és viselkedésbeli eltéréssel érkezőknél is. A feltüntetett statisztikai eredményekből jól látszik, hogy a gyomor-bélrendszeri érintettséggel érkező gyermekek kezdeti kalprotektin szintje (90,97 \pm 83,95 $\mu\text{g/g}$) magasabb az egyéb tüneteket említők csoportjában mért értékeknél. Mivel a gyermekek többségénél több különböző tünetet okozott a TFA, így statisztikailag tiszta csoportok létrehozása akadályozott volt. A táblázatban feltüntetett tünetekhez tartozó kalprotektin értékek mindegyikénél szignifikáns csökkenést tapasztaltunk a szigorú eliminációs diétát követően. A gyomor-bélrendszeri tünetekkel érkező gyermekek kalprotektin szintjét tekintve szignifikáns, erős különbséget találtunk (diéta előtt: 90,97 \pm 83,95 $\mu\text{g/g}$ vö. 42,97 \pm 36,73 $\mu\text{g/g}$) $T=34,50$ $Z=-3,300$ $p<0,001$ (2-tailed) $r=0,601$. A bőrtüneteket említő gyermekek FC esetében szignifikáns, erős különbséget találtunk a diéta előtti és utáni értékekben (60,05 \pm 44,8673 $\mu\text{g/g}$ vö. 35,30 \pm 13,4973 $\mu\text{g/g}$) $T=8,50$ $Z=-2,926$ $p=0,003$ (2-tailed) $r=0,652$. A felsőlégúti panaszokat említőknél is szignifikáns változás volt tapasztalható (65,31 \pm 48,01 $\mu\text{g/g}$ vö. 35,19 \pm 14,80 $\mu\text{g/g}$), erős különbség mutatkozott a diéta előtt és után mért értékekben $T=6$ $Z=-2,920$ $p=0,004$ (2-tailed) $r=0,733$. A viselkedésbeli eltérések esetén is szignifikáns (67,47 \pm 45,60 $\mu\text{g/g}$ vö. 33,63 \pm 13,06 $\mu\text{g/g}$), erős különbség mutatkozott a FC diéta előtti és utáni értékeiben $T=0$ $Z=-3,408$, $p=0,001$ (2-tailed) $r=0,783$ (8. ábra).

9. táblázat Az eliminációs diétát követő gyermekek tüneteinek és kalprotektin szintjük (n=35)

Tünetek	Kalprotektin szint (µg/g); átlag±szórás		p
	Diéta előtt	Diéta után	
Gastrointestinalis tünetek (n=30)	90,97±83,95	42,97±36,73	<0,001**
Bőrtünetek (n=20)	60,05±44,86	35,30±13,49	0,003**
Légzőrendszeri tünetek (n=16)	65,31±48,01	35,19±14,80	0,004**
Viselkedésbeli tünetek (n=19)	67,47±45,60	33,63±13,06	0,001**

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$



8. ábra: A különböző szervrendszereket érintő tünetekkel érkező gyermekek kalprotektin szintek diéta előtt és után. Mind a 4 tünettípus esetén szignifikáns változást tapasztaltunk FC szintek tekintetében a diéta előtti és a 3 hónapos diétát követő mennyiségek között. **A:** Emésztőrendszeri tünetekkel érkezők FC szintje ($n=30$, $p<0,001$), **B:** Bőrtünetekkel érkező gyermekek FC szintje ($n=20$, $p=0,003$), **C:** Légzőrendszeri tüneteket említők FC szintje ($n=16$, $p=0,004$), **D:** Idegrendszeri tünetekkel érkezők kalprotektin értékei ($n=19$, $p=0,001$) FC: széklet kalprotektin

Megvizsgáltuk a különböző GI tünetekhez tartozó FC értékeket is, melyeket a 10. táblázatban mutatunk be. Szignifikáns csökkenést tapasztaltunk kalprotektin-szint tekintetében az eliminációs diétát szigorúan tartó gyermekeknél, a következő három tünet esetén erős különbséget találtunk: hasi fájdalom ($88,52 \pm 90,84 \mu\text{g/g}$ vö. $45,91 \pm 41,46 \mu\text{g/g}$) $T=29,5$ $Z=-2,439$, $p=0,015$ (2-tailed) $r=0,510$, székrekedés ($106,77 \pm 97,86 \mu\text{g/g}$ vö. $37,31 \pm 12,96 \mu\text{g/g}$) $T=5$ $Z=-2,667$, $p=0,008$ (2-tailed) $r=0,742$, és hasmenés ($94,09 \pm 85,59 \mu\text{g/g}$ vö. $39,18 \pm 18,14 \mu\text{g/g}$) $T=2$ $Z=-2,240$, $p=0,025$ (2-tailed) $r=0,681$, ahogy ez a 10. táblázatban látható. A hányás ($71,67 \pm 21,78 \mu\text{g/g}$ vö. $30,00 \pm 0,00 \mu\text{g/g}$) $T=0$ $Z=-1,604$ $p=0,109$ (2-tailed) és a savas felbőfögés ($59,63 \pm 26,82 \mu\text{g/g}$ vö. $57,63 \pm 67,29 \mu\text{g/g}$) $T=7$ $Z=-0,734$ $p=0,463$ (2-tailed) esetén eredményeink nem szignifikánsak, feltételezhetően ezen tünetek ritkább előfordulása és az alacsony elemszám miatt (9. ábra).

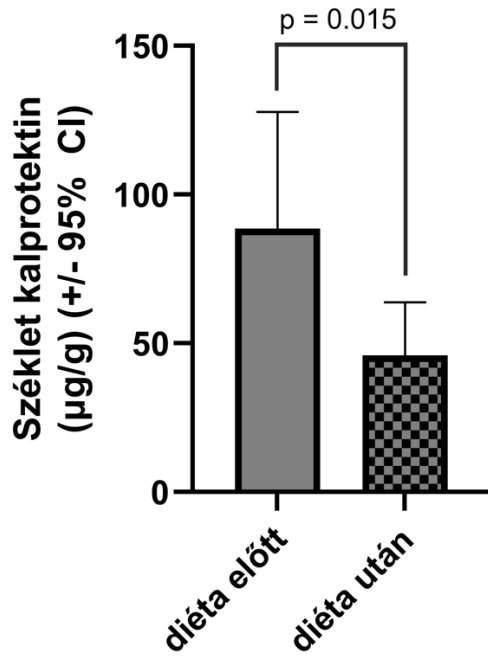
10. táblázat Emésztőrendszeri tünetek, kalprotektin-szintek és a kalprotektin-szint változásai az eliminációs diétát tartó gyermekeknél ($n=35$)

Gastrointestinalis tünetek (GI)	FC szint diéta előtt ($\mu\text{g/g}$) átlag \pm szórás	FC szint diéta után ($\mu\text{g/g}$) átlag \pm szórás	FC szintek közti változás átlag \pm szórás	p
Hasi fájdalom ($n=23$)	$88,52 \pm 90,84$	$45,91 \pm 41,46$	$54,44 \pm 111,16$	0,015*
Hányás ($n=3$)	$71,67 \pm 21,78$	$30,00 \pm 0,00$	$41,67 \pm 21,78$	0,109
Savas bőfögés reflux miatt ($n=8$)	$59,63 \pm 26,82$	$57,63 \pm 67,29$	$2,67 \pm 92,61$	0,463
Székrekedés ($n=13$)	$106,77 \pm 97,86$	$37,31 \pm 12,96$	$75,25 \pm 95,96$	0,008**
Hasmenés ($n=11$)	$94,09 \pm 85,59$	$39,18 \pm 18,14$	$75,50 \pm 95,51$	0,025*
Nincsenek GI-tünetek ($n=5$)	$42,60 \pm 9,69$	$30,00 \pm 0,00$	$15,75 \pm 7,68$	0,044*

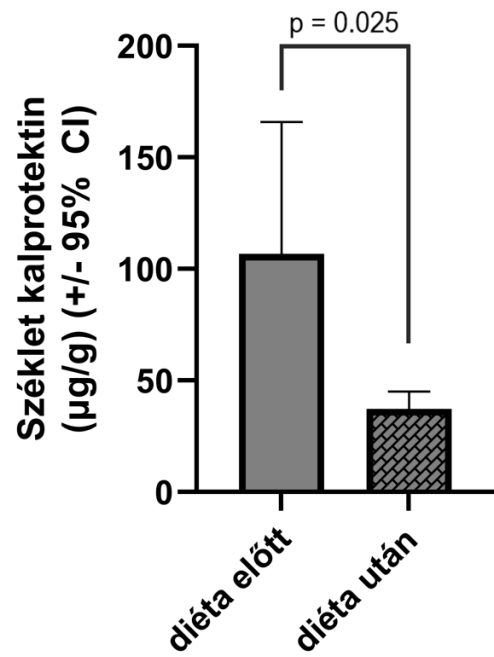
FC: széklet kalprotektin, GI: gastrointestinális, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

Többváltozós lineáris regressziós modellünkben a három hónapos diétát követő, kontroll során mért kalprotektin szintet befolyásoló változókat vizsgáltuk. A regressziós modell magyarázó ereje $R^2=0,169$ $F=5,692$ $p=0,024$. A modell magyarázó változói a nem, az életkor, a tünetek megjelenése és az étrend voltak. A többváltozós elemzésben csak a diéta mutatott szignifikáns hatást (Béta: A kontroll kalprotektin - szintek kimenetelét illetően a szocio-demográfiai tényezők és a tünetek megjelenése nem befolyásolta a kimeneti változó értékét.)

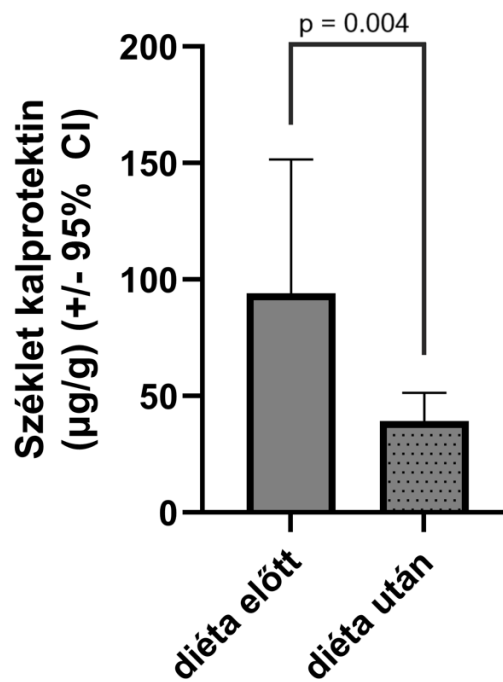
A



B



C



9. ábra: Gastrointestinalis tünetcsoport egyes tüneteire kapcsolódó kalprotektin szintek diéta előtt és után. Három GI tünettípus esetén szignifikáns változást tapasztaltunk FC szintek tekintetében a diéta előtti és a 3 hónapos diétát követő mennyiségek között. **A:** Hasfájással érzők FC szintje ($n=23$, $p=0,015$), **B:** Székrekedéses gyermekek FC szintje ($n=13$, $p=0,025$), **C:** Hasmenéssel érzők gyermekek FC szintje ($n=11$, $p=0,004$)
GI: gastrointestinalis, FC: széket kalprotektin

5.4 Megbeszélés

Ahogy korábban is tárgyaltuk, a gyermekpopulációban előforduló egyik leggyakoribb táplálékallergia a TFA [6, 136]. A Magyar Allergológiai Klinikai Immunológiai Társaság – MAKIT – Magyarország minden régiójára kiterjedő multicentrikus felmérése szerint a tehéntej a második leggyakoribb élelmiszer-allergén a gyermekek körében. A felmérés eredményei összhangban vannak a táplálkozási allergiákkal kapcsolatos nemzetközi tendenciákkal [136].

Barna és mtsi szerint a TFA magas prevalenciája gyermekeknél a viszonylag magas tejfogyasztással és az immunrendszer éretlenségével magyarázható [154]. Magyarországon a bölcsődei és óvodai közétkeztetés 10 napja alatt 5, illetve 4 liter tejet kell biztosítani a gyermekeknek, ami napi 0,5, illetve 0,4 liter tejfogyasztásnak felel meg [155].

A diagnózis felállítása sok esetben nehézséget okoz, akár a gyakorlott szakembereknek is, köszönhetően a betegség okozta tünetek sokszínűségének [137, 156]. A British Society For Allergy and Clinical Immunology kutatói által megfogalmazottak alapján a tejfehérje-allergia azonnali és késleltetett reakciók formájában nyilvánulhat meg. Az IgE-mediált allergia azonnali tüneteket produkál (anafilaxia, akut urticaria, hányás, rhinitis, száraz köhögés, gégeödéma, zihálás, akut asztmás roham), míg a késleltetett tünetek a nem-IgE-mediált allergia fennállását jelzik (atópiás dermatitis, krónikus hasmenés, véres széklet, krónikus hányás, vashiányos anémia, súlyvesztés) [135, 137], de előfordulhat ezek kevert megjelenési formája is [69, 152].

Az általunk vizsgált populációban a nem-IgE-mediált allergiás betegek voltak túlnyomó többségben. Humán, prospektív kutatásunk célja, hogy felmérjük, melyik a legalkalmasabb diagnosztikai módszer a TFA fennállásának alátámasztására, valamint hogy leírjuk, milyen organikus és esetlegesen pszichés eltérések jelentkezhetnek az említett allergiában, és ezekre milyen hatással van a tejfehérje eliminációs diéta bevezetése. Követésező vizsgálatunk célja volt megfigyelni, hogy a tejfehérjementes diéta jótékony hatása hogyan monitorozható objektív paraméterek segítségével.

A diagnosztikai módszereket vizsgálva, tapasztalataink a nemzetközi és hazai szinten is elfogadott nézeteknek megfelelnek. A tehéntejfehérje-specifikus IgE vizsgálat, a Prick teszt és az LTT, mint objektív vizsgálati módszer, a diagnózis felállításához, vagy elvetéséhez önmagában nem elegendő [18, 123, 157]. Greer és munkatársai azt találták, hogy a családi anamnézisben szereplő atópia gyakori a tejfehérje allergiás gyermekek körében [158]. Kutatásunk során mi is észleltük, hogy a szülők és a testvérek körében gyakran előfordul atópia vagy gyulladássos bélbetegség.

Kutatásunk erőssége az ADHD-szerű tünetek feltérképezésének kísérlete volt. Hasonló kutatással kapcsolatos közlemény sem a hazai, sem a nemzetközi szakirodalomban nem fellelhető legjobb tudomásunk szerint. A vizsgált populációban nagy számban fordult elő tünetként hiperaktivitás, impulzivitás, figyelem- és alvászavar. A DSM-5 ADHD tünetlistáját alapul véve elkészített kérdőív kitöltésével célunk volt objektívebb módszerrel is megismerni a gyermekek érintettségét ezen a területen.

A vizsgált csoportban (n=43) azt tapasztaltuk, hogy kevesebb szülő számolt be az első megjelenéskor a fent említett idegrendszeri tünetekről, mint azt a DSM-5 ADHD-kérdőívében jelezték. Kilenc (20,9%) szülő jelezte, hogy gyermekénél problémát jelent a figyelem fenntartása, nyolc (18,6%) pedig, hogy az átlagnál impulzívabb, hiperaktívabb a gyermek, valamint 16 (34%) szülő említette, hogy gyermekénél alvászavart tapasztal éjszakánként.

Összességében elmondható, hogy az ADHD tünetlista alapján szerzett pontokat figyelembe véve, szignifikáns javulást értünk el az érintett gyermekek körében a három hónapos eliminációs diétával (diéta előtti ADHD pontok átlaga: $6,88 \pm 4,43$, diéta után: $4,84 \pm 3,70$, $p=0,0003$). Hasonló eredményeket tapasztaltunk az alvászavart megemlítő gyermekek ADHD-pontjaival kapcsolatosan is, de a tünetek mérséklődése itt még látványosabb volt (diéta előtti ADHD pontok átlaga: $10,62 \pm 4,23$, diéta után: $6,69 \pm 4,59$, $p=0,005$).

Az ADHD-jellegű tünetek fennállását terveztük bizonyítani a nyál kortizol-szint méréssel, mint objektív diagnosztikai módszerrel. Több nemzetközi tanulmány számol be gyermekeknél alacsonyabb kortizol értékekről ADHD esetén [159, 160]. A nyál kortizol-szint mérését gyakran alkalmazzák az akut és krónikus stressz kutatása céljából, akár gyermekpopuláción is, hiszen a vizsgálat non-invazív módon zajlik, kivitelezése egyszerű, olcsó, és nem szükséges a mintavételezéshez egészségügyi személyzet [161].

Vizsgáltunk során a kortizol-szint a hiperaktív/figyelemhiányos tüneteket produkáló gyermekek körében nem mutatott szignifikáns eltérést az ilyen jellegű tüneteket nem mutató gyerekek csoportjában mért eredményektől. Az eliminációs diéta előtti-utáni eredmények sem mutattak számottevő különbséget a teljes vizsgálati populációban. Ezen rész kutatás eredményei alapján valószínűsítjük, hogy a TFA okozta viselkedésbeli tünetek kialakulásának a háttérben más patomechanizmus áll. Célunk volt objektív módon is feltérképezni a viselkedési mintázat megváltozásának háttérben húzódó eltéréseket, emiatt egy következő betegcsoporton végeztünk további vizsgálatokat különböző biomarkerek (alfa-amiláz, szerotonin, melatonin) mérésének hozzáadásával, melynek eredményeit a „6. Tanulmány a gyermekkori tehéntejfehérje-allergia kapcsán kialakuló viselkedészavar

háttérmechanizmusairól” című fejezetben mutatunk be. A kortizol-szint cirkadián ritmusát ismerve [161, 162] meghatározó jelentőségű az ébredés utáni azonnali mintavétel a mérés pontosságának érdekében, ezért a jövőben erre még inkább felhívjuk majd a résztvevők szüleinek figyelmét.

Kutatásunk eredményei alapján elmondhatjuk, hogy a TFA-s gyermekeknél a pontos diagnózis felállításához nem elegendő a Prick teszt vagy az LTT elvégzése, ezek önmagukban nem támasztják alá a betegség fennállását, ugyanakkor negativitásuk nem zárja ki az allergia diagnózist.

Értekes eleme lehet a diagnosztikának és az utánkövetésnek a széklet Bristol skála szerinti besorolása, mellyel vizsgálatunk eredményei szerint is egyszerűen, de informatívan lehet monitorozni a széklet konzisztenciájának megváltozását (az esetek döntő többségében a normális osztályokba való átsorolást) a szigorú eliminációs diéta hatására.

Az ellátás helyén történő (POCT) kvantifikációs vizsgálat, a széklet kalprotektin-szintjének meghatározása egy egyszerű, non - invazív, viszonylag olcsó és gyors eljárás, így nagy szerepe lehet a TFA pontosabb diagnózisának felállításában és az étrendi megfelelés nyomon követésében is [141].

A FC mérése világszerte széles körben elfogadott diagnosztikai módszerré vált. Jelenleg leginkább az IBD diagnózisának felállításában és a gyulladás fennállásának, illetve mértékének monitorozására alkalmazzák [163, 164] és jelentős szerepet játszik az IBS-től (irritábilis bélszindróma) [165, 166] való megkülönböztetésben felnőtt és gyermekpopulációban egyaránt, azonban néhány tanulmányban – az általunk elvégzett kutatási eredményekkel összhangban - arra utalnak, hogy ez a diagnosztikai módszer értékes lehet TFA esetén is.

Belizon és munkatársai vizsgálataik során 82 csecsemőt (1-12 hónapos korig) vontak be, akik közül 40-nél igazolták, hogy nem-IgE-mediált tehéntejfehérje-allergiájuk van. A kalprotektin szintjét illetően a 138µg/g-ot hasznos cut-off értéknek tekintették a nem-IgE-mediált TFA diagnózisának kizárására. Tapasztalataik szerint az FC nem megfelelő diagnosztikai módszer az eliminációs étrendre adott klinikai válasz monitorozására [39].

Ezzel szemben, egy török tanulmány teljesen ellentétes következtetést vont le az FC szint és a TFA vonatkozásában. Beser és kutatócsoportja széklet kalprotektin teszttel vizsgálták a szigorú tejmentes diéta hatását 32, újonnan diagnosztizált TFA-s gyermekben (10,16±8,57 hónapos korban). Beser vizsgálatainak eredményei megerősítették, hogy a szigorú diéta szignifikáns csökkenést eredményez az FC értékekben ($p < 0,001$) [38].

Számos korábbi kutatás rámutatott arra, hogy a születést követő első életévben a csecsemők természetes kalprotektin szintje jóval magasabb, mint a későbbi életkorban,

emiatt jelenlegi kutatásunkból az egy év alatti gyermekeket kizártuk [124, 152]. Fagerberg és munkatársainak kutatási eredményei szerint a felnőtt populációra meghatározott, 50µg/g, FC cut-off érték 4 éves kortól alkalmazható gyermekeknél is [152, 153]. Davidson kutatócsoportja tanulmányukban a normál FC-szint felső határát a 4-17,9 éves gyermekek esetében 62mg/kg mennyiségben határozták meg [167, 168]. Mindezek alapján, kutatásunkban az 50µg/g kalprotektin-szintet tekintettük cut-off értéknek a vizsgált gyermekpopulációban.

Kutatásunkban a négy év alatti gyermekek (diéta előtt 68,82±70,79µg/g, diétát követően 73,73±87,10µg/g, $p=0,859$), illetve a négyévesnél idősebb gyermekek (diéta előtt 75,56±72,14µg/g, diétát követően 66,39±70,88µg/g, $p=0,325$), kalprotektin-szintjében nem volt szignifikáns különbség, ezért a továbbiakban nem vizsgáltuk külön a két korcsoportot.

Vizsgálatunk eredményei – Beser és mtsaihoz hasonlóan [38] – szintén szignifikáns csökkenést mutattak FC-szint tekintetében, (diéta előtti átlag: 84,057±79,48µg/g, diéta utáni átlag: 41,11±34,24µg/g, $p<0,001$), így szigorú eliminációs diéta mellett a klinikai tünetek megszűnése/enyhülése tapasztalható. Ezért javasoljuk az FC-szint mérését az allergén által okozott bélgyulladás mértékének nyomon követésére.

A mérési módszereink értékelése és a kérdőívek kiértékelése alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy az allergén okozta, mérsékelten emelkedett FC szint csak a szigorú eliminációs diétát követő gyermekeknél csökken szignifikánsan; így az említett biomarker a TFA okozta tünetek enyhülésének/eltűnésének indikátora lehet.

Továbbra is az eliminációs diétát követő visszaterhelés a legbiztosabb módja a táplálékallergia diagnosztizálásának. Tapasztalataink alapján biztosan állíthatjuk, hogy mind a klinikai tünetek, mind a pszichés eltérések terén látványos javulás érhető el a szigorú eliminációs diéta tartásával.

6. Tanulmány a gyermekkori tehéntejfehérje-allergia kapcsán kialakuló viselkedészavar háttérmechanizmusairól

6.1 Bevezetés

Kutatásunk során megfigyeltük, hogy a gyermek-gasztroenterológia szakrendelésen megjelent szülők többször említik a szervi panaszok mellett gyakori tünetként gyermekük megváltozott viselkedését; hiperaktivitást, tanulási nehézséget, impulzivitást vagy akár az alvás minőségének negatív irányú megváltozását. Ezen tapasztalataink alapján vettük be a DSM-V figyelemhiányos hiperaktivitás-zavar pontozóskáláját a kutatócsoportunk által összeállított kérdőívbe, hogy objektív képet kapjunk kutatásunkba bevont gyermekek pszichés jellegű tüneteinek mértékéről, valamint, hogy a diétát követő esetleges változás monitorozására lehetőség nyíljon. Több tanulmány tárgyalja a tejmentes diéta jótékony hatását ADHD-s gyermekek esetében [31, 32, 142]; azonban a szakirodalomban fellelhető, a TFA okozta pszichológiai eltéréseket tárgyaló tanulmány nem vizsgálja a TFA-s gyermekek magatartás-zavarának esetleges megváltozását a tejfehérje-menes diéta bevezetését követően [33]. A viselkedésbeli probléma biológiai háttere, illetve a tejfehérje kóroki szerepe nem tisztázott; korábbi hipotézisünk szerint a CRH-ACTH-kortizol tengely játszhat központi szerepet a viselkedési mintázat megváltozásában, azonban ezt az elméletet korábbi vizsgálatainkkal nem tudtuk alátámasztani.

Gyermekpopulációban elterjedt neuropszichiátriai rendellenesség az ADHD [169], mely döntő többségében az érintettek serdülő- és felnőtt korában is megmarad. Az ADHD jellemző tünetei a figyelemzavar, a hiperaktivitás és az impulzivitás, melyek az élet számos területére kihatnak, és jelentős funkcióromlás figyelhető meg az egyes életkori csoportokban [170, 171], illetve nagyban kihat a gyermek és szülei életminőségére [172]. Az ADHD neurobiológiája még nem teljesen ismert, feltételezések szerint azonban a dopaminerg és noradrenerg rendszerek zavara állhat a viselkedésbeli eltérések mögött. Feltételezésünk szerint a TFA-s gyermekek nagy részénél hasonló mechanizmusok állhatnak a megváltozott viselkedésmintázat kialakulásának hátterében, melyek az allergén huzamosabb ideig tartó megvonásával rendeződhetnek; IgE-mediált allergia esetén 2-4 hét, nem-IgE-mediált tünetek fennállása esetén akár 6 hét eliminációs diéta is szükséges lehet [173].

Mivel a noradrenalin vérből nyálba történő átátvitele viszonylag hosszú időt vesz igénybe (nagyjából 1 óra), így a nyál katekolamin mérése nem megfelelő módszer az akut stressz által kiváltott változások pontos követésére [174]. Az autonóm idegrendszer szimpatikus és paraszimpatikus ágai beidegzik a nyálmirigyeket, ennek következtében, szimpatikus stimuláció esetén nő a nyálmirigyek fehérje (pl. alfa-amiláz) szekréciója,

melynon-invazív módon mérhető. Rohleder és munkatársai vizsgálták az alfa-amilázt, mint a szimpatikus aktivitás indikátorát. Kutatásuk során 12 egészséges alanytól vettek vér- és vizeletmintát stresszhatást követően. Noradrenalin, illetve alfa-amiláz-szint meghatározása történt, eredményeikkel pedig alátámasztották, hogy a stresszre való válasz mind a noradrenalin és az alfa-amiláz esetén is szignifikáns emelkedést mutat, illetve pozitívan korrelál a nyál alfa-amiláz szintje a megemelkedett katekolamin-szinttel. Az alfa-amiláz cirkadián ritmusának vizsgálati eredménye szerint az alfa-amiláz napszaki változása pontos tükröképe a jól ismert kortizol cirkadián ritmusának; a kora reggeli órákban a legalacsonyabb az alfa-amiláz szint, míg a délutáni, kora esti időszakban figyelhető meg a legmagasabb koncentráció [174, 175].

A szerotonin (5-hidroxi-triptamin, 5-HT) a triptofán anyagcsere közbenső terméke, széles körben tanulmányozott neurotranszmitter, mely elsősorban a központi idegrendszerben, a középagy neuronjaiban és a gastrointestinalis rendszerben, a bél enterokromaffin sejtjeiben szintetizálódik és perifériás hormonként is működhet [176-178]. A szervezet teljes szerotonin készletének 95%-a az enterokromaffin sejtek által termelődik. A szerotonin rendkívül fontos szabályozója több élettani folyamatnak; kardiovaszkuláris funkcióknak, légzésnek, a cirkadián ritmusnak, az alvásnak, az étváagnak vagy akár a hangulatnak [178]. A szerotonin túlnyomórészt 5-hidroxi-indol-ecetsavvá (5-HIAA) vagy melatoninná metabolizálódik, amely a vizelettel ürül, így mérése egyszerűen, non-invazívan kivitelezhető [176, 179, 180]. Gyakran vizsgálják a szerotonin szintjét, illetve annak eltolódott mintázatát különböző pszichiátriai kórképekben, többek között autizmus-spektrum zavarban (ASD) vagy ADHD-ban [181-183]. Egy horvát kutatás során 84 ADHD-s gyermek szerotonin szintjét vizsgálták és vetették össze 30 egészséges gyermek eredményeivel. Szignifikáns, pozitív korrelációt találtak az 5-HT koncentrációja és az impulzív tünetek tekintetében [183]. Gabrielle és munkatársai szisztematikus áttekintése és meta-analízise 22 tanulmányban vizsgálta az autisztikus eltérések elsőként leírt biomarkerének- szerotoninnak- mennyiségét. A tanulmány az ASD legmegbízhatóbb és legértékesebb biomarkereként említi az 5-HT-t, melynek szintje szignifikánsan magasabb az említett pszichológiai/pszichiátriai kórkép esetén [182].

A tobozmirigyben, főként éjszaka szintetizálódó hormon, a melatonin sokféle funkcióval bír; elsősorban a cirkadián ritmus szabályozásáért és az alvásért felelős, de rendkívül hatékonyan működik az oxidatív stressz hatásainak, többek között a DNS-károsító hatás csökkentésében is. Bár a melatonint elsősorban a tobozmirigy hormonjaként tartjuk számon, számos más szerv (pl. gastrointestinalis rendszer) és sejt (pl. leukocyták) is szintetizálja [184]. Mivel az „alvás hormonjaként” tekintünk rá, vizsgálata főként

alvászavarok esetén, illetve alvási nehézséget eredményező kórképekben (pl. ADHD, ASD) releváns. E tekintetben a szakirodalom nem egységes, néhányan egyértelműen pozitív összefüggést találtak a csökkent melatonin-szint és az éjszakai alvási problémák között [185, 186], míg mások nem tudták bizonyítani a korrelációt a csökkent melatonin-koncentráció és az alvászavarok tekintetében [187]. A vizeletben egyszerűen és non-invazív módon mérhető a melatonin bomlásterméke, a 6-hidroxi-melatonin-szulfát (aMT6s), melynek mennyisége pozitív korrelációt mutat a vérplazma melatonin koncentrációjával [184]. Melatonin-szulfát szint mérése esetén nem szükséges az ürített vizelet mennyiségének megállapítása, ha a melatonin mennyiségét arányosítjuk a vizelet kreatinin szintjéhez.

A kreatinin az izmokban megtalálható kreatin és a foszfo-kreatin (p-kreatin) metabolitja. A kreatin egy része spontán alakul át az izmokban kreatinné, a vérbe diffundál, és kizárólag a vesén keresztül ürül. A kreatinin viszonylag állandó mennyiségben termelődik, és mivel csak a vesén át távozik a szervezetből, így vizeletben egyszerűen, non-invazív módon mérhető, és a vese szűrletképzéséről ad meglehetősen pontos képet [188].

Részkutatásunk során a szervezet eltolódott szerotonin-, és melatonin szintjével terveztük alátámasztani hipotézisünket, illetve megvizsgáltuk a nyál alfa-amiláz szintjét is, ami szakirodalmi adatok szerint érzékeny jelzője lehet az akut- és krónikus stressznek, illetve a szimpatikus idegrendszer aktivációjának egyaránt [34, 175, 189]. Célunk volt, hogy diagnosztikus mérési eredményeinkkel az ADHD kérdőívek eredményeit meg tudjuk erősíteni, ezzel bizonyítva, hogy a tejnek TFA esetén kóroki szerepe van a viselkedési eltérésekben is.

6.2 Módszer

6.2.1 Minta

Longitudinális vizsgálatunk mintagyűjtésére 2018. júliusa és 2020. decembere között került sor a Soproni Erzsébet Oktatókórház és Rehabilitációs Intézet gyermek-gasztroenterológiai szakrendelésén. A vizsgálati populáció 1-18 éves, TFA gyanúját felvető tünetekkel rendelkező csecsemők, gyermekek, serdülők csoportja.

A beteg kiválasztás módja és a kizárási kritériumok, valamint a vizsgálatba való bevonás ugyanazon feltételekkel (lásd 5.2.1 fejezet) zajlott, mint a korábbi vizsgálati helyszínen, Szekszárdon. A diagnózis felállításához ebben a populációban is az *1. ábra* szerinti diagnosztikai algoritmust vettük alapul.

A vizsgálatba bevont 36 gyermek közül heten (19,44%) nem teljesítették maradéktalanul a feltételeket, így őket kizártuk a kutatásból. Részvizsgálatunkban így 29 (fiú: 44,8%, átlag életkor: $7,10 \pm 4,20$ év) gyermek biológiai mintáit analizáltuk. A kizárás

okai: hiányosan kitöltött, vagy nem az összes (három db) kérdőív kitöltése (n=2, 5,56%); a biológiai minták hiánya, vagy értékelhetetlen mennyisége (n=1, 2,78%); az egy hónapos eliminációs diéta, majd az allergénnel való visszaterhelés során nem igazolódott a TFA (n=2, 5,56%); a kutatásban való részvételtől való, önkéntes visszalépés (n=2, 5,56%). A teljes mintából (n=29) a viselkedésbeli eltéréseket vizsgáló részkutatásunkban további 5 (17,24%) kisgyermeket zártunk ki, mert velük kapcsolatban a DSM-5 ADHD-tünetlista alapján összeállított kérdőív nem volt alkalmazható (3 év alattiak voltak). IBD, cöliákia, valamint szénhidrát emésztési - vagy felszívódási zavar miatt ebben a vizsgálati populációban sem volt szükség a vizsgálatból való kizárásra.

6.2.2 Nyálmintavétel és alfa-amiláz szint meghatározás

A nyálminták gyűjtése, tisztítása és tárolása az 5.2.4 alfejezetben leírtak szerint történt. Az összes minta visszaérkezését követően, a korábban előkészített nyálmintákból ELISA módszer segítségével határoztuk meg a kutatásban résztvevők nyál alfa-amiláz szintjét. A méréshez az IBL International Novatech Immundiagnostica GmbH (Hamburg, Németország) ELISA kitjét (RE80111 alpha-Amylase Saliva Assay) használtuk. A nyálmintákat duplikátumban vittük fel a plate-re (25µl/lyuk). A mérés során kapott mennyiségek mértékegységét (U/ml) mennyiségben tüntettük fel.

6.2.3 Vizeletmintavétel, 6-hidroxi-melatonin-szulfát, 5-hidroxi-indolecetsav és kreatinin-szint meghatározás

6.2.3.1 Vizelet mintavétel

A minták gyűjtését a felhasznált ELISA kitek felhasználási útmutatója szerint, a gyermekek otthonában, a reggeli ébredést követően, az első, középsugaras vizeletből kértük elvégezni az előre kiosztott, feliratozott, műanyag kupakkal ellátott, 10 ml-es mintavételi csövekbe. A minták visszaérkezését követően a begyűjtött elsődleges mintákat több, szekunder mintára (aliquot) osztottuk, ezeket hűtőben, 2-8 °C-on tároltuk maximum 72 órán keresztül, ezt követően a biomarkerek meghatározásáig -80 °C-ra helyeztük az aliquotokat.

6.2.3.1.1 Vizelet 6-hidroxi-melatonin-szulfát szintjének meghatározása

A fénytől védve tárolt vizeletminták szobahőmérsékleten történő felolvadását követően a melatonin-szulfát meghatározása a gyártói útmutató szerint történt. Vizsgálatunkhoz az IBL International GmbH (Flughafenstraße 52 a 22335 Hamburg, Germany) Melatonin-Sulfate Urine ELISA kitjét használtuk (referencia szám: RE54031). A vizeletmintákat duplikátumban vittük fel a plate-re (50µl/lyuk). A mérési eredményeket

ng/ml mértékegységben kaptuk meg, eredményeinket a vizsgálat során mért vizelet-kreatinin mennyiségekhez arányosítottuk.

6.2.3.1.2 Vizelet 5-hidroxi-indol-ecetsav szintjének meghatározása

A vizeletmintákhoz az ELISA kit felhasználási útmutatója szerint, 1 ml mintánként 10 µl 100%-os ecetsavat adtunk a minták stabilizálásáért. Ezt követően a mintákat fénytől védve, hűtve tároltuk. A normalizáláshoz vizelet kreatinin-meghatározás is történt. A méréshez az ALPCO (26-G Keewaydin Dr, Salem, NH 03079, USA) Serotonin ELISA kivet (verziószám: 2023-03-20 18.0-r - ALPCO 3.1) használtuk. A vizeletmintákat ebben az esetben is duplikátumban vittük fel a plate-re (25µl/lyuk). A mérés során kapott mennyiségeket ng/ml mértékegységben tüntettük fel, melyet minden esetben arányosítottunk a vizeletből mért kreatinin-szinttel.

6.2.3.1.3 Vizelet kreatinin-szintjének meghatározása

A vizeletminták szobahőmérsékleten történő felolvasztását követően a gyártó felhasználási útmutatója szerint desztillált vízzel hígítottuk $\geq 1:20$ arányban. A vizelet kreatinin-szintjének meghatározásához a Thermo Fisher (Thermo Fisher Scientific, 168 Third Avenue Waltham, MA USA 02451) Creatinine Urinary Detection ELISA Kivet (katalógusszám: EIACUN) használtuk. A kapott eredményeket átváltottunk mg/ml mértékegységre, hogy a melatonin-, illetve szerotonin bomlástermékeinek mért értékeihez megfelelően arányosítani tudjuk.

6.2.4 Kérdőíves adatfelvétel

A kutatócsoport által kidolgozott kérdőívek kitöltése pontosan aszerint zajlott, mint a szekszárdi betegcsoportnál, korábbi vizsgálataink során, melynek részletei az 5.2.7 fejezetben kerültek bemutatásra.

A gyermekek viselkedéssel kapcsolatos tüneteinek objektív felmérését saját szerkesztésű kérdőíveinkbe adaptált, DSM-5 ADHD pontozóskálájának kérdéseivel végeztük el [150].

6.2.5 Statisztikai analízis

A statisztikai elemzésekhez az SPSS, Chicago, Illinois, IBM SPSS 28.0 és a GraphPad, Boston, MA, Prism 9.5.1 nevű szoftverét használtuk: a leíró statisztika számítása mellett, a hipotézisvizsgálatok során a normalitásvizsgálat eredményei alapján (Kolmogorov-Smirnov próbák) Wilcoxon rangösszeg próbát, Mann-Whitney U-próbát, páros és független mintás t-próbákat, valamint Spearman féle rangkorrelációt végeztünk. A statisztikai szignifikancia szintjét $p < 0,05$ -re állítottuk be.

6.2.6 Etikai szempontok

A kutatás protokoll szerinti elvégzését a Győr-Moson-Sopron Vármegyei Petz Aladár Egyetemi Oktató Kórház Regionális Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága a 2018. 07. 03-i ülésén engedélyezte. (Hivatkozási szám: 76-1-16/2018).

Az adatok begyűjtése kizárólag tudományos céllal történt. Kutatásunk során gyűjtött minden információt szigorúan bizalmasan kezeltünk. Az adatokat harmadik személy számára nem adtuk ki, kóddal ellátva, biztonságos számítógépen, a kérdőíveket elzárt szekrényben őriztük. Az egyéni kódot minden kérdőív esetében a kutatásban résztvevő személy adta, és csak ő ismerte. Sem az adatokból, sem az eredményekből egyetlen résztvevő azonossága sem állapítható meg. A kutatásban való részvétel teljesen önkéntes.

A kutatás az Orvosok Világszövetsége által 1964-ben megfogalmazott Helsinkii Deklaráció ajánlását, illetve annak kiegészítéseit – beleértve a legutóbbi 2013-as Fortaleza-i – betartva valósul meg, valamint hatályos hazai törvényeknek és szabályozásoknak megfelelően zajlott [151].

6.3 Eredmények

6.3.1 Szociodemográfiai és klinikai adatok

Vizsgálatunkban összesen 29 gyermek vett részt (11. táblázat). A nemek aránya közel azonos, 44,83% fiú és 55,17% lány volt a vizsgált gyermekek között.

Kisded (17,24%), óvodás (24,14%) és kisiskolás (41,38%) korúak alkották a vizsgált populáció nagy részét, kisebb részben pre-pubertás (13,79%) és pubertás (3,45%) korcsoportba sorolt gyerekek.

A vizsgált gyermekek közel 1/3-ánál fordult elő a testvéreik körében atópia vagy gyulladásoos bélbetegség, míg ebben a tekintetben a szülők körében magasabb volt a betegségek előfordulási aránya (apa: 34,48%, anya: 44,83%).

A kutatás résztvevői leggyakrabban gastrointestinalis (89,66%) tünetekről számoltak be, de a légzőszervi (44,83%), a bőr- (55,17%) és idegrendszeri (68,97%) szimptomák is nagy számban fordultak elő. Legtöbb esetben több szervrendszert érintő panaszokkal érkeztek a szakrendelésre a gyermekek.

A kutatásba bevont gyermekek között nagy százalékban fordultak elő különböző ADHD-szerű tünetek, pszichés eltérések, mint a hiperaktivitás (38%), figyelemzavar (28%) és az alvási problémák (59%). Többször tapasztaltuk, hogy egy gyermeknél több viselkedésbeli eltérés is jelentkezhet.

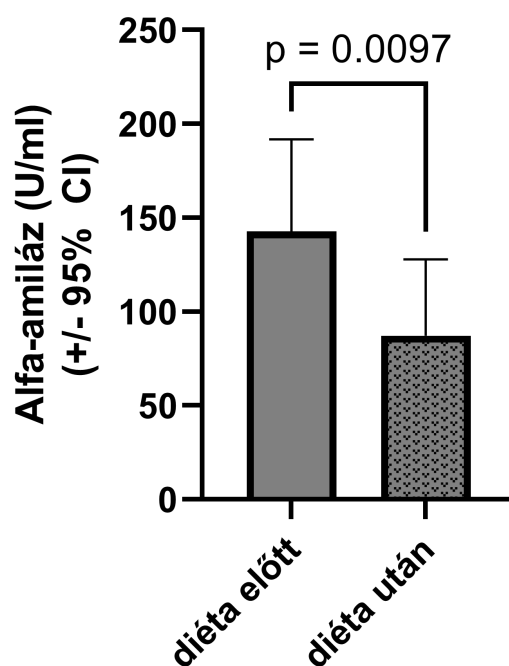
A táblázat 3. oszlopában tüntettük fel azon gyermekeket, akik szigorúan betartották az eliminációs diétát 3 hónapig, és az előzőekben bemutatott adatok erre az alpopulációra is feltüntetésre kerültek.

11. táblázat A teljes vizsgálati populáció és a kérdőívek alapján a szigorú eliminációs diétát tartó gyermekek csoportjának szociodemográfiai és klinikai adatai (Sopron)

Változók	Teljes vizsgálati populáció, N=29, n (%)	Diétát szigorúan tartók csoportja, n=22, n (%)
Nem		
Fiú	13 (44,83%)	10 (45,45%)
Lány	16 (55,17%)	12 (54,55%)
Korcsoport		
Kisded (1-3 év)	5 (17,24%)	5 (22,73%)
Óvodás (<3-6 év)	7 (24,14%)	6 (27,27%)
Kisiskolás (<6 – 11 év)	12 (41,38%)	9 (40,91%)
Pre-pubertás (<11 - 14 év)	4 (13,79%)	2 (9,09%)
Pubertás (<14- 18 év)	1 (3,45%)	0 (0%)
Családi anamnézis		
Atópiás vagy gyulladásos bélbeteg anya	13 (44,83%)	8 (36,36%)
Atópiás vagy gyulladásos bélbeteg apa	10 (34,48%)	7 (31,82%)
Atópiás vagy gyulladásos bélbeteg testvér	8 (27,59%)	7 (31,82%)
Tünetek		
Gastrointestinalis	26 (89,66%)	19 (83,36%)
Légzőszervi	13 (44,83%)	11 (50,00%)
Bőr	16 (55,17%)	13 (59,09%)
Idegrendszeri	20 (68,97%)	17 (77,27%)
Viselkedésbeli eltérések		
Alvászavar	17 (59%)	10 (45,45%)
Hiperaktivitás	11 (38%)	8 (36,36%)
Figyelemhiány	8 (28%)	6 (27,27%)

6.3.2 Nyál alfa-amiláz szint

A tejmentes diétát szigorúan tartók csoportjában négy gyermeknél nem tudtuk elvégezni az alfa-amiláz szint meghatározását az elégtelen mennyiségű nyálminta miatt. Tizennyolc gyermek reggeli és esti alfa-amiláz szintjét vizsgáltuk meg, ELISA módszerrel. Mivel ismert az alfa-amiláz cirkadián ritmusa, és jellemzően a kora esti órákban a legmagasabb a szintje, emiatt az esti mérési eredményekre helyeztük a fókuszot. A diétát szigorúan tartók (n=18) körében marginálisan szignifikáns csökkenést tapasztaltunk az alfa-amiláz szintjében (diéta előtt $117,18 \pm 69,25 \text{ U/ml}$ vö. diéta után $86,44 \pm 42,41 \text{ U/ml}$) $t(17)=1,982$ $p=0,064$ (2-tailed). A diétázók alcsoportjában (n=7), akiknél egyértelmű viselkedésbeli javulás mutatkozott, az alfa-amiláz kora esti szintjében szignifikáns, erős különbség mutatkozott a 3 hónapos diéta hatására (diéta előtt $142,79 \pm 52,98 \text{ U/ml}$ vö. diéta után $95,14 \pm 46,50 \text{ U/ml}$) $t(6)=3,734$ $p=0,010$ (2-tailed) $r=0,822$ (10. ábra).

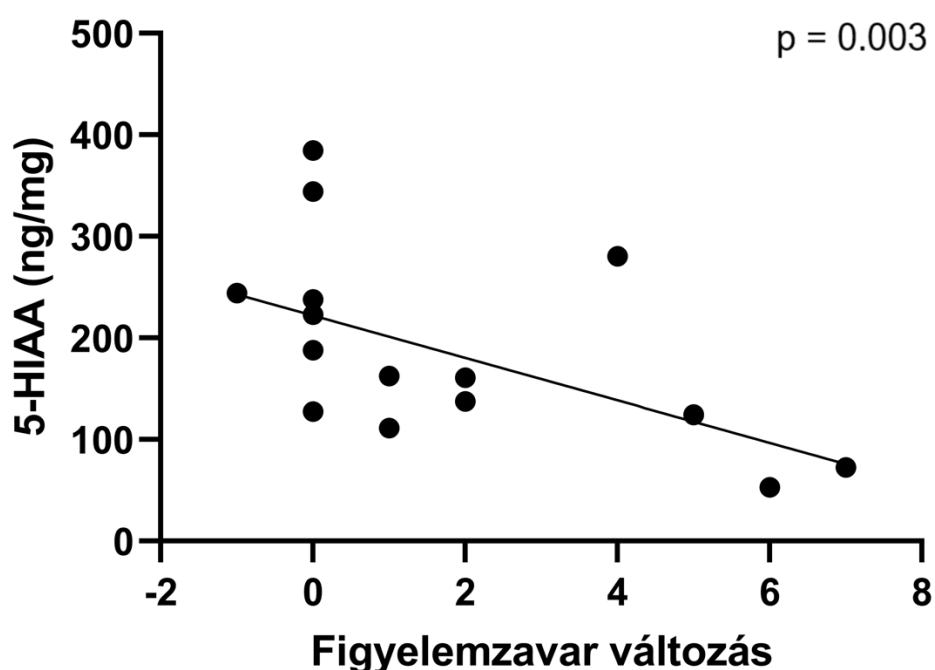


10. ábra: Nyál alfa-amiláz mennyisége viselkedésbeli javulást mutató diétázók alcsoportjában.

A diéta hatására viselkedésbeli javulást mutató gyermekek alcsoportjában az alfa-amiláz szint szignifikáns csökkenést mutatott (n=7, p=0,010).

6.3.3 Vizelet 5-hidroxi-indol-ecetsav szint

A diétázók csoportjából 5 gyermek vizelet 5-HIAA szintjének mérése nem valósult meg az elégtelen biológiai minta vagy a minta teljes hiánya miatt, így 17 gyermek diéta előtti és azt követő vizelet vizsgálatát végeztük el. A teljes alcsoportot vizsgálva tendenciózus változás figyelhető meg a diéta hatására. A szerotonin metabolitjának mennyisége a szigorú tejmentes diéta hatására lecsökkent (diéta előtt: $202,18 \pm 116,04$ ng/mg vö. diéta után: $181,72 \pm 92,51$ ng/mg, $p=0,287$), azonban szignifikáns eltérés e tekintetben nem igazolódott. A diétázó, impulzív gyermekek ($n=5$) ADHD pontjait tekintve javulást tapasztaltunk, és az ADHD pontozóskála pontjainak csökkenése erős korrelációt mutatott a vizeletben mért, alacsonyabb 5-HIAA szinttel, $r_s=-0,628$ $p=0,003$ (2-tailed) (11. ábra).

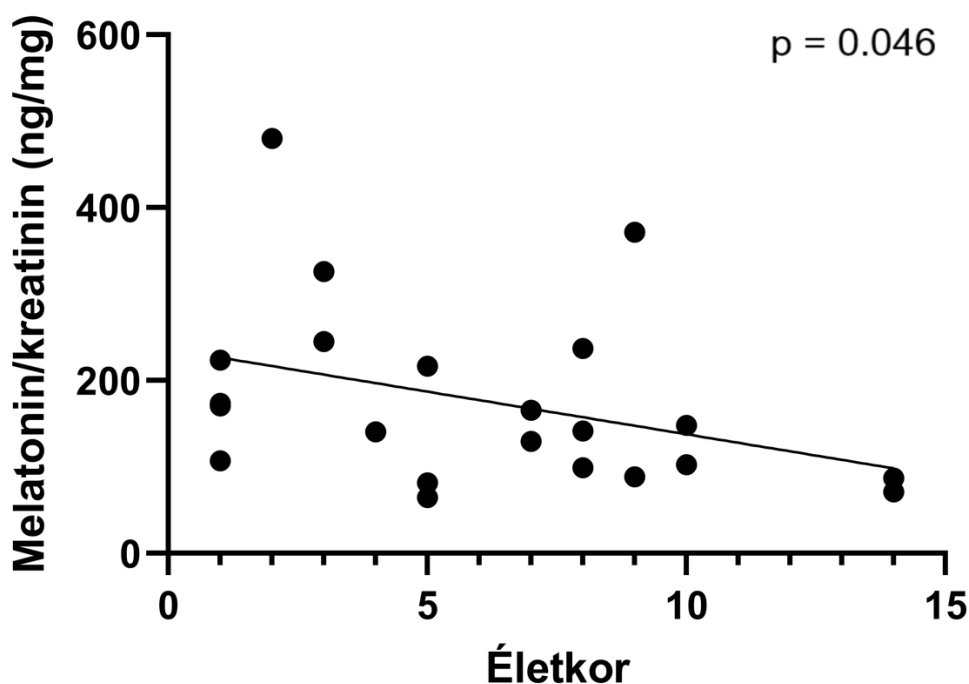


11. ábra: Korreláció az impulzív, diétát szigorúan tartó gyermekek ADHD pontjainak csökkenése és a vizeletben mért 5-hidroxi-indol-ecetsav szintje között. Az ADHD pontozórendszer szerinti impulzív gyermekek ADHD pontjainak javulása erős korrelációt mutatott a vizeletükben mért 5-HIAA szinttel ($n=5$, $p=0,003$).

5-HIAA: 5-hidroxi-indol-ecetsav

6.3.4 Vizelet 6-hidroxi-melatonin-szulfát szint

Huszonhét gyermek vizeletmintáját analizáltuk, két gyermeknek nem volt megfelelő mennyiségű mintája. Az a6MTs koncentrációja tendenciózusan mutatta a hipotézisünk szerinti növekedést a diétát követők csoportjában ($n=22$), azonban eredményeink nem mutattak szignifikáns változást (diéta előtt $180,82 \pm 107,17 \text{ ng/mg}$ vö. diéta után $189,76 \pm 171,83 \text{ ng/mg}$, $p=0,783$). Az alvási problémákkal érkező ($n=10$), szigorúan diétázó gyermekek melatonin-szulfát szintjében is hasonló, kissé kifejezettebb emelkedés volt tapasztalható, azonban ezek az értékek sem érték el a statisztikai szignifikancia-küszöböt ($186,55 \pm 127,19 \text{ ng/mg}$ vö. $22,60 \pm 222,60 \text{ ng/mg}$, $p=0,508$). A diétázó gyermekek életkora és a kapott a6MTs szintek között közepesen erős, szignifikáns korreláció mutatkozott $r_s = -0,430$ $p=0,046$ (2-tailed) (12. ábra).



12. ábra: Korreláció a diétát szigorúan tartó gyermekek életkora és a vizeletben mért 6-hidroxi-melatonin-szulfát szintje között. Közepesen erős, szignifikáns korreláció mutatkozott a gyermekek életkora és az a6MTs szintek között ($n=22$, $p=0,046$).

a6MTs: 6-hidroxi-melatonin-szulfát

6.4 Megbeszélés

Korábbi részkutatásunk során tapasztaltuk, hogy szembetűnően sok gyermek szülője említi panaszként a TFA különböző szomatikus tünetei mellett a gyermek hiperaktív viselkedését, a figyelemzavart vagy az alvási nehézségeket. Kutatócsoportunk által összeállított, szakértői kérdőívbe adaptáltuk a DSM-V ADHD pontozóskáláját, hogy objektívan láthassuk az esetleges viselkedésbeli eltéréseket az érintett gyermekeknél. Célunk volt a tejfehérje okozta megváltozott magatartási és alvásproblémákat objektív, diagnosztikai paraméterekkel alátámasztani.

ADHD-s és ASD-ben szenvedő gyermekpopulációt vizsgáló több szakcikk tárgyalja a tejmentes (esetleg gluténmentes) diéta jótékony hatását [31, 32, 142]; azonban a szakirodalom e téren hiányos. Míg ADHD és ASD esetén is vizsgálják a szigorú eliminációs diéta jótékony hatását a betegség több aspektusára tekintettel, addig fordított összefüggésben, miszerint a tejfehérje okozta viselkedésbeli eltérések milyen módon és mértékben javulnak a tejtermékek fogyasztásának kivezetésével, ezzel kapcsolatos kutatást nem találtunk. A fellelhető szakcikk a TFA okozta pszichológiai eltérések változását nem vizsgálják a tejfehérje-mentes diéta bevezetését követően [33].

Az ADHD egy elterjedt neuropszichiátriai betegség, mely kisgyermekek és serülők körében is gyakori [169]. Az ADHD jellemző tünetei közt említjük a figyelemzavart, hiperaktivitást és impulzivitást, emellé többször társul alvászavar is, melyek a beteg gyermek és családja életminőségét negatív irányba befolyásolja [170-172].

Az ADHD neurobiológiai háttere, illetve a TFA-s gyermekek ADHD-szerű tüneteinek esetében a tejfehérje kóroki szerepe nem tisztázott; a biológiai stresszválasz háttérmechanizmusai ismertek, a HPA- vagy a SAM-tengely felelős a stresszreakciók kialakulásáért. Mivel egy korábbi kutatásunk során megvizsgáltuk a HPA tengely eltolódott működésére utaló kortizol szintet, és nem kaptunk szignifikáns, meggyőző eredményeket, ezért jelen kutatásunk során a másik lehetséges mechanizmusra fókuszáltunk, ami a gyermekek viselkedésbeli eltéréseiért felelős lehet; a stressz hatására azonnali aktiválódást mutató szimpatoadrenomedulláris (SAM) tengelyre, a nyálból meghatározott alfa-amiláz szint segítségével. Feltételezésünk szerint a TFA-s gyermekek nagy részénél hasonló mechanizmusok állhatnak a háttérben, melyek az allergén huzamosabb ideig tartó megvonásával rendeződhetnek [173].

Prospektív vizsgálatunk a Soproni Erzsébet Kórházban zajlott. A 29, vizsgálatba bevont gyermek között a fiúk és lányok aránya (44,83% fiú) közel azonos volt, korcsoportjukat tekintve pedig jellemzően a fiatalabb (11 éves kor alatt) korosztály volt

jelentős többségben (82,76%). Tüneteiket tekintve a viselkedés- és alvászavarral érkezők a teljes minta több, mint 50%-át adták (68,97%).

Vizsgálataink során a diagnosztikai tesztek elvégzése mellett egy szakértői kérdőív kitöltését kértük a szülőktől, mely a DSM-V ADHD tünetlistáját is tartalmazta. A kérdőívek kiértékelése során kaptunk objektívebb képet a szülők által említett hiperaktivitásról és figyelemhiányról, valamint az alvási problémákról.

Kutatásunk során a kérdőívek alapján külön alcsoportba kerültek a diétát szigorúan tartó gyermekek (n=22), mert érdemi változást és a tejfehérje kóroki szerepét ebben a populációban tudtuk megfigyelni.

Rohleder és munkatársai az alfa-amiláz szintjét vizsgálták stresszreakciót követően, eredményeikkel pedig alátámasztották, hogy a stresszválasz az alfa-amiláz esetén szignifikáns növekedést mutatott, mely pozitívan korrelált a katekolamin-szinttel [175]. A TFA okozta viselkedésbeli eltéréseknek, illetve az ebből adódó stressz szintjének diagnosztikus mérését az alfa-amiláz szintjének meghatározásával végeztük el. Kora esti nyálmintákat vizsgáltunk és eredményeink a diétát szigorúan tartó gyermekek körében marginálisan szignifikáns csökkenést mutattak ($p=0,064$). Ha összevetettük a diéta eredményezte viselkedésbeli javulást az alfa-amiláz szinttel, a viselkedésben látványos javulást mutatók körében (n=7), szignifikáns, erős összefüggést találtunk a csökkent alfa-amiláz szinttel ($p=0,010$).

Az utóbbi években gyakran vizsgálják a szerotonin mennyiségét, illetve annak eltolódott mintázatát pszichiátriai kórképekben, például ASD-ben vagy ADHD-ban [181-183]. Novkovic és kutatócsoportja ADHD-s és egészséges gyermekek szerotonin szintjét hasonlították össze, mely során szignifikáns, pozitív korrelációt találtak az 5-HT koncentrációja és az impulzív tünetek tekintetében [183]. Vizsgálatunk során a szerotonin metabolitjának (5-HIAA) szintjét határoztuk meg, mely jól korrelál a vér szerotonin koncentrációjával [178, 190]. A szigorú tejmentes diéta hatására az 5-HIAA mennyiségében tapasztalt csökkenés nem érte el a szignifikancia küszöbértékét ($p=0,287$). A diétázó, impulzív gyermekek (n=5) ADHD pontjait tekintve javulást tapasztaltunk és az ADHD pontozóskála pontjainak csökkenése erős korrelációt mutatott a vizeletben mért, alacsonyabb 5-HIAA szinttel ($p=0,003$). Eredményeink megegyeznek a Novkovic és mtsi által végzett vizsgálati eredményekkel, melyek a vérlemezke szerotonin-koncentrációját korreláltatták ADHD-s gyermekek körében. Esetükben is csak az impulzív gyermekeknél volt tapasztalható szignifikáns csökkenés a szerotonin mennyiségének tekintetében [183].

A vizsgálatunkba bevont gyermekek 59%-a említette panaszként az alvási nehézségeket a szakrendelésen való megjelenés alkalmával. Kutatásunk során bizonyítani

terveztük hipotézisünket, mely szerint a megváltozott alvási szokások hátterében a melatonin alacsonyabb koncentrációja állhat. Elsősorban az „alvás hormonjaként” tekintünk a melatoninra, vizsgálata is főként alvási problémákat is okozó kórképekben (pl. ADHD, ASD) releváns. A szakirodalom nem egységes, néhányan egyértelműen pozitív összefüggést találtak a csökkent melatonin-szint és az éjszakai alvási zavarok között [185, 186], míg mások nem tudták bizonyítani a korrelációt a csökkent melatonin-koncentráció és az alvásproblémák tekintetében [187]. A vizeletben egyszerűen és non-invazív módon mérhető az aMT6s, melynek mennyisége erősen korrelál a vérplazma melatonin koncentrációjával [184]. Kutatásunk során a melatonin-szulfát szintjében nem találtunk erőteljes növekedést a tejfehérjementes diéta hatására. Az alvási problémákkal érkező (n=10) gyermekek melatonin-szulfát szintjét vizsgálva is hasonló eredményt kaptunk, bár ebben az alcsoportban kissé kifejezettebb emelkedés volt tapasztalható, azonban eredményeink statisztikailag ebben az alpopulációban sem mutattak szignifikáns változást ($p=0,508$). A diétázó gyermekek életkora és a kapott a6MTs szintek között közepesen erős, szignifikáns korrelációt találtunk ($p=0,046$), mely eredményünk megfelel a melatonin referenciatartományának életkorral való csökkenésével [184].

Kutatásunk során a szervezet eltolódott szerotonin-, és melatonin szintjével terveztük alátámasztani hipotézisünket, illetve megvizsgáltuk a nyál alfa-amiláz szintjét is, ami szakirodalmi adatok szerint érzékeny jelzője lehet a stressznek, illetve a szimpatikus idegrendszer aktivációjának egyaránt [34, 175, 189]. Célunk volt, hogy diagnosztikus mérési eredményeinkkel az ADHD pontozóskála eredményeit meg tudjuk erősíteni, ezzel bizonyítva, hogy a tejnek kóroki szerepe van a viselkedési eltérésekben is TFA esetén. Diagnosztikus méréseink alapján elmondhatjuk, hogy a kapott biomarker-szintek hasonlóan eltolódtak TFA-ban, mint ADHD-ban, azonban eredményeink visszafogottabban tükrözik a megváltozott viselkedés hátterében álló patomechanizmusokat. Mindez magyarázható azzal, hogy vizsgálati csoportunk tagjai nem pszichiátriai/pszichológiai kórképekkel érkeztek, a megváltozott viselkedés hátterében a tejfehérje-allergia állhat. Eredményeink alapján megerősíthetjük, hogy érdemi változást, akár a viselkedésbeli eltérésekben, akár a TFA okozta alvási zavarokban csak a szigorú eliminációs diéta hozhat.

Vizsgálatunk limitációja az alacsony elemszám, emiatt a jövőben tervezzük vizsgálataink folytatását szélesebb körben elvégezni.

7. Következtetések

A frissen diagnosztizált tehéntejfehérje-allergiás gyermekek számának kifejezett növekedése komoly terhet jelent az egészségügyi ellátórendszernek, az érintett gyermekeknek és családjaiknak, ami felhívja a figyelmet az ezen a területen folyó kutatások fontosságára. Másfelől, mivel a 3 év alatti gyermekpopulációban a TFA a leggyakoribb táplálékallergia, a tejfehérje-allergia patomechanizmusának pontosabb, molekuláris szintű megértése elősegítheti új, potenciális terápiás célpontok felismerését a jövőben.

Az IgE által közvetített allergiák kialakulási hatásmechanizmusát szakirodalmi adatokból kellő részletességgel ismerjük, azonban a nem-IgE-mediált allergiák és a kevert allergiás betegségek mechanizmusának részletei továbbra sem ismertek teljes pontossággal, emiatt további kutatásokra és a diagnosztikai módszerek szélesebb spektrumának feltárására van szükség, mely újabb terápiás lehetőségeket nyithat.

A TFA terápiás megközelítés egyre inkább tart a „passzív” kezeléstől a „proaktív” kezelések irányába, ami a tejfehérje-allergiás gyermekek tehéntej-fogyasztásával kapcsolatos különféle immunológiai mechanizmusok pontosabb megértésének fontosságára világít rá. A TFA kialakulásának mechanizmusaira vonatkozó átfogó ismeretek még tovább javíthatják a jelenlegi prevenciós stratégiákat.

A betegség tünettana rendkívül sokrétű, így felismerése a mai napig kihívást jelenthet a házi orvosoknak és klinikai szakorvosoknak egyaránt. Ezen túl, mivel többféle hatásmechanizmus is állhat az allergiás reakciók kialakulásának hátterében, ez további nehézségeket okozhat a diagnózis pontos és korai felállításában.

Az IgE-mediált allergia tünetei azonnal jelentkeznek (pl.: anafilaxia, akut urticaria, hányás, stb.), míg a nem-IgE-mediált allergia tünetei késleltetve jelennek meg (pl.: atópiás dermatitis, krónikus hasmenés, krónikus hányás, stb.), de előfordulhat ezek kevert megjelenési formája is.

Longitudinális, multicentrikus vizsgálatunkba nem véletlenszerű, célirányos szakértői betegkiválasztás történt a Tolna Vármegyei Balassa János Kórház és a Soproni Erzsébet Oktatókórház és Rehabilitációs Intézet gyermek-gasztroenterológiai szakrendelésén.

Célunk volt megtalálni a legalkalmasabb kiegészítő diagnosztikai módszert a TFA fennállásának alátámasztására, valamint, a TFA okozta organikus és esetenként pszichés eltérések jelentkezésének okát, illetve ezek molekuláris hátterét feltérképezni, végül pedig a szigorú eliminációs diéta jótékony hatásait kívántuk monitorozni objektív paraméterek segítségével. A TFA vizsgálata során alkalmazott diagnosztikai módszereket megvizsgálva, eredményeink a nemzetközi és hazai szinten is elfogadott nézeteknek teljes mértékben

megfeleltek. A klinikumban rutinszerűen alkalmazott szérumban IgE és Prick tesztek, vagy az LTT, mint objektív vizsgálati módszerek nem alkalmasak önmagukban a TFA fennállásának bizonyítására vagy annak elvetésére, viszont az FC szint meghatározása megfelelő módszer lehet a TFA okozta allergiás colitis fennállásának, ezzel a TFA diagnózisának megerősítésére és utánkövetésére, valamint eredményeink szerint a Bristol skála alkalmazása is fontos szerepet kaphat az eliminációs diéta hatásainak monitorozására, mely jó mutatója lehet az allergia okozta bélgyulladás javulásának, és a diéta jótékony hatásának.

Viselkedésbeli eltéréseket feltáró rész kutatásunkhoz hasonló vizsgálatokkal kapcsolatos közleményt sem a hazai, sem a nemzetközi szakirodalomban nem találtunk. A vizsgált populációban nagy számban fordult elő tünetként hiperaktivitás, impulzivitás, figyelem- és alvászavar. Összességében elmondható, hogy a diétát követően az ADHD tünetlista alapján szerzett pontokat figyelembe véve, szignifikáns javulást tapasztaltunk az érintett gyermekek körében, valamint hasonló eredményeket láttunk az alvászavart megemlítő gyermekek ADHD- pontjaival kapcsolatosan is.

Az ADHD-jellegű tünetek hátterében fennálló hormon- és mediátor eltéréseket objektív diagnosztikai módszerekkel terveztük bizonyítani, emiatt határoztuk meg első lépésként a nyál kortizol-szintjének mérését. Több nemzetközi tanulmány számol be gyermekeknél alacsonyabb kortizol értékekről ADHD esetén, viszont vizsgáltunk során a kortizol-szint a hiperaktív/figyelemhiányos tüneteket mutató gyermekek körében nem mutatott szignifikáns eltérést az ilyen jellegű tüneteket nem mutató gyerekek csoportjában mért eredményektől. Az eliminációs diéta előtti-utáni eredmények sem mutattak számottevő különbséget a teljes vizsgálati populációban. Mivel a kortizol-szint meghatározás nem mutatott szignifikáns változást az viselkedésbeli tünetekkel érkezők és az ilyen tünetet nem említő gyermekek között, így feltételeztük, hogy ezen tünetegyüttesek hátterében másféle patomechanizmus, nem a HPA tengely megváltozott működése áll. A biológiai stresszválasz háttere ismert, így megvizsgáltuk a stressz hatására azonnali aktiválódást mutató szimpatoadrenomedulláris (SAM) tengelyt, mely legegyszerűbb, non-invazív mérési módszere a nyálból meghatározott alfa-amiláz szint. Az alfa-amiláz mennyiségének meghatározása hasznos markernek bizonyult vizsgálati csoportjainkban a TFA okozta stressz kimutatásában, eredményeink pedig megegyeznek a nemzetközi szakirodalomban leírtakkal. A kapott eredmények a diétát szigorúan tartók körében marginálisan szignifikáns csökkenést mutattak. A diétát tartó gyermekek azon csoportjában, akiknél javulást tapasztaltunk a ADHD-szerű tünetek fennállásában, szignifikáns csökkenést tapasztaltunk az alfa-amiláz szintek tekintetében. Ezen eredményeink összhangban vannak a diétát követő ADHD-pontok javulásával.

A szerotonin (és annak bomlástermékei) fontos biomarkere lehet különböző pszichológiai problémáknak, gyakran vizsgálják az ADHD, ASD, vagy akár a depresszió hátterének feltérképezésére. Ezen nyomvonalon haladva vizsgáltuk a szerotonin fő metabolitjának, az 5-HIAA-nak szintjét. A diétát szigorúan betartó gyermekek alcsoportját vizsgálva, a nemzetközi szakirodalmi adatokkal összehangban, tendenciózus változást tapasztaltunk a szigorú eliminációs diétát követően. Az 5-HIAA mennyisége a szigorú tejmentes diéta hatására lecsökkent, azonban szignifikáns eltérést e tekintetben nem kaptunk. Erős korrelációt mutattunk ki az alacsony szerotonin-metabolit szint és a diétát tartó, impulzív gyermekek viselkedésében bekövetkezett javulás között, ami szintén összecseng a szakirodalmi adatokkal.

Egy másik széles körben kutatott, megfelelő diagnosztikus értékű biomarker, a melatonin, melynek szintje különböző neurodivergens működések (ASD, ADHD), alvási rendellenességek, és immár ételallergiák okozta alvási problémák megfelelő jelzője lehet. A vizsgálatban megfigyelt 20 gyermek a6MTs koncentrációja tendenciózusan mutatja a hipotézisünk szerinti növekedést a diétát követően, azonban eredményeink nem szignifikánsak (diéta előtt $180,82 \pm 107,17$ vö. diéta után $189,76 \pm 171,83$, $p=0,783$). Az alvási problémákkal érkező ($n=10$), szigorúan diétázó gyermekek melatonin-szulfát szintjében is hasonló, kissé kifejezettebb emelkedés volt tapasztalható, azonban ezek az értékek sem érték el a statisztikai szignifikancia-küszöböt ($186,55 \pm 127,19$ vö. $22,60 \pm 222,60$, $p=0,508$). A diétázó gyermekek életkora és a kapott a6MTs szintek között közepesen erős, szignifikáns korreláció mutatkozott ($p=0,046$).

Kutatásunk eredményei alapján elmondhatjuk, hogy a tehéntejfehérje-allergiás gyermekeknél a pontos diagnózis felállításához nem elegendő a sIgE vizsgálat, a Prick teszt vagy a lymphocyt-transzformációs teszt elvégzése, ezek önmagukban nem támasztják alá a betegség fennállását, ugyanakkor negativitásuk nem zárja ki az allergia diagnózisát. Továbbra is az eliminációs diétát követő visszaterhelés a legbiztosabb, szakmai ajánlásokban is javasolt módja a táplálékallergia diagnosztizálásának. Kutatási eredményeink alapján egyértelműen állíthatjuk, hogy mind a klinikai tünetek, mind a pszichés eltérések terén látványos és szignifikáns javulás érhető el a szigorú eliminációs diéta tartásával.

Kutatásunk célja volt a tejmentes étrend hatékonyságának felmérése is, melyeket megfelelő, objektív paraméterekkel kívántunk alátámasztani. A diagnosztikai módszereink eredményei és kérdőíveink kiértékelése alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy az allergén okozta, legtöbbször csak mérsékelten emelkedett FC szint csak a szigorú eliminációs diétát követő gyermekeknél csökken szignifikánsan. Ezek alapján elmondhatjuk, hogy az említett biomarker a TFA okozta tünetek

enyhülésének/megszűnésének megfelelő indikátora lehet, valamint a FC-szint mérését az allergén által okozott bélgyulladás mértékének nyomon követésére is megbízhatóan használható. A FC szint mérése, mint kvantifikációs módszer (POCT) egyszerűen, non - invazívan, olcsón és gyorsan elvégezhető, így fontos szerepe lehet a TFA pontosabb diagnózisának felállításában és az étrendi megfelelés nyomon követésében is. Hasonlóan hasznos és megbízható módszernek bizonyult a széklet konzisztencia vizsgálata (Bristol skála segítségével). Ezen módszer segítségével pontosan követhető az allergiás colitis okozta megváltozott széklet konzisztencia, illetve monitorozni tudtuk a szigorú tejmentes-diéta hatását a széklet állagára vonatkozóan, ezzel pedig, közvetve információt nyertünk az allergiás bélgyulladás fennállásáról, illetve a gyulladás javulásáról és esetleg megszűnéséről.

8. Limitációk

Longitudinális, multicentrikus vizsgálatunk során 1-18 életkorú gyermekeket válogattunk be. Kutatásunk egyik limitációja, hogy a humán diagnosztikai minták (nyál, vizelet, széklet) gyűjtése a gyermekek otthonában, szakértő felügyelő személyzet nélkül történt, így előfordulhatott, hogy a mintavételezés nem pontosan, a szakrendelésen megbeszélt és a betegtájékoztatóban leírt körülmények között zajlott, emiatt pedig a mérési eredményekben némi torzulás lehetséges. Az elemszám növelésével az eredményeink pontosabb meghatározása válna lehetővé, emiatt tervezzük a vizsgálatok szélesebb körben való kivitelezését.

9. Új tudományos eredmények

- A széklet kalprotektin teszt egy gyors, viszonylag olcsó és egyszerű, non-invazív diagnosztikus módszer az allergiás bélgyulladás, így a tejfehérje-allergia okozta allergiás colitis, ezáltal a tehéntejfehérje-allergia fennállásának alátámasztására, egyúttal a betegség diagnózisának megerősítésére. Hosszabb távon alkalmas az allergén kiváltotta bélgyulladás mértékének megállapítására, nyomon követésre, esetleges visszaterhelés esetén pedig egyszerűen monitorozható, ha a béltraktus állapotában változás lép fel.
- Tanulmányunk is alátámasztja, hogy a tejfehérje-allergia az esetek nem elhanyagolható százalékában nem-IgE-mediált, emiatt a diagnózis felállítása során a specifikus IgE-szint mérése és a Prick teszt eredménye önmagában nem lehet diagnosztikus értékű.
- A tejfehérje-allergia által indukált viselkedésbeli eltérések korrelálnak a stresszre és alvásminőségre specifikus biomarkerek megváltozott szintjeivel. A normál működéshez szükséges mennyiségek eltolódásával diagnosztikusan is bizonyítható, hogy a tejfehérje-allergia kiválthat magatartási problémákat (alvási nehézségek, hiperaktivitás, romló tanulási és koncentrációs képességek), melyek a szigorú eliminációs diéta hatására javulást vagy a tünetek megszűnését mutatják.
- Kutatásunk során tapasztaltak szerint a széklet konzisztencia vizsgálata (Bristol skála segítségével) értékes része lehet a TFA okozta gastrointestinalis eltérések felismerésének és nyomon követésének, mindezt egyszerűen, gyorsan, non-invazívan és költséghatékonyan lehet megtenni.

10. Javaslatok

- Kutatási eredményeink alapján szükségszerű lehet egy országos felmérés elvégzése, mely nagyban segítené feltárni, hogy a kisded- és kisgyermekkorban elfogyasztott, nagy mennyiségű (naponta kb. 0,5 liter tejnek megfelelő) tejtermék fogyasztása milyen hatással van a tehéntejfehérje-allergia kialakulására.
- A CoMiSS pontozóskála használata a klinikumban dolgozó gasztroenterológusok munkáját nagyban támogathatná, illetve ennek használatával egyszerűbben, gyorsabban és egységesebben, valamint sokkal objektívebben lehetne megítélni a kisgyermekkorban jelentkező tehéntejfehérje-allergia fennállását.
- Jelenleg a gasztroenterológiai szakrendelésekre érkező, tejfehérje-allergia tüneteit mutató gyermekek elsődleges diagnosztikai módszerei közé tartozó, IgE, specifikus IgE és Prick tesztek elvégzésén túl, a nem-IgE-mediált tejfehérje-allergia diagnosztizálására érdemes lenne nagyobb hangsúlyt fektetni, mert sajnos sok esetben a negatív Prick teszt és/vagy IgE vizsgálatok miatt nem kapja meg a gyermek időben a megfelelő iránymutatást a diétás táplálkozást illetően, ami mind az ellátórendszerre, mind a családra is további terheket ró.
- Kutatásunk során kapott eredményeinket figyelembe véve a FC tesztelése és a Bristol széklet skála alkalmazása rendkívül nagy segítség lehet a diagnózis megerősítésében, az allergiás colitis fennállásának monitorozásában, illetve a gyulladás mértékének utánkövetésében. Mivel a tejfehérje-allergia főleg kisded- és kisgyermekkorban a leggyakoribb, fontos lenne, hogy legyen olyan megbízható, non-invazív, egyszerű, gyors, és nem túl költséges diagnosztikai eljárás, mely objektív paraméterként segítené a szakorvosi diagnózis felállítását.
- Az ételallergiák diagnosztizálásával és kezelésével kapcsolatban is vannak még megoldatlan kérdések, viszont kiemelkedő fontosságú lenne a hazai diagnosztikai és kezelési protokollok egységesítése és a nemzetközi aktuális szakmai irányelvekkel való megfeleltetése.

11. Köszönetnyilvánítás

Hálás vagyok témavezetőmnek, Dr. Tóth Gergelynek, segítségéért és tanácsaiért doktori kutatásom során.

Talán szavakkal ki sem tudom fejezni hálámat húgomnak, Dr. Emmert Vanesszának és nem tudom neki elégszer megköszönni, hogy mindenképp bízott bennem, és támogatott minden körülmények között.

Köszönettel tartozom az Egészségtudományi Doktori Iskolának, Prof. Dr. Sulyok Endrének, a Perinatális Egészségtudomány programvezetőjének, a Doktori Iskola volt titkárának, valamint Dr. Prémusz Viktóriának, a Doktori Iskola titkárának a kimondhatatlanul sok segítségért, útmutatásért és támogatásért.

Köszönettel tartozom továbbá a Pécsi Tudományegyetem Idegsebészeti Klinika volt és jelenlegi vezetőjének, Prof. Dr. Büki Andrásnak, és Prof. Dr. Schwarcz Attilának, hogy lehetőséget biztosítottak tudományos munkám végzésére, klinikai feladataim mellett, valamint szeretném hálás köszönetemet kifejezni Dr. Tóth Péternek, az Idegsebészeti Klinika adjunktusának minden kutatási és publikációs tanácsáért, és támogatásáért.

Nagyon köszönöm Dr. Sarlós Patrícianak, a Pécsi Tudományegyetem 1. számú Belgyógyászati Klinika egyetemi docensének, gasztroenterológus szakorvosának a támogató iránymutatását és segítségét, valamint, hogy lehetőséget adott a klinikán vizsgálati mintáim diagnosztikai méréseinek lefolytatására.

Magyar-Sümegei Zsófia Dina, Dr. Makai Alexandra, Dr. Fusz Kata, Dr. Eklicsné Lepenye Kata, Gulyás Istvánné, Dr. Czeiter Endre, Amrein Krisztina, Ligetvári Roland szakmai és személyes segítségükkel, tanácsaikkal, útmutatásukkal segítették kutatásom sikeres lefolytatását, amit nagyon-nagyon köszönök mindannyiuknak.

Hálámat szeretném kifejezni barátaimnak, kollégáimnak, hogy mindvégig mellettem álltak, támogattak, és lelkesítettek.

A Tolna Vármegyei Balassa János Kórház, valamint a Soproni Erzsébet Oktatókórház és Rehabilitációs Intézet ápolónőinek is köszönöm a mintagyűjtésben tanúsított önzetlen együttműködésüket.

Szeretném ezúton is megköszönni a tehéntejfehérje-allergiás gyermekeknek és szüleiknek, hogy részt vettek a vizsgálatban és együttműködésükkel támogatták, hogy eredményesen véghez vigyem az eltervezett kutatásomat.

Hálás köszönetemet szeretném kifejezni a Richter Gedeon Táalentum Alapítvány Kuratóriumi Bizottságának, amiért fantáziát láttak bennem, és érdekesnek találták a kutatásom arra, hogy az ösztöndíjasukként végezhessem el a doktori képzést, melyhez minden támogatást megadtak.

Végül a legfontosabbak, akiknek az elmúlt években nyújtott támogatásuk, biztatásuk, végtelen, és még annál is több türelmük és belém vetett hitük nélkül nem sikerülhetett volna... szívből köszönök mindent a családomnak; csodálatos lányaimnak, Lottinak és Mollinak, szerető férjemnek, Péternek, szüleimnek, testvéreimnek és legnagyobb drukkeremnek, csodálatos Nagymamámnak.

12. Saját közlemények jegyzéke

12.1 In extenso közlemények

12.1.1 Disszertáció témájában

1. **Lendvai-Emmert Dominika**; Emmert Vanessza; Fusz Katalin; Prémusz Viktória; Németh Viktória; Ligetvári Roland; Tóth Gergely Péter
A gyermekkori tehéntejfehérje-allergia diagnosztikai kihívásai
Orvosi Hetilap 160: 33 pp. 1311-1318., 8 p. (2019)
IF: 0,497, Q3
2. Tóth Gergely; Emmert Vanessza; **Lendvai-Emmert Dominika**
A székletkalprotektin szerepe a gasztroenterológiai diagnosztikában
Gyermekorvos Továbbképzés 19: 1 pp. 11-14., 4 p. (2020)
3. **Lendvai-Emmert Dominika**, Emmert Vanessza, Tóth Gergely
Táplálékallergiák gyermekkorban
Gyermekgyógyászati Továbbképző Szemle 27: 4 pp. 112-116., 5 p. (2022)
4. **Lendvai-Emmert Dominika**; Emmert Vanessza; Makai Alexandra; Fusz Katalin; Prémusz Viktória; Eklics Kata; Sarlós Patrícia; Tóth Péter; Amrein Krisztin; Tóth Gergely
Fecal calprotectin levels in pediatric cow's milk protein allergy
Frontiers in Pediatrics 10 Paper: 945212, 8 p. (2022)
IF: 3,569, Q1
5. Emmert Vanessza*; **Lendvai-Emmert Dominika***; Eklics Kata; Prémusz Viktória; Tóth Gergely Péter
Current Practice in Pediatric Cow's Milk Protein Allergy-Immunological Features and Beyond
International Journal of Molecular Sciences 24: 5 Paper: 5025, 12 p. (2023) (* equally contributed)
IF:5,6, Q1, D1
6. Emmert Vanessza, Tóth Gergely, Makai Alexandra, Prémusz Viktória, Amrein Krisztina, Eklics Kata, **Lendvai-Emmert Dominika**
Investigation of the underlying mechanisms of behavioral disorders related to childhood cow's milk protein allergy
Előkészítés alatt

12.1.2 Egyéb kutatási témákban

1. Czigler Andras; Toth Luca; Szarka Nikolett; Berta Gergely; Amrein Krisztina; Czeiter Endre; **Lendvai-Emmert Dominika**; Bodó Kornélia; Tarantini Stefano; Koller Akos et al.
Hypertension exacerbates cerebrovascular oxidative stress induced by mild traumatic brain injury: protective effects of the mitochondria-targeted antioxidative peptide SS-31. *Journal of Neurotrauma* 36: 23 pp. 3309-3315., 7 p. (2019)
IF:4,056, Q1
2. Prémusz Viktória; **Lendvai-Emmert Dominika**; Makai Alexandra; Amrein Krisztina; Chauhan Shalini; Bódis József; Kovács Kálmán András; Várnagy Ákos
Pre-Treatment Physical Activity Could Positively Influence Pregnancy Rates in IVF despite the Induced Oxidative Stress: A Cohort Study on Salivary 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine. *Antioxidants* 11: 8 Paper: 1586, 13 p. (2022)
IF:6,313, Q1, D1
3. **Lendvai-Emmert Dominika**; Magyar-Sümegei Zsófia Dina; Hegedűs Emőke; Szarka Nikolett; Fazekas Bálint; Amrein Krisztina; Czeiter Endre; Büki,András; Ungvári Zoltán; Tóth Péter
Mild traumatic brain injury-induced persistent blood–brain barrier disruption is prevented by cyclosporine A treatment in hypertension
Frontiers in Neurology 14 Paper: 1252796, 9 p. (2023)
IF:3,4, Q2
4. Tóth Gergely, Emmert Vanessza, **Lendvai-Emmert Dominika** Case report: Celiac disease presenting as transient intussusception in two 3-year-olds. *Nutrients*, Special Issue: Celiac Disease and Non-Celiac Gluten Sensitivity, Extraintestinal-Associated Conditions: Efficacy of a Gluten-Free Diet.
Bírálat alatt
5. Zsófia Dina Magyar-Sümegei*, Levente Stankovics*, **Dominika Lendvai-Emmert***, András Czigler, Emőke Hegedűs, Márk Csendes, Luca Tóth, Zoltán Ungvári, András Büki, Péter Tóth
Acute neuroendocrine changes after traumatic brain injury
Brain and Spine Volume 4, 102830, (2024)

12.2 Konferencia absztraktok

12.2.1 Disszertáció témájában

1. **Lendvai-Emmert Dominika**; Emmert Vanessza; Fusz Katalin; Prémusz Viktória; Sarlós Patrícia; Tóth Gergely Péter
Széklet calprotectin mennyiségi meghatározása tehéntejfehérje-allergiás gyermekeknél
In: Bódog Ferenc; Csiszár Beáta; Hegyi Dávid; Pónusz Róbert (szerk.) DKK17-Doktoranduszok a Klinikai Kutatásokban absztraktkötet. Pécs, Magyarország Pécsi Tudományegyetem Doktorandusz Önkormányzat (2017) 89 p. p. 76, 1 p.
2. **Lendvai-Emmert D**; Emmert V; Fusz K; Premusz V; Boncz I; Toth GP
Quantitative assay of fecal calprotectin in children with cow's milk protein allergy
Value in Health 21: Suppl.1 pp. S128-S128., 1 p. (2018)
3. **Lendvai-Emmert Dominika**; Emmert Vanessza; Prémusz Viktória; Sziládiné Fusz Katalin; Tóth Gergely
Objektív diagnosztikai módszerek kutatása gyermekkori tehéntejfehérje-allergiában (2018)
Magyar Gyermekorvosok Társasága Északnyugat-magyarországi Területi Szervezete 69. Tudományos Ülése, 2018. június 15-16., Tapolca
4. Emmert Vanessza; **Lendvai-Emmert Dominika**; Fusz Katalin; Prémusz Viktória; Tóth Gergely Péter
Gyermekkori tehéntejfehérje-allergia diagnosztikai módszereinek vizsgálata (2019)
Fiatal Gyermekgyógyászok 18. Konferenciája, 2019. május 31., Pécs
5. **Lendvai-Emmert D**; Emmert V; Fusz K.; Premusz V; Boncz I; Toth G. P.
What else can cow milk protein be responsible for? Av" behavioural problems in children with cow milk protein allergy
Value in Health 22 pp. S193-S 193., 1 p. (2019)
6. **Lendvai-Emmert Dominika**; Emmert Vanessza; Fusz Katalin; Prémusz Viktória; Tóth Gergely Péter
The unexpected „troublemaker” – Behavioural changes in children with cow’s milk protein allergy
Archives of Disease in Childhood 104: Suppl. 3 pp. A285-A285. (2019)
7. **Lendvai-Emmert Dominika**; Komáromi-Szabó Tünde; Emmert Vanessza; Fusz Katalin; Prémusz Viktória; Tóth Gergely Péter
Cow's milk protein allergy in children - clinical presentation, demographic data and family history in a study population
Archives of Disease in Childhood 104: Suppl. 3 pp. A287-A288. (2019)

8. **Lendvai-Emmert Dominika**; Emmert Vanessza; Fusz Katalin; Prémusz Viktória; Németh Viktória; Tóth Gergely Péter
Comparing diagnostic tests in children with cow's milk protein allergy
Archives of Disease in Childhood 104: Suppl. 3 pp. A103-A104. (2019)
9. **Lendvai-Emmert Dominika**; Emmert Vanessza; Fusz Katalin; Prémusz Viktória; Németh Viktória; Ligetvári Roland; Tóth Gergely Péter
Diagnosztikai kihívások gyermekkori tehéntejfehérje-allergiában
In: Németh Katalin (szerk.) Tavasz Szél 2019 Konferencia. Nemzetközi Multidiszciplináris Konferencia: Absztraktkötet. Budapest, Magyarország: Doktoranduszok Országos Szövetsége (DOSZ) (2019) 742 p. pp. 549-549., 1 p.
10. **Lendvai-Emmert D**; Emmert V; Fusz K; Prémusz V; Boncz I; Tóth G P
Significance of stool tests in children with cow's milk protein allergy
Value in Health 23: Sup 1 pp. 12-12., 1 p. (2020)
11. Emmert Vanessza; **Lendvai-Emmert Dominika**; Makai Alexandra; Tóth Gergely
Counting sheep - or cows: sleep disturbances caused by cow's milk protein allergy
In: ESPGHAN 55th annual meeting of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition – Abstracts (2023) pp. 404-404., 1 p.
12. **Lendvai-Emmert Dominika**; Emmert Vanessza; Makai Alexandra; Tóth Gergely
More than meets the eye - cow's milk protein allergy as possible culprit behind behavioral problems in children
In: ESPGHAN 55th annual meeting of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition – Abstracts (2023) pp. 405-405., 1 p.

12.2.2 Egyéb kutatási témákban

1. Fusz K; Bohner A; Pusztai D; Müller Á; Váradyné Horváth Á; **Lendvai-Emmert D**; Boncz I; Betlehem J; Oláh
A The health status and coherence- feeling of nurses working in different work schedule.
Value in Health 20: 5 pp. A60-A60. (2017)
2. Kozmann K; Pakai A; Kovács Z; Behul B; Rozmann N; **Lendvai-Emmert D**; Kis T; Boncz I; Oláh A; Váradyné Horváth Á
Quality of life of gynecologic cancer patients
Value in Health 20: 5 pp. A290-A290. (2017)
3. Prémusz V.; Makai A.; **Lendvai-Emmert D**; Amrein K.; Czeiter E.; Boncz I.; Sulyok E.; Várnagy Á.

- Consequences of physical activity-induced oxidative stress measured with 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biomarker on the outcome of assisted reproductive treatments
Value in Health 23: Suppl 1 p. S322 (2020)
4. Gabriella Sebestyén; **Dominika Lendvai-Emmert**; Viktória Tamás; Márk Csendes; Magyar-Sümegei Zsófia Dina; Péter Tóth; András Büki
Neuronavigated theta burst stimulation for achieve safer tumor resection near motor speech area – case study
Clinical Neurophysiology 141 pp. S145-S146. (2022)
 5. Zsófia Dina Magyar-Sümegei, **Dominika Lendvai-Emmert**, Andras Czigler, Luca Toth, Gabriella Sebestyén, Mark Csendes, Krisztina Amrein, Endre Czeiter, Viktoria Tamas, Andras Buki, Peter Toth
Neurovascular Dysfunction and Cognitive Decline in Survivors of Severe Traumatic Brain Injury
EANS, Barcelona (2023)
 6. Zsófia Dina Magyar-Sümegei, **Dominika Lendvai-Emmert**, Andras Czigler, Luca Toth, Gabriella Sebestyén, Mark Csendes, Krisztina Amrein, Endre Czeiter, Viktoria Tamas, Andras Buki, Peter Toth
Decline in Serum IGF-1 Level Associates with Neurovascular Uncoupling and Cognitive Decline in Survivors of Severe Traumatic Brain Injury
ENO Meeting, Munchen (2023)
 7. Zsófia Dina Magyar-Sümegei, **Dominika Lendvai-Emmert**, Andras Czigler, Mark Csendes, Viktoria Tamas, Andras Buki, Peter Toth
Cognitive Decline in Survivors of Severe Traumatic Brain Injury: the Role of Neurovascular Dysfunction
INTS Meeting, Cambridge (2024)
 8. Hegedüs Emőke, Andras Czigler, **Dominika Lendvai-Emmert**, Zsófia Dina Magyar-Sümegei, Levente Stankovics, Andras Buki, Peter Toth
Autoregulatory Dysfunction is Associated with Increasing Serum Natriuretic Peptide Levels Following Severe Traumatic Brain Injury: a Preliminary Study
INTS Meeting, Cambridge (2024)
 9. Andras Czigler, **Dominika Lendvai-Emmert**, Hegedüs Emőke, Zsófia Dina Magyar-Sümegei, Levente Stankovics, Dominik Iván, Virág Magvasi, Andras Buki, Peter Toth
IGF-1 deficiency is not involved in autoregulatory dysfunction after severe traumatic brain injury
INTS Meeting, Cambridge (2024)

13. Mellékletek

13.1 Táblázatok jegyzéke

1. **táblázat** Leggyakrabban előforduló tünetek adverz táplálékreakciókban (saját szerkesztésű táblázat, Arató A., Szőnyi L. *Gyermekgasztroenterológia*, 240-241 oldal alapján, 2003 [46]).....13
2. **táblázat** Különböző típusú immunterápiák főbb jellemzői (Saját szerkesztésű táblázat Barni S. et al. 10. oldal alapján, 2020, magyarra fordítva [78]).....20
3. **táblázat** Rövid összefoglaló a főbb tehéntej-allergének jellemzőiről (Saját szerkesztésű táblázat Linhart et al. 4. oldal alapján, 2019, magyarra fordítva [95]).....26
4. **táblázat** Kortizol átváltási formulák (Hanrahan K. et al, 99. oldal alapján, 2006, magyarra fordítva [145]).....41
5. **táblázat** A vizsgált gyermekek demográfiai és klinikai adatai (Szekszárd).....46
6. **táblázat** Kortizol mintavételi időpontok és mérési eredmények.....49
7. **táblázat** A teljes vizsgálati populáció és a kérdőívek alapján a szigorú eliminációs diétát tartó gyermekek csoportjának szociodemográfiai és klinikai adatai.....51
8. **táblázat** A bevont gyermekek széklet kalprotektin szintje.....54
9. **táblázat** Az eliminációs diétát szigorúan követő gyermekek tünetei és kalprotektin szintjük (n=35).....55
10. **táblázat** Emésztőrendszeri tünetek, kalprotektin-szintek és a kalprotektin-szint változásai az eliminációs diétát tartó gyermekeknél (n=35).....57
11. **táblázat** A teljes vizsgálati populáció és a kérdőívek alapján a szigorú eliminációs diétát tartó gyermekek csoportjának szociodemográfiai és klinikai adatai (Sopron).....70

13.2 Ábrák jegyzéke

1. **ábra:** *Diagnosztikai algoritmus a táplálékallergia igazolására*
(Saját szerkesztésű ábra Dr. Polgár Marianne Adverz Táplálékreakciók, 1997
könyv alapján)38
2. **ábra:** *A széklet állagának osztályozása a Bristol széklet skála alapján*
(Forrás: https://www.synlab.hu/storage/6152/FOB-Gold-szeklet-ver-immunologiai-vizsgalat_Mintaveteli-tajekoztato_20230112.pdf, letöltés dátuma:2023.01.23.).....42
3. **ábra:** *ADHD-szerű tünetek jelentkezése az eliminációs diéta hatására.....48*
4. **ábra:** *Alvászavarban szenvedők ADHD-pontjainak alakulása az eliminációs diéta hatására.....48*
5. **ábra:** *Kortizol-szint napszaki változása a szigorú eliminációs diéta előtt.....50*
6. **ábra:** *A széklet konzisztenciájának változása a szigorú tejmentes diétát tartók csoportjában.....52*
7. **ábra:** *Széklet kalprotektin szintek változása diéta előtt és a három hónapos szigorú eliminációs diéta után.....53*
8. **ábra:** *A különböző szervrendszereket érintő tünetekkel érkező gyermekek kalprotektin szintek diéta előtt és után.....56*
9. **ábra:** *Gastrointestinalis tünetcsoport egyes tüneteire kapcsolódó kalprotektin szintek diéta előtt és után.....58*
10. **ábra:** *Nyál alfa-amiláz mennyisége viselkedésbeli javulást mutató diétázók alcsoportjába.....71*
11. **ábra:** *Korreláció az impulzív, diétát szigorúan tartó gyermekek ADHD pontjainak csökkenése és a vizeletben mért 5-hidroxi-indol-ecetsav szintje között.....72*
12. **ábra:** *Korreláció a diétát szigorúan tartó gyermekek életkora és a vizeletben mért 6-hidroxi-melatonin-szulfát szintje között.....73*

13.3 Etikai engedélyek

13.3.1 PTE-KK Regionális és Intézményi Kutatás – Etikai Bizottság engedélye



PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
KLINIKAI KÖZPONT
Regionális Kutatásetikai Bizottság

Lendvai-Emmert Dominika
biológus PhD hallgató
PTE ETK Egészségtudományi Doktori Iskola
7621 Pécs, Vörösmarty u. 4.
Postai cím: Lendvai-Emmert Dominika
7761 Kozármisleny József Attila u. 30/2.
Vizsgálatvezető

Pécs, 2017. június 10.

Tisztelt Vizsgálatvezető!

A PTE-KK Regionális és Intézményi Kutatás – Etikai Bizottsága **2017.06.09.-ei ülésén** megtárgyalta az Ön által benyújtott dokumentumokat:

Témavezető: dr. Tóth Gergely Péter osztályvezető főorvos
Tolna Megyei Balassa János Egyetemi Oktató Kórház
Gyermekosztály

Cím: A gyermekkori tehéntejfehérje allergia által okozott komplex élettani és pszichológiai változások hátterének a feltérképezése

Protokoll no.: PR-4 – perinatális egészségügy

Mellékletek:

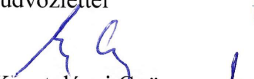
- (1.) tudományos és irodalmi háttér;
- (2.) protokoll: vér, vizelet, nyál és széklet vizsgálatok;
- (3.) Beteg szülőjének / gondviselőjének a tájékoztatása és (4.) beleegyező nyilatkozata;
- (5.) témavezető támogató nyilatkozata;


Hiányzik: a PTE ETK Doktori Iskola és a Tolna Megyei Kórház vezetésének a támogató nyilatkozata; a felhasználni tervezett kérdőív nincs mellékelve; a labor vizsgálatokat hol végzik és mi az anyagi forrása? szükséges a laboratórium vezetőjének a támogató - befogadó nyilatkozata is; a témavezető Sopronba távozásával felmerült, hogy meg tudja-e tartani témavezetői funkcióját? erre a kérdésre is kérjük a hivatalos választ;

Döntés: a PTE KK RIKEB a 2017. június 09.-ei ülésén **hiánypótlás után engedélyezte** a klinikai vizsgálat protokoll szerinti kivitelezését. Egyúttal a Bizottság tisztelettel felkéri a vizsgálatvezetőt arra, hogy a vizsgálatok állásáról évente, befejezése után pedig összegző jelentést szíveskedjen küldeni Bizottságunk részére.

Ügyiratszám: 6750 – PTE 2017.

Szívélyes üdvözlettel


Dr. Kösztolányi György
egyetemi tanár, a Bizottság elnöke


Dr. Kocsis Béla
egyetemi docens, a Bizottság titkára



Az eredeti dokumentum hiteles másolata
2023. december 19. *JKB*

13.3.1 Tolna Megyei Önkormányzat Balassa János Kórház Intézeti Kutatás – Etikai Bizottságának engedélye

Tolna Megyei Önkormányzat Balassa János Kórháza
Intézeti Kutatás- Etikai Bizottsága
7100 Szekszárd, Béni B. Á. U. 5-7.
Tel:74-501-500 Fax:74-501-530
E-mail: vastag.oszkar@tmkorkh.hu

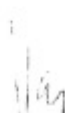
Határozat

Az Intézeti Kutatás- Etikai Bizottság 2017.02.22-i ülésén tárgyalta:

Dr.Tóth Gergely kérelmet nyújtott be, Lendvai-Emmert Dominikával melynek címe: A gyermekkori tehén fehérje allergia által okozott komplex élettani és pszichológia változások hátterének feltérképezése. A program száma: PR-4. Lendvai-Emmert Dominika, biológus PhD hallgató. A vizsgálat feltételei a gyermekgyógyászati osztályon biztosítottak, nem beavatkozással járó vizsgálat. OGYI engedély nem szükséges. A vizsgálat intézetünkben lefolytatható. Betegjogi képviselőnek az Elnök Dr. Harangi Ferencet, a Bizottság tagját kérte fel.

Szekszárd, 2017.02.22

**TOLNA MEGYEI
BALASSA JÁNOS KÓRHÁZ
7100 Szekszárd, Béni Balogh Á. u. 5-7.
INTÉZETI KUTATÁS ETIKAI BIZOTTSÁG**


Dr. Vastag Oszkár
Osztályvezető főorvos
Az IKEB Elnöke

**TOLNA MEGYEI
BALASSA JÁNOS KÓRHÁZ
7100 Szekszárd, Béni Balogh Á. u. 5-7.
INTÉZETI KUTATÁS ETIKAI BIZOTTSÁG**

Handwritten signature 2017.06.07.



Handwritten signature

13.3.1 Petz Aladár Megyei Oktató Kórház Regionális Tudományos és Kutatásetikai Bizottságának engedélye

Petz Aladár Megyei Oktató Kórház
Regionális Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága
 Győr-Moson-Sopron, Esztergom-Komárom megye
 9024-Győr, Vasvári P.u. 2. Tel: (36-96) 418-244/1987
 Levélcím: 9002-Győr, Pf.: 92.

Regionalis Science and Research Ethics Committee of
Petz Aladar County Teaching Hospital
 Vasvári Pál st. 2. Győr, H9002
 Phone: (36-96) 418-244/1987
 Mailing address: H-9002, Győr P.O.B. 92.
 Fax: (36-96) 412-862

Hivatkozási szám: 76-1-16/2018

DÖNTÉSI ÜRLAP

2018 JÚL 03.

Az Egészségügyi Tudományos Tanács Regionális Kutatásetikai Bizottsága a..... napon tartott bizottsági ülésén **Lendvai-Emmert Dominika** által „A gyermekkori tehéntejfehérje allergia által okozott komplex életteni és pszichológiai változások hátterének feltérképezése.” címen előterjesztett orvos-biológiai beavatkozás kérelmét, az OGYI és az Egészségügyi Tudományos Tanács Klinikai Farmakológiai Etikai Bizottsága szakmai-etikai véleményezése után, az alábbi bizottsági összetétel mellett tárgyalta és a vizsgálat megkezdését nyilvántartásba vette. A vizsgálat ellenőrzését az IKEB részéről **Dr. Horváth Imre** végzi.

Protokoll szám: PR-4

Benyújtás dátuma: 2018. 07. 20.

A protokoll és a kapcsolt dokumentumok felülvizsgálata után, a Regionális-Kutatásetikai Bizottság szakértői véleménye alapján a vizsgálat lefolytatható.

Név, cím	Beosztás	Munkahely	Jelen volt	
			I	N
Prof. Dr. Ostorharcis H. György Ph.D. <i>elnök, az orvostudomány kandidátusa</i>	osztályvezető főorvos, pszichiáter	II. pszichiátria, PAMOK	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dr. Hidvégi Tibor Ph.D. <i>tárhár</i> az orvostudomány kandidátusa	osztályvezető főorvos, belgyógyász	IV. Belgyógyászat PAMOK	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dr. Csányi Attila Ph.D. az orvostudomány kandidátusa	osztályvezető főorvos, neurológus	Neurológia, PAMOK	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. Dr. Dézsi Csaba András Ph.D. az orvostudomány kandidátusa	osztályvezető főorvos, kardiológus	Kardiológia, PAMOK	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dr. Gunther Tibor Ph.D. az orvostudomány kandidátusa	osztályvezető főorvos, ortopédus	Ortopédia, PAMOK	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dr. Horváth Imre Ph.D. az orvostudomány kandidátusa	főorvos, gyermekgyógyász	Gyermekosztály PAMOK	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dr. Lakos Júlia Dr. Nagy Sándor Ph.D. az orvostudomány kandidátusa	osztályvezető, ügyvéd főorvos, szülész-nőgyógyász	Jogi osztály, PAMOK Szülészeti-Nőgyógyászati Osztály, PAMOK	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. Dr. Oláh Attila Ph.D. az orvostudomány kandidátusa	osztályvezető főorvos, sebész	Sebészet, PAMOK	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. Dr. Rácz István Ph.D. az orvostudomány kandidátusa	osztályvezető főorvos, belgyógyász	I. Belgyógyászat, PAMOK	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dr. Szarvas István Ph.D. az orvostudomány kandidátusa	osztályvezető főorvos, idegsebész	Idegsebészet, PAMOK	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Miklós Mónika Sütő Csaba	diplomás ápoló igazgató, laikus	II. Pszichiátria, PAMOK Hajléktalan Szálló	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Az Egészségügyi Tudományos Tanács Regionális Kutatásetikai Bizottsága a GCP előírásainak megfelelően működik.

E jóváhagyás hatályban tartásához a kérelmező feladata értesíteni az etikai bizottságot módosításokról/kiegészítésekről, komoly vagy váratlan káros eseményekről, a vizsgálat megszüntetéséről vagy bármely jelentős döntésről, amely kihatással van a kockázat-hason arányra. A vizsgálat menetére vonatkozó rutin tájékoztatást éves jelentésben kell megadni. Kérjük a hivatkozási számot is feltüntetni a jelentésben.

Dátum: 2018 AUG 13.

Prof. Dr. Ostorharcis György Ph.D.
 Regionális Tudományos és Kutatásetikai Bizottság elnöke

Regionális Tudományos és Kutatásetikai Bizottság
 Győr-Moson-Sopron megye
 Komárom-Esztergom megye

14. Adatelérhetőségi nyilatkozat

A dolgozat alapjául szolgáló adatok, a kérdőívek és a beleegyező nyilatkozatok a szerzőtől indokolt kérésre rendelkezésre állnak.

15. Doktori értekezés benyújtása és nyilatkozat a dolgozat eredetiségéről

7. sz. melléklet

DOKTORI ÉRTEKEZÉS BENYÚJTÁSA ÉS NYILATKOZAT A DOLGOZAT EREDETISÉGÉRŐL

Alulírott

név: Lendvai-Emmert Dominika

születési név: Emmert Dominika

anyja neve: Reinhardt Edit

születési hely, idő: Szekszárd, 1983.07.08.

című doktori értekezésemet a mai napon benyújtom a(z)

Pécsi Tudományegyetem, Egészségtudományi Doktori Iskola

PR-4/ Perinatális Egészségtudomány Programjához/témacsoportjához

Témavezető(k) neve: Dr. Tóth Gergely Péter

Egyúttal nyilatkozom, hogy jelen eljárás során benyújtott doktori értekezésemet

- korábban más doktori iskolába (sem hazai, sem külföldi egyetemen) nem nyújtottam be,
- fokozatszerzési eljárásra jelentkezésemet két éven belül nem utasították el,
- az elmúlt két esztendőben nem volt sikertelen doktori eljárásom,
- öt éven belül doktori fokozatom visszavonására nem került sor,
- értekezésem önálló munka, más szellemi alkotását sajátomként nem mutattam be, az irodalmi hivatkozások egyértelműek és teljeseek, az értekezés elkészítésénél hamis vagy hamisított adatokat nem használtam.

Továbbá nyilatkozom, hogy hozzájárulok a doktori értekezésem DOI azonosító igényléséhez.

Dátum: Pécs, 2024.05.03.

.....
doktorvárományos aláírása

.....
témavezető aláírása

16. Irodalomjegyzék

1. McConnell, T.H., *The nature of disease: pathology for the health professions*. 2013: Lippincott Williams & Wilkins.
2. Vandenplas, Y., K. Bajerova, C. Dupont, P. Eigenmann, M. Kuitunen, R. Meyer, C. Ribes-Koninckx, S. Salvatore, R. Shamir, H. Szajewska, *The Cow's Milk Related Symptom Score: The 2022 Update*. *Nutrients*, 2022. **14**(13).
3. Saad, K., A. Elgenidy, M. Atef, M.K. Abdelsattar, M. Al-Ashwah, E.M. Hammad, F.A. Ahmed, A. Aboelgheet, M.S. Elfaragy, A.M. Ali, et al., *Cow's Milk-related Symptom Score for cow's milk allergy assessment: a meta-analysis for test accuracy*. *Pediatr Res*, 2023. **93**(4): p. 772-779.
4. Lendvai-Emmert, D., V. Emmert, A. Makai, K. Fusz, V. Prémusz, K. Eklics, P. Sarlós, P. Tóth, K. Amrein, G. Tóth, *Fecal calprotectin levels in pediatric cow's milk protein allergy*. *Front Pediatr*, 2022. **10**: p. 945212.
5. Polgár, M., *Adverse food allergies.[Adverz táplálékreakciók.]*. 1997, Budapest: UCB Magyarország Kft.
6. Giannetti, A., G. Toschi Vespasiani, G. Ricci, A. Miniaci, E. di Palma, A. Pession, *Cow's Milk Protein Allergy as a Model of Food Allergies*. *Nutrients*, 2021. **13**(5).
7. Savage, J., C.B. Johns, *Food allergy: epidemiology and natural history*. *Immunol Allergy Clin North Am*, 2015. **35**(1): p. 45-59.
8. Flom, J.D., S.H. Sicherer, *Epidemiology of Cow's Milk Allergy*. *Nutrients*, 2019. **11**(5).
9. Oláh, É., *Gyermekgyógyászati kézikönyv I. [Paediatric Textbook I.]*. Medicina Könyvkiadó Zrt, 2008: p. 220-222.
10. Sampath, V., E.M. Abrams, B. Adlou, C. Akdis, M. Akdis, H.A. Brough, S. Chan, P. Chatchatee, R.S. Chinthrajah, R.R. Cocco, et al., *Food allergy across the globe*. *J Allergy Clin Immunol*, 2021. **148**(6): p. 1347-1364.
11. Halken, S., A. Muraro, D. de Silva, E. Khaleva, E. Angier, S. Arasi, H. Arshad, H.T. Bahnson, K. Beyer, R. Boyle, et al., *EAACI guideline: Preventing the development of food allergy in infants and young children (2020 update)*. *Pediatr Allergy Immunol*, 2021. **32**(5): p. 843-858.
12. Hossny, E., M. Ebisawa, Y. El-Gamal, S. Arasi, L. Dahdah, R. El-Owaidy, C.A. Galvan, B.W. Lee, M. Levin, S. Martinez, et al., *Challenges of managing food allergy in the developing world*. *World Allergy Organ J*, 2019. **12**(11): p. 100089.
13. Tang, M.L., R.J. Mullins, *Food allergy: is prevalence increasing?* *Intern Med J*, 2017. **47**(3): p. 256-261.
14. Prescott, S.L., R. Pawankar, K.J. Allen, D.E. Campbell, J. Sinn, A. Fiocchi, M. Ebisawa, H.A. Sampson, K. Beyer, B.W. Lee, *A global survey of changing patterns of food allergy burden in children*. *World Allergy Organ J*, 2013. **6**(1): p. 21.
15. Radlović, N., Z. Leković, V. Radlović, D. Simić, D. Ristić, B. Vuletić, *Food allergy in children*. *Srpski arhiv za celokupno lekarstvo*, 2016. **144**(1-2): p. 99-103.
16. Chapman JA, B.L., Lee RE, et al., *Food allergy: a practice parameter*. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2006. **96**(3 Suppl 2): p. S1-68.
17. Sampson, H.A., S. Aceves, S.A. Bock, J. James, S. Jones, D. Lang, K. Nadeau, A. Nowak-Wegrzyn, J. Oppenheimer, T.T. Perry, et al., *Food allergy: a practice parameter update-2014*. *J Allergy Clin Immunol*, 2014. **134**(5): p. 1016-25.e43.
18. Tainio, V.M., E. Savilahti, *Value of immunologic tests in cow milk allergy*. *Allergy*, 1990. **45**(3): p. 189-96.
19. Polgár, M., *Allergy in infants and children. [Allergia csecsemő-és gyermekkorban.]*. 1996: Springer Hungarica Kiadó, Budapest.
20. Lozinsky, A.C., R. Meyer, K. Anagnostou, R. Dziubak, K. Reeve, H. Godwin, A.T. Fox, N. Shah, *Cow's Milk Protein Allergy from Diagnosis to Management: A Very Different Journey for General Practitioners and Parents*. *Children (Basel)*, 2015. **2**(3): p. 317-29.
21. Bajerova, K., S. Salvatore, C. Dupont, P. Eigenmann, M. Kuitunen, R. Meyer, C. Ribes-Koninckx, R. Shamir, H. Szajewska, Y. Vandenplas, *The Cow's Milk-Related Symptom Score (CoMiSSTM): A Useful Awareness Tool*. *Nutrients*, 2022. **14**(10).
22. Lifschitz, C., H. Szajewska, *Cow's milk allergy: evidence-based diagnosis and management for the practitioner*. *Eur J Pediatr*, 2015. **174**(2): p. 141-50.
23. Diaferio, L., D. Caimmi, M.C. Verga, V. Palladino, L. Trovè, P. Giordano, E. Verduci, V.L. Miniello, *May Failure to Thrive in Infants Be a Clinical Marker for the Early Diagnosis of Cow's Milk Allergy?* *Nutrients*, 2020. **12**(2).

24. Meyer, R., H. Godwin, R. Dziubak, J.A. Panepinto, R.M. Foong, M. Bryon, A.C. Lozinsky, K. Reeve, N. Shah, *The impact on quality of life on families of children on an elimination diet for Non-immunoglobulin E mediated gastrointestinal food allergies*. World Allergy Organ J, 2017. **10**(1): p. 8.
25. Sorensen, K., R. Meyer, K.E. Grimshaw, A.L. Cawood, D. Acosta-Mena, R.J. Stratton, *The clinical burden of cow's milk allergy in early childhood: A retrospective cohort study*. Immun Inflamm Dis, 2022. **10**(3): p. e572.
26. Al-Beltagi, M., N.K. Saeed, A.S. Bediwy, R. Elbeltagi, *Cow's milk-induced gastrointestinal disorders: From infancy to adulthood*. World J Clin Pediatr, 2022. **11**(6): p. 437-454.
27. Knoflach, P., B.H. Park, R. Cunningham, M.M. Weiser, B. Albin, *Serum antibodies to cow's milk proteins in ulcerative colitis and Crohn's disease*. Gastroenterology, 1987. **92**(2): p. 479-85.
28. Virta, L.J., M. Ashorn, K.L. Kolho, *Cow's milk allergy, asthma, and pediatric IBD*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2013. **56**(6): p. 649-51.
29. Virta, L.J., H. Kautiainen, K.L. Kolho, *Symptoms suggestive of cow's milk allergy in infancy and pediatric inflammatory bowel disease*. Pediatr Allergy Immunol, 2016. **27**(4): p. 361-7.
30. Ly, V., M. Bottelier, P.J. Hoekstra, A. Arias Vasquez, J.K. Buitelaar, N.N. Rommelse, *Elimination diets' efficacy and mechanisms in attention deficit hyperactivity disorder and autism spectrum disorder*. Eur Child Adolesc Psychiatry, 2017. **26**(9): p. 1067-1079.
31. Nigg, J.T., K. Holton, *Restriction and elimination diets in ADHD treatment*. Child Adolesc Psychiatr Clin N Am, 2014. **23**(4): p. 937-53.
32. Madzhidova, S., L. Sedrakyan, *The Use of Dietary Interventions in Pediatric Patients*. Pharmacy (Basel), 2019. **7**(1).
33. Topal, E., F. Catal, N. Soylu, O.O. Ozcan, M.H. Celiksoy, A. Babayiğit, D. Erge, H.T. Karakoç, R. Sancak, *Psychiatric disorders and symptoms severity in pre-school children with cow's milk allergy*. Allergol Immunopathol (Madr), 2016. **44**(5): p. 445-9.
34. Yorbik, O., C. Mutlu, O. Ozturk, D.K. Altinay, I.A. Tanju, I. Kurt, *Salivary alpha amylase levels in youths with anxiety disorders*. Psychiatry Res, 2016. **235**: p. 148-53.
35. Tóth, G., *A széketkalprotektin szerepe a gasztroenterológiai diagnosztikában [Role of faecal calprotectin in gastroenterological diagnostics]*. Gasztroenterológia, 2020. **19**(1): p. 14-17.
36. Herrera, O.R., M.L. Christensen, R.A. Helms, *Calprotectin: clinical applications in pediatrics*. The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics, 2016. **21**(4): p. 308-321.
37. Coorevits, L., F.J. Baert, H.J. Vanpoucke, *Faecal calprotectin: comparative study of the Quantum Blue rapid test and an established ELISA method*. Clin Chem Lab Med, 2013. **51**(4): p. 825-31.
38. Beşer, O.F., S. Sancak, T. Erkan, T. Kutlu, H. Cokuğraş, F. Cokuğraş, *Can Fecal Calprotectin Level Be Used as a Markers of Inflammation in the Diagnosis and Follow-Up of Cow's Milk Protein Allergy?* Allergy Asthma Immunol Res, 2014. **6**(1): p. 33-8.
39. Belizon, C.T., E.O. Paez, A.F.M. Claros, I.R. Sanchez, A.R. Gonzalez, R.V. Medialdea, J.M.R. Salguero, *Faecal calprotectin as an aid to the diagnosis of non-IgE mediated cow's milk protein allergy*. Anales De Pediatria, 2016. **84**(6): p. 318-323.
40. Keet, C., R.A. Wood, *Food allergy in children: Prevalence, natural history, and monitoring for resolution*. This topic last updated, 2019.
41. Pratap, K., A.C. Taki, E.B. Johnston, A.L. Lopata, S.D. Kamath, *A Comprehensive Review on Natural Bioactive Compounds and Probiotics as Potential Therapeutics in Food Allergy Treatment*. Front Immunol, 2020. **11**: p. 996.
42. Lendvai-Emmert, D., V. Emmert, K. Fusz, V. Prémusz, V. Németh, R. Ligetvári, G.P. Tóth, *A gyermekkori tehéntejfehérje-allergia diagnosztikai kihívásai*. ORVOSI HETILAP, 2019. **160**(33): p. 1311-1318.
43. Rancé, F., A. Deschildre, F. Villard-Truc, S.A. Gomez, E. Paty, C. Santos, L. Couderc, J.L. Fauquert, J. De Blic, E. Bidat, et al., *Oral food challenge in children: an expert review*. Eur Ann Allergy Clin Immunol, 2009. **41**(2): p. 35-49.
44. Crnković, H.T., K. Bendelja, A. Šimić Klarić, M. Tomić Rajić, V. Drkulec, N. Aberle, *Family history and cord blood eosinophil count as predictors for atopic manifestations*. Cent Eur J Public Health, 2019. **27**(4): p. 267-271.
45. Kalach, N., M. Bellaïche, I. Elias-Billon, C. Dupont, *Family history of atopy in infants with cow's milk protein allergy: A French population-based study*. Arch Pediatr, 2019. **26**(4): p. 226-231.
46. Arató A, S.L., *Gyermekgasztroenterológia*. 2003, Budapest: Medicina Könyvkiadó Rt.
47. Caubet, J.C., R. Bencharitiwong, A. Ross, H.A. Sampson, M.C. Berin, A. Nowak-Węgrzyn, *Humoral and cellular responses to casein in patients with food protein-induced enterocolitis to cow's milk*. J Allergy Clin Immunol, 2017. **139**(2): p. 572-583.

48. Zhang, S., S. Sicherer, M.C. Berin, A. Agyemang, *Pathophysiology of Non-IgE-Mediated Food Allergy*. *Immunotargets Ther*, 2021. **10**: p. 431-446.
49. Gonsalves, N., *Eosinophilic Gastrointestinal Disorders*. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2019. **57**(2): p. 272-285.
50. Høst, A., *Cow's milk protein allergy and intolerance in infancy. Some clinical, epidemiological and immunological aspects*. *Pediatr Allergy Immunol*, 1994. **5**(5 Suppl): p. 1-36.
51. Nowak-Węgrzyn, A., K.A. Bloom, S.H. Sicherer, W.G. Shreffler, S. Noone, N. Wanich, H.A. Sampson, *Tolerance to extensively heated milk in children with cow's milk allergy*. *J Allergy Clin Immunol*, 2008. **122**(2): p. 342-7, 347.e1-2.
52. Leonard, S.A., J.C. Caubet, J.S. Kim, M. Groetch, A. Nowak-Węgrzyn, *Baked milk- and egg-containing diet in the management of milk and egg allergy*. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2015. **3**(1): p. 13-23; quiz 24.
53. Sackesen, C., D.U. Altintas, A. Bingol, G. Bingol, B. Buyuktiryaki, E. Demir, A. Kansu, Z. Kuloglu, Z. Tamay, B.E. Sekerel, *Current Trends in Tolerance Induction in Cow's Milk Allergy: From Passive to Proactive Strategies*. *Front Pediatr*, 2019. **7**: p. 372.
54. Nickel, R., M. Kulig, J. Forster, R. Bergmann, C.P. Bauer, S. Lau, I. Guggenmoos-Holzmann, U. Wahn, *Sensitization to hen's egg at the age of twelve months is predictive for allergic sensitization to common indoor and outdoor allergens at the age of three years*. *J Allergy Clin Immunol*, 1997. **99**(5): p. 613-7.
55. Dona, D.W., C. Suphioglu, *Egg Allergy: Diagnosis and Immunotherapy*. *Int J Mol Sci*, 2020. **21**(14).
56. Arik Yilmaz, E., O. Cavkaytar, B. Buyuktiryaki, B.E. Sekerel, O. Soyer, C. Sackesen, *Factors associated with the course of egg allergy in children*. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2015. **115**(5): p. 434-438.e1.
57. McWilliam, V.L., K.P. Perrett, T. Dang, R.L. Peters, *Prevalence and natural history of tree nut allergy*. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2020. **124**(5): p. 466-472.
58. Nwaru, B.I., L. Hickstein, S.S. Panesar, G. Roberts, A. Muraro, A. Sheikh, *Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis*. *Allergy*, 2014. **69**(8): p. 992-1007.
59. Savage, J.H., A.J. Kaeding, E.C. Matsui, R.A. Wood, *The natural history of soy allergy*. *J Allergy Clin Immunol*, 2010. **125**(3): p. 683-6.
60. Steve L. Taylor, G.F.H., W.Marty Blom, Joost Westerhout, R.W.R.C. Benjamin C. Remington, Simon Brooke-Taylor, Joe L. Baumert, *The population threshold for soy as an allergenic food – Why did the Reference Dose decrease in VITAL 3.0?* 2021.
61. Saf, S., M.P. Borres, E. Södergren, *Sesame allergy in children: New insights into diagnosis and management*. *Pediatr Allergy Immunol*, 2023. **34**(8): p. e14001.
62. Patel, A., S.L. Bahna, *Hypersensitivities to sesame and other common edible seeds*. *Allergy*, 2016. **71**(10): p. 1405-13.
63. Giovannini, M., B. Beken, B. Buyuktiryaki, S. Barni, G. Liccioli, L. Sarti, L. Lodi, M. Pontone, I. Bartha, F. Mori, et al., *IgE-Mediated Shellfish Allergy in Children*. *Nutrients*, 2023. **15**(12).
64. Muraro, A., T. Werfel, K. Hoffmann-Sommergruber, G. Roberts, K. Beyer, C. Bindslev-Jensen, V. Cardona, A. Dubois, G. duToit, P. Eigenmann, et al., *EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy*. *Allergy*, 2014. **69**(8): p. 1008-25.
65. Marwa, K., N.P. Kondamudi, *Type IV Hypersensitivity Reaction*, in *StatPearls*. 2023, StatPearls Publishing
Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).
66. Sampson, H.A., R. Gerth van Wijk, C. Bindslev-Jensen, S. Sicherer, S.S. Teuber, A.W. Burks, A.E. Dubois, K. Beyer, P.A. Eigenmann, J.M. Spergel, et al., *Standardizing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology-European Academy of Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report*. *J Allergy Clin Immunol*, 2012. **130**(6): p. 1260-74.
67. de Weger, W.W., A.B. Sprikkelman, C.E.M. Herpertz, G.N. van der Meulen, J.M. Vonk, A.W.A. Kamps, G.H. Koppelman, *The dilemma of open or double-blind food challenges in diagnosing food allergy in children: Design of the ALDORADO trial*. *Pediatr Allergy Immunol*, 2022. **33**(1): p. e13654.
68. Fleischer, D.M., S.A. Bock, G.C. Spears, C.G. Wilson, N.K. Miyazawa, M.C. Gleason, E.A. Gyorkos, J.R. Murphy, D. Atkins, D.Y.M. Leung, *Oral food challenges in children with a diagnosis of food allergy*. *The Journal of pediatrics*, 2011. **158**(4): p. 578-583.
69. Koletzko, S., B. Niggemann, A. Arato, J.A. Dias, R. Heuschkel, S. Husby, M.L. Mearin, A. Papadopoulou, F.M. Ruemmele, A. Staiano, et al., *Diagnostic approach and management of*

- cow's-milk protein allergy in infants and children: ESPGHAN GI Committee practical guidelines.* J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2012. **55**(2): p. 221-9.
70. Sampson, H.A., *Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy.* J Allergy Clin Immunol, 2001. **107**(5): p. 891-6.
 71. Dang, T.D., M. Tang, S. Choo, P.V. Licciardi, J.J. Koplin, P.E. Martin, T. Tan, L.C. Gurrin, A.L. Ponsonby, D. Tey, et al., *Increasing the accuracy of peanut allergy diagnosis by using Ara h 2.* J Allergy Clin Immunol, 2012. **129**(4): p. 1056-63.
 72. Asarnoj, A., C. Nilsson, J. Lidholm, S. Glaumann, E. Östblom, G. Hedlin, M. van Hage, G. Lilja, M. Wickman, *Peanut component Ara h 8 sensitization and tolerance to peanut.* J Allergy Clin Immunol, 2012. **130**(2): p. 468-72.
 73. Eller, E., C. Bindslev-Jensen, *Clinical value of component-resolved diagnostics in peanut-allergic patients.* Allergy, 2013. **68**(2): p. 190-4.
 74. Keet, C.A., K. Johnson, J.H. Savage, R.G. Hamilton, R.A. Wood, *Evaluation of Ara h2 IgE thresholds in the diagnosis of peanut allergy in a clinical population.* J Allergy Clin Immunol Pract, 2013. **1**(1): p. 101-3.
 75. Lemon-Mulé, H., H.A. Sampson, S.H. Sicherer, W.G. Shreffler, S. Noone, A. Nowak-Węgrzyn, *Immunologic changes in children with egg allergy ingesting extensively heated egg.* J Allergy Clin Immunol, 2008. **122**(5): p. 977-983.e1.
 76. Järvinen, K.M., K. Beyer, L. Vila, P. Chatchatee, P.J. Busse, H.A. Sampson, *B-cell epitopes as a screening instrument for persistent cow's milk allergy.* J Allergy Clin Immunol, 2002. **110**(2): p. 293-7.
 77. Ito, S., S. Hirobe, Y. Kuwabara, M. Nagao, M. Saito, Y.S. Quan, F. Kamiyama, T. Fujisawa, N. Okada, *Immunogenicity of Milk Protein-Containing Hydrophilic Gel Patch for Epicutaneous Immunotherapy for Milk Allergy.* Pharm Res, 2020. **37**(3): p. 35.
 78. Barni, S., G. Liccioli, L. Sarti, M. Giovannini, E. Novembre, F. Mori, *Immunoglobulin E (IgE)-Mediated Food Allergy in Children: Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, Prevention, and Management.* Medicina (Kaunas), 2020. **56**(3).
 79. Nurmatov, U., S. Dhami, S. Arasi, G.B. Pajno, M. Fernandez-Rivas, A. Muraro, G. Roberts, C. Akdis, M. Alvaro-Lozano, K. Beyer, et al., *Allergen immunotherapy for IgE-mediated food allergy: a systematic review and meta-analysis.* Allergy, 2017. **72**(8): p. 1133-1147.
 80. Taniuchi, S., M. Takahashi, K. Soejima, Y. Hatano, H. Minami, *Immunotherapy for cow's milk allergy.* Hum Vaccin Immunother, 2017. **13**(10): p. 2443-2451.
 81. Gernez, Y., A. Nowak-Węgrzyn, *Immunotherapy for Food Allergy: Are We There Yet?* J Allergy Clin Immunol Pract, 2017. **5**(2): p. 250-272.
 82. Wood, R.A., J.S. Kim, R. Lindblad, K. Nadeau, A.K. Henning, P. Dawson, M. Plaut, H.A. Sampson, *A randomized, double-blind, placebo-controlled study of omalizumab combined with oral immunotherapy for the treatment of cow's milk allergy.* J Allergy Clin Immunol, 2016. **137**(4): p. 1103-1110.e11.
 83. Nadeau, K.C., L.C. Schneider, L. Hoyte, I. Borrás, D.T. Umetsu, *Rapid oral desensitization in combination with omalizumab therapy in patients with cow's milk allergy.* J Allergy Clin Immunol, 2011. **127**(6): p. 1622-4.
 84. Ibáñez-Sandín, M.D., C. Escudero, R. Candón Morillo, E.M. Lasa, E. Marchán-Martín, S. Sánchez-García, S. Terrados, C. González Díaz, S. Juste, A. Martorell, et al., *Oral immunotherapy in severe cow's milk allergic patients treated with omalizumab: Real life survey from a Spanish registry.* Pediatr Allergy Immunol, 2021. **32**(6): p. 1287-1295.
 85. Ayats-Vidal, R., S. Riera-Rubió, L. Valdesoiro-Navarrete, M. García-González, H. Larramona-Carrera, O.A. Cruz, M. Bosque-García, *Long-term outcome of omalizumab-assisted desensitisation to cow's milk and eggs in patients refractory to conventional oral immunotherapy: real-life study.* Allergol Immunopathol (Madr), 2022. **50**(3): p. 1-7.
 86. Takahashi, M., K. Soejima, S. Taniuchi, Y. Hatano, S. Yamanouchi, H. Ishikawa, M. Irahara, Y. Sasaki, H. Kido, K. Kaneko, *Oral immunotherapy combined with omalizumab for high-risk cow's milk allergy: a randomized controlled trial.* Sci Rep, 2017. **7**(1): p. 17453.
 87. Frischmeyer-Guerrero, P.A., C.A. Keet, A.L. Guerrero, K.L. Chichester, A.P. Bieneman, R.G. Hamilton, R.A. Wood, J.T. Schroeder, *Modulation of dendritic cell innate and adaptive immune functions by oral and sublingual immunotherapy.* Clin Immunol, 2014. **155**(1): p. 47-59.
 88. de Boissieu, D., C. Dupont, *Sublingual immunotherapy for cow's milk protein allergy: a preliminary report.* Allergy, 2006. **61**(10): p. 1238-9.
 89. Warren, C.M., J. Jiang, R.S. Gupta, *Epidemiology and Burden of Food Allergy.* Curr Allergy Asthma Rep, 2020. **20**(2): p. 6.

90. Labrosse, R., F. Graham, J.C. Caubet, *Non-IgE-Mediated Gastrointestinal Food Allergies in Children: An Update*. Nutrients, 2020. **12**(7).
91. Tordesillas, L., M.C. Berin, H.A. Sampson, *Immunology of Food Allergy*. Immunity, 2017. **47**(1): p. 32-50.
92. Arasi, S., A. Cafarotti, A. Fiocchi, *Cow's milk allergy*. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2022. **22**(3): p. 181-187.
93. D'Auria, E., S. Salvatore, E. Pozzi, C. Mantegazza, M.U.A. Sartorio, L. Pensabene, M.E. Baldassarre, M. Agosti, Y. Vandenplas, G. Zuccotti, *Cow's Milk Allergy: Immunomodulation by Dietary Intervention*. Nutrients, 2019. **11**(6).
94. Restani, P., C. Ballabio, C. Di Lorenzo, S. Tripodi, A. Fiocchi, *Molecular aspects of milk allergens and their role in clinical events*. Anal Bioanal Chem, 2009. **395**(1): p. 47-56.
95. Linhart, B., R. Freidl, O. Elisyutina, M. Khaitov, A. Karaulov, R. Valenta, *Molecular Approaches for Diagnosis, Therapy and Prevention of Cow's Milk Allergy*. Nutrients, 2019. **11**(7).
96. Shreffler, W.G., N. Wanich, M. Moloney, A. Nowak-Wegrzyn, H.A. Sampson, *Association of allergen-specific regulatory T cells with the onset of clinical tolerance to milk protein*. J Allergy Clin Immunol, 2009. **123**(1): p. 43-52.e7.
97. Bavaro, S.L., E. De Angelis, S. Barni, R. Pilolli, F. Mori, E.M. Novembre, L. Monaci, *Modulation of Milk Allergenicity by Baking Milk in Foods: A Proteomic Investigation*. Nutrients, 2019. **11**(7).
98. Tham, E.H., M. Rajakulendran, B.W. Lee, H.P.S. Van Bever, *Epicutaneous sensitization to food allergens in atopic dermatitis: What do we know?* Pediatr Allergy Immunol, 2020. **31**(1): p. 7-18.
99. Brough, H.A., K.C. Nadeau, S.B. Sindher, S.S. Alkotob, S. Chan, H.T. Bahnson, D.Y.M. Leung, G. Lack, *Epicutaneous sensitization in the development of food allergy: What is the evidence and how can this be prevented?* Allergy, 2020. **75**(9): p. 2185-2205.
100. Hammerschmidt, S.I., M. Friedrichsen, J. Boelter, M. Lyszkiewicz, E. Kremmer, O. Pabst, R. Förster, *Retinoic acid induces homing of protective T and B cells to the gut after subcutaneous immunization in mice*. J Clin Invest, 2011. **121**(8): p. 3051-61.
101. Yu, W., D.M.H. Freeland, K.C. Nadeau, *Food allergy: immune mechanisms, diagnosis and immunotherapy*. Nat Rev Immunol, 2016. **16**(12): p. 751-765.
102. McDole, J.R., L.W. Wheeler, K.G. McDonald, B. Wang, V. Konjufca, K.A. Knoop, R.D. Newberry, M.J. Miller, *Goblet cells deliver luminal antigen to CD103+ dendritic cells in the small intestine*. Nature, 2012. **483**(7389): p. 345-9.
103. Tordesillas, L., M.C. Berin, *Mechanisms of Oral Tolerance*. Clin Rev Allergy Immunol, 2018. **55**(2): p. 107-117.
104. Lee, M., Y. Lee, J. Song, J. Lee, S.Y. Chang, *Tissue-specific Role of CX(3)CR1 Expressing Immune Cells and Their Relationships with Human Disease*. Immune Netw, 2018. **18**(1): p. e5.
105. Tan, J., C. McKenzie, P.J. Vuillermin, G. Goverse, C.G. Vinuesa, R.E. Mebius, L. Macia, C.R. Mackay, *Dietary Fiber and Bacterial SCFA Enhance Oral Tolerance and Protect against Food Allergy through Diverse Cellular Pathways*. Cell Rep, 2016. **15**(12): p. 2809-24.
106. Kraus, T.A., J. Brimnes, C. Muong, J.H. Liu, T.M. Moran, K.A. Tappenden, P. Boros, L. Mayer, *Induction of mucosal tolerance in Peyer's patch-deficient, ligated small bowel loops*. J Clin Invest, 2005. **115**(8): p. 2234-43.
107. Spahn, T.W., H.L. Weiner, P.D. Rennert, N. Lügering, A. Fontana, W. Domschke, T. Kucharzik, *Mesenteric lymph nodes are critical for the induction of high-dose oral tolerance in the absence of Peyer's patches*. Eur J Immunol, 2002. **32**(4): p. 1109-13.
108. Fujihashi, K., T. Dohi, P.D. Rennert, M. Yamamoto, T. Koga, H. Kiyono, J.R. McGhee, *Peyer's patches are required for oral tolerance to proteins*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. **98**(6): p. 3310-5.
109. Dubois, B., G. Joubert, M. Gomez de Agüero, M. Gouanvic, A. Goubier, D. Kaiserlian, *Sequential role of plasmacytoid dendritic cells and regulatory T cells in oral tolerance*. Gastroenterology, 2009. **137**(3): p. 1019-28.
110. Goubier, A., B. Dubois, H. Gheit, G. Joubert, F. Villard-Truc, C. Asselin-Paturel, G. Trinchieri, D. Kaiserlian, *Plasmacytoid dendritic cells mediate oral tolerance*. Immunity, 2008. **29**(3): p. 464-75.
111. Mucida, D., N. Kutchukhidze, A. Erazo, M. Russo, J.J. Lafaille, M.A. Curotto de Lafaille, *Oral tolerance in the absence of naturally occurring Tregs*. J Clin Invest, 2005. **115**(7): p. 1923-33.
112. Palomares, O., B. Rückert, T. Jartti, U.C. Küçüksezer, T. Puhakka, E. Gomez, H.B. Fahrner, A. Speiser, A. Jung, W.W. Kwok, et al., *Induction and maintenance of allergen-specific FOXP3+*

- Treg cells in human tonsils as potential first-line organs of oral tolerance.* J Allergy Clin Immunol, 2012. **129**(2): p. 510-20, 520.e1-9.
113. Wambre, E., V. Bajzik, J.H. DeLong, K. O'Brien, Q.A. Nguyen, C. Speake, V.H. Gersuk, H.A. DeBerg, E. Whalen, C. Ni, et al., *A phenotypically and functionally distinct human T(H)2 cell subpopulation is associated with allergic disorders.* Sci Transl Med, 2017. **9**(401).
 114. Ruinemans-Koerts, J., Y. Schmidt-Hieltjes, A. Jansen, H.F.J. Savelkoul, A. Plaisier, P. van Setten, *The Basophil Activation Test reduces the need for a food challenge test in children suspected of IgE-mediated cow's milk allergy.* Clin Exp Allergy, 2019. **49**(3): p. 350-356.
 115. Lin, X.P., J. Magnusson, S. Ahlstedt, A. Dahlman-Höglund, L.L. Hanson, O. Magnusson, U. Bengtsson, E. Telemo, *Local allergic reaction in food-hypersensitive adults despite a lack of systemic food-specific IgE.* J Allergy Clin Immunol, 2002. **109**(5): p. 879-87.
 116. Morita, H., I. Nomura, K. Orihara, K. Yoshida, A. Akasawa, H. Tachimoto, Y. Ohtsuka, Y. Namai, M. Futamura, T. Shoda, et al., *Antigen-specific T-cell responses in patients with non-IgE-mediated gastrointestinal food allergy are predominantly skewed to T(H)2.* J Allergy Clin Immunol, 2013. **131**(2): p. 590-2.e1-6.
 117. Augustin, M.T., J. Kokkonen, T.J. Karttunen, *Duodenal cytotoxic lymphocytes in cow's milk protein sensitive enteropathy and coeliac disease.* Scand J Gastroenterol, 2005. **40**(12): p. 1398-406.
 118. Leung, J., K.R. Beukema, A.H. Shen, *Allergic mechanisms of Eosinophilic oesophagitis.* Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2015. **29**(5): p. 709-720.
 119. Jyonouchi, S., C.L. Smith, F. Saretta, V. Abraham, K.R. Ruymann, P. Modayur-Chandramouleeswaran, M.L. Wang, J.M. Spergel, A. Cianferoni, *Invariant natural killer T cells in children with eosinophilic esophagitis.* Clin Exp Allergy, 2014. **44**(1): p. 58-68.
 120. Murch, S., *Allergy and intestinal dysmotility--evidence of genuine causal linkage?* Curr Opin Gastroenterol, 2006. **22**(6): p. 664-8.
 121. Nakajima-Adachi, H., A. Ebihara, A. Kikuchi, T. Ishida, K. Sasaki, K. Hirano, H. Watanabe, K. Asai, Y. Takahashi, Y. Kanamori, et al., *Food antigen causes TH2-dependent enteropathy followed by tissue repair in T-cell receptor transgenic mice.* J Allergy Clin Immunol, 2006. **117**(5): p. 1125-32.
 122. Schäppi, M.G., O. Borrelli, D. Knafelz, S. Williams, V.V. Smith, P.J. Milla, K.J. Lindley, *Mast cell-nerve interactions in children with functional dyspepsia.* J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2008. **47**(4): p. 472-80.
 123. Boyce, J.A., A. Assa'ad, A.W. Burks, S.M. Jones, H.A. Sampson, R.A. Wood, M. Plaut, S.F. Cooper, M.J. Fenton, S.H. Arshad, et al., *Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel.* J Allergy Clin Immunol, 2010. **126**(6 Suppl): p. S1-58.
 124. Roca, M., A. Rodriguez Varela, E. Donat, F. Cano, D. Hervas, A. Armisen, M.J. Vaya, A. Sjölander, C. Ribes-Koninckx, *Fecal Calprotectin and Eosinophil-derived Neurotoxin in Healthy Children Between 0 and 12 Years.* J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2017. **65**(4): p. 394-398.
 125. Tuano, K.S., C.M. Davis, *Utility of Component-Resolved Diagnostics in Food Allergy.* Curr Allergy Asthma Rep, 2015. **15**(6): p. 32.
 126. Qin, L., L.F. Tang, L. Cheng, H.Y. Wang, *The clinical significance of allergen-specific IgG4 in allergic diseases.* Front Immunol, 2022. **13**: p. 1032909.
 127. Popielarz, M., A. Krogulska, *The importance of component-resolved diagnostics in IgE-mediated cow's milk allergy.* Allergol Immunopathol (Madr), 2021. **49**(3): p. 30-41.
 128. Qamer, S., M. Deshmukh, S. Patole, *Probiotics for cow's milk protein allergy: a systematic review of randomized controlled trials.* Eur J Pediatr, 2019. **178**(8): p. 1139-1149.
 129. Kiewiet, M.B.G., M. Gros, R.J.J. van Neerven, M.M. Faas, P. de Vos, *Immunomodulating properties of protein hydrolysates for application in cow's milk allergy.* Pediatr Allergy Immunol, 2015. **26**(3): p. 206-217.
 130. Meulenbroek, L.A., B.C. van Esch, G.A. Hofman, C.F. den Hartog Jager, A.J. Nauta, L.E. Willemsen, C.A. Bruijnzeel-Koomen, J. Garssen, E. van Hoffen, L.M. Knippels, *Oral treatment with β -lactoglobulin peptides prevents clinical symptoms in a mouse model for cow's milk allergy.* Pediatr Allergy Immunol, 2013. **24**(7): p. 656-64.
 131. van Esch, B.C., B. Schouten, S. de Kivit, G.A. Hofman, L.M. Knippels, L.E. Willemsen, J. Garssen, *Oral tolerance induction by partially hydrolyzed whey protein in mice is associated with enhanced numbers of Foxp3+ regulatory T-cells in the mesenteric lymph nodes.* Pediatr Allergy Immunol, 2011. **22**(8): p. 820-6.

132. Berni Canani, R., R. Nocerino, G. Terrin, A. Coruzzo, L. Cosenza, L. Leone, R. Troncone, *Effect of Lactobacillus GG on tolerance acquisition in infants with cow's milk allergy: a randomized trial.* J Allergy Clin Immunol, 2012. **129**(2): p. 580-2, 582.e1-5.
133. Cukrowska, B., A. Ceregra, E. Maciorkowska, B. Surowska, M.A. Zegadło-Mylik, E. Konopka, I. Trojanowska, M. Zakrzewska, J.B. Bierła, M. Zakrzewski, et al., *The Effectiveness of Probiotic Lactobacillus rhamnosus and Lactobacillus casei Strains in Children with Atopic Dermatitis and Cow's Milk Protein Allergy: A Multicenter, Randomized, Double Blind, Placebo Controlled Study.* Nutrients, 2021. **13**(4).
134. Paparo, L., R. Nocerino, C. Bruno, C. Di Scala, L. Cosenza, G. Bedogni, M. Di Costanzo, M. Mennini, V. D'Argenio, F. Salvatore, et al., *Randomized controlled trial on the influence of dietary intervention on epigenetic mechanisms in children with cow's milk allergy: the EPICMA study.* Sci Rep, 2019. **9**(1): p. 2828.
135. Luyt, D., H. Ball, N. Makwana, M.R. Green, K. Bravin, S.M. Nasser, A.T. Clark, *BSACI guideline for the diagnosis and management of cow's milk allergy.* Clin Exp Allergy, 2014. **44**(5): p. 642-72.
136. Sipka, S., E. Gyimesi, *Az ételallergiák laboratóriumi diagnosztikája [The laboratory diagnosis of food allergies].* Orvosi Hetilap, 2007. **148**(7): p. 299-302.
137. Caffarelli, C., F. Baldi, B. Bendandi, L. Calzone, M. Marani, P. Pasquinelli, *Cow's milk protein allergy in children: a practical guide.* Italian journal of pediatrics, 2010. **36**(1): p. 1-7.
138. Endre, L., P. Osvath, *Antigen-induced lymphoblast transformation in the diagnosis of cow's milk allergic diseases in infancy and early childhood.* Acta Allergologica, 1975. **30**(1): p. 34-42.
139. Xiong, L.J., X.L. Xie, Y. Li, X.Z. Deng, *Current status of fecal calprotectin as a diagnostic or monitoring biomarker for cow's milk protein allergy in children: a scoping review.* World Journal of Pediatrics, 2021. **17**(1): p. 63-70.
140. Pathirana, W.P.N.G.W., S.A.P. Chubb, M.J. Gillett, S.D. Vasikaran, *Faecal calprotectin.* The Clinical Biochemist Reviews, 2018. **39**(3): p. 77.
141. Wassell, J., M. Wallage, E. Brewer, *Evaluation of the Quantum Blue (R) rapid test for faecal calprotectin.* Annals of Clinical Biochemistry, 2012. **49**: p. 55-58.
142. Kaplan, B.J., J. McNicol, R.A. Conte, H.K. Moghadam, *Dietary replacement in preschool-aged hyperactive boys.* Pediatrics, 1989. **83**(1): p. 7-17.
143. Heinzerling, L., A. Mari, K.C. Bergmann, M. Bresciani, G. Burbach, U. Darsow, S. Durham, W. Fokkens, M. Gjomarkaj, T. Haahtela, et al., *The skin prick test - European standards.* Clin Transl Allergy, 2013. **3**(1): p. 3.
144. Michels, N., I. Sioen, T. De Vriendt, I. Huybrechts, B. Vanaelst, S. De Henauw, *Children's morning and evening salivary cortisol: pattern, instruction compliance and sampling confounders.* Horm Res Paediatr, 2012. **77**(1): p. 27-35.
145. Hanrahan, K., A.M. McCarthy, C. Kleiber, S. Lutgendorf, E. Tsalikian, *Strategies for salivary cortisol collection and analysis in research with children.* Appl Nurs Res, 2006. **19**(2): p. 95-101.
146. IBL. *Instructions for use: Cortisol LIA.* 2004; Available from: [www. IBL-Hamburg.com](http://www.IBL-Hamburg.com)
147. services, J.C. *Clinical analyte unit conversion.* . 2004; Available from: <http://dwjay.tripod.com/conversion.html>.
148. Lamb, C.A., J.C. Mansfield, *Measurement of faecal calprotectin and lactoferrin in inflammatory bowel disease.* Frontline Gastroenterol, 2011. **2**(1): p. 13-18.
149. Haisma, S.M., P.F. van Rheenen, L. Wagenmakers, A.M. Kobold, *Calprotectin instability may lead to undertreatment in children with IBD.* Archives of Disease in Childhood, 2020. **105**(10): p. 996-998.
150. Abrahám, M., M.D. Nussbaum, *The pocket guide to the DSM-5 diagnostic exam.[A DSM-5 diagnosztikai vizsgálat zsebkönyve].* Oriold és Társai Kft., Budapest, 2013.
151. *World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects.* J Am Coll Dent, 2014. **81**(3): p. 14-8.
152. Rodriguez-Belvis, M.V., J.F.V. Bris, C.P. Fernandez, A. Garcia-Salido, J.A. Anton, G.D. Ortega, R.A.M. Codoceo, *Normal fecal calprotectin levels in healthy children are higher than in adults and decrease with age.* Paediatrics & Child Health, 2020. **25**(5): p. 286-292.
153. Fagerberg, U.L., L. Loof, R.D. Merzoug, L.O. Hansson, Y. Finkel, *Fecal calprotectin levels in healthy children studied with an improved assay.* Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 2003. **37**(4): p. 468-472.
154. Barna, M., E. Pálfi, Z. Horváth, *A táplálékallergiás fogyasztók tá-plálkozásai biztonsága közös ügy. [Nutritional safety of food allergic consumers is our shared goal.]* Elelmiszervizsgálati Közlemények, 2009. **55**(2): p. 83-104.

155. EMMI, 37/2014. (IV.30.) EMMI rendelet a közétkeztetésre vonatkozó táplálkozás-egészségügyi vonatkozásokról [37/2014. (IV.30.) EMMI Decree on nutritional health aspects of public catering] M.o.H. Resources, Editor. 2014.
156. Vandenplas, Y., E. De Greef ,T. Devreker, *Treatment of Cow's Milk Protein Allergy*. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*, 2014. **17**(1): p. 1-5.
157. Hoffman, K.M., D.G. Ho ,H.A. Sampson, *Evaluation of the usefulness of lymphocyte proliferation assays in the diagnosis of allergy to cow's milk*. *J Allergy Clin Immunol*, 1997. **99**(3): p. 360-6.
158. Greer, F.R., S.H. Sicherer ,A.W. Burks, *Effects of early nutritional interventions on the development of atopic disease in infants and children: the role of maternal dietary restriction, breastfeeding, timing of introduction of complementary foods, and hydrolyzed formulas*. *Pediatrics*, 2008. **121**(1): p. 183-91.
159. Isaksson, J., K.W. Nilsson, F. Nyberg, A. Hogmark ,F. Lindblad, *Cortisol levels in children with attention-deficit/hyperactivity disorder*. *J Psychiatr Res*, 2012. **46**(11): p. 1398-405.
160. Meguid N, R.M., Sheikh M, et al., *Salivary cortisol levels in abused children with attention deficit hyperactivity disorder*. *J Psychiatry*. , 2016. **19**.
161. Kirshbaum C, H.D., *Salivary cortisol levels in abused children with attention deficit hyperactivity disorder*. *J Psychiatry*., 2016. **19**.
162. Kudielka, B.M. ,C. Kirschbaum, *Awakening cortisol responses are influenced by health status and awakening time but not by menstrual cycle phase*. *Psychoneuroendocrinology*, 2003. **28**(1): p. 35-47.
163. Fagerberg, U.L., L. Loof, J. Lindholm, L.O. Hansson ,Y. Finkel, *Fecal calprotectin: A quantitative marker of colonic inflammation in children with inflammatory bowel disease*. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2007. **45**(4): p. 414-420.
164. Henderson, P., N.H. Anderson ,D.C. Wilson, *The Diagnostic Accuracy of Fecal Calprotectin During the Investigation of Suspected Pediatric Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis*. *American Journal of Gastroenterology*, 2014. **109**(5): p. 637-645.
165. Ricciuto, A. ,A.M. Griffiths, *Clinical value of fecal calprotectin*. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 2019. **56**(5): p. 307-320.
166. Kaiser, T., J. Langhorst, H. Wittkowski, K. Becker, A.W. Friedrich, A. Rueffer, G.J. Dobos, J. Roth ,D. Foell, *Faecal S100A12 as a non-invasive marker distinguishing inflammatory bowel disease from irritable bowel syndrome*. *Gut*, 2007. **56**(12): p. 1706-1713.
167. Oord, T. ,N. Hornung, *Fecal calprotectin in healthy children*. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 2014. **74**(3): p. 254-258.
168. Davidson, F. ,R.J. Lock, *Paediatric reference ranges for faecal calprotectin: a UK study*. *Ann Clin Biochem*, 2017. **54**(2): p. 214-218.
169. Biederman, J., *Attention-deficit/hyperactivity disorder: a selective overview*. *Biol Psychiatry*, 2005. **57**(11): p. 1215-20.
170. APA, A.P.A., *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. The American Psychiatric Association, 2013.
171. Miklósi, M., O. Máté ,T. Balázs, *A figyelemhiányos/hiperaktivitás zavar (ADHD) fejlődépszichopatológiai szemlélete*. 2020.
172. Rocco, I., M. Bonati, B. Corso ,N. Minicuci, *Quality of life improvement in children with attention-deficit hyperactivity disorder reduces family's strain: A structural equation model approach*. *Child Care Health Dev*, 2021. **47**(5): p. 667-674.
173. Vandenplas, Y., H.A. Brough, A. Fiocchi, M. Miqdady, Z. Munasir, S. Salvatore, N. Thapar, C. Venter, M.C. Vieira ,R. Meyer, *Current Guidelines and Future Strategies for the Management of Cow's Milk Allergy*. *J Asthma Allergy*, 2021. **14**: p. 1243-1256.
174. Maldonado, E.F., F.J. Fernandez, M.V. Trianes, K. Wesnes, O. Petrini, A. Zangara, A. Enguix ,L. Ambrosetti, *Cognitive performance and morning levels of salivary cortisol and alpha-amylase in children reporting high vs. low daily stress perception*. *Span J Psychol*, 2008. **11**(1): p. 3-15.
175. Rohleder, N., U.M. Nater, J.M. Wolf, U. Ehlert ,C. Kirschbaum, *Psychosocial stress-induced activation of salivary alpha-amylase: an indicator of sympathetic activity?* *Ann N Y Acad Sci*, 2004. **1032**: p. 258-63.
176. Chojnacki, C., A. Błońska, A. Kaczka, J. Chojnacki, A. Stępień ,A. Gąsiorowska, *Evaluation of serotonin and dopamine secretion and metabolism in patients with irritable bowel syndrome*. *Pol Arch Intern Med*, 2018. **128**(11): p. 711-713.

177. Huang, H., Z. Chen ,X. Yan, *Simultaneous determination of serotonin and creatinine in urine by combining two ultrasound-assisted emulsification microextractions with on-column stacking in capillary electrophoresis*. J Sep Sci, 2012. **35**(3): p. 436-44.
178. Egri, C., M. Dunbar ,G.A. Horvath, *Correlation between salivary, platelet and central serotonin levels in children*. Canadian Journal of Neurological Sciences, 2020. **47**(2): p. 214-218.
179. Moriarty, M., A. Lee, B. O'Connell, A. Kelleher, H. Keeley ,A. Furey, *Development of an LC-MS/MS method for the analysis of serotonin and related compounds in urine and the identification of a potential biomarker for attention deficit hyperactivity/hyperkinetic disorder*. Anal Bioanal Chem, 2011. **401**(8): p. 2481-93.
180. Nichkova, M.I., H. Huisman, P.M. Wynveen, D.T. Marc, K.L. Olson ,G.H. Kellermann, *Evaluation of a novel ELISA for serotonin: urinary serotonin as a potential biomarker for depression*. Anal Bioanal Chem, 2012. **402**(4): p. 1593-600.
181. Yunias Setiawati, Y., M. HJ Mukono, J. Joni Wahyuhadi, E. Endang Warsiki ,S. Sasanti Yuniar, *Is there an Effect of Serotonin on Attention Deficit Hyperactivity Disorder*. Indian Journal of Public Health Research & Development. **11**(1).
182. Gabriele, S., R. Sacco ,A.M. Persico, *Blood serotonin levels in autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis*. Eur Neuropsychopharmacol, 2014. **24**(6): p. 919-29.
183. Hercigonja Novkovic, V., V. Rudan, N. Pivac, G. Nedic ,D. Muck-Seler, *Platelet serotonin concentration in children with attention-deficit/hyperactivity disorder*. Neuropsychobiology, 2009. **59**(1): p. 17-22.
184. Braam, W. ,K. Spruyt, *Reference intervals for 6-sulfatoxymelatonin in urine: A meta-analysis*. Sleep Med Rev, 2022. **63**: p. 101614.
185. Checa-Ros, A., A. Muñoz-Hoyos, A. Molina-Carballo, A. Muñoz-Gallego, S. Narbona-Galdó, A. Jerez-Calero ,M.D.C. Augustin-Morales, *Analysis of Different Melatonin Secretion Patterns in Children With Sleep Disorders: Melatonin Secretion Patterns in Children*. J Child Neurol, 2017. **32**(12): p. 1000-1008.
186. Leu, R.M., L. Beyderman, E.J. Botzolakis, K. Surdyka, L. Wang ,B.A. Malow, *Relation of melatonin to sleep architecture in children with autism*. J Autism Dev Disord, 2011. **41**(4): p. 427-33.
187. Wade, A.G., I. Ford, G. Crawford, A. McConnachie, T. Nir, M. Laudon ,N. Zisapel, *Nightly treatment of primary insomnia with prolonged release melatonin for 6 months: a randomized placebo controlled trial on age and endogenous melatonin as predictors of efficacy and safety*. BMC Med, 2010. **8**: p. 51.
188. Kalantari, K. ,W.K. Bolton, *A good reason to measure 24-hour urine creatinine excretion, but not to assess kidney function*. Clin J Am Soc Nephrol, 2013. **8**(11): p. 1847-9.
189. Takai, N., M. Yamaguchi, T. Aragaki, K. Eto, K. Uchihashi ,Y. Nishikawa, *Effect of psychological stress on the salivary cortisol and amylase levels in healthy young adults*. Arch Oral Biol, 2004. **49**(12): p. 963-8.
190. Audhya, T., J.B. Adams ,L. Johansen, *Correlation of serotonin levels in CSF, platelets, plasma, and urine*. Biochim Biophys Acta, 2012. **1820**(10): p. 1496-501.