

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

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Lendvai-Emmert Dominika

Pécsi Tudományegyetem Egészségtudományi Kar

Egészségtudományi Doktori Iskola

Pécs, 2024

## 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 Formula/ aminosav alapú tápszer  
*ADHD*: Attention-Deficit and Hyperactivity Disorder/ figyelemhiányos hiperaktivitás-zavar  
*ASD*: Autism Spectrum Disorder/ autizmus-spektrum zavar  
*BAT*: Basophil activation test/bazofil aktivációs teszt  
*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  
*DSM*: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders/ Mentális zavarok diagnosztikai és statisztikai kézikönyve  
*EHF*: Extensively Hydrolysed Formula/ extenzíven hidrolizált tápszer  
*EOE*: Eosinophilic Esophagitis/ eozinofil oesophagitis  
*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  
*HIAA*: 5-hydroxyindoleacetic acid/ 5-hidroxi-indolecetsav  
*HPA*: Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis/ hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely  
*IBD*: Inflammatory Bowel Disease/ gyulladósos bélbetegségek  
*IgE*: Immunoglobulin E/ immunglobulin E  
*LTT*: Lymphocyte Transformation Test/ lymphocita transzformációs teszt  
*MAKIT*: Magyar Allergológiai és Klinikai Immunológiai Társaság  
*OFC*: Oral Food Challenge/ orális táplálékprovokáció  
*OIT*: Oral Immunotherapy/orális immunterápia  
*PAF*: Platelet Activating Factor/ vérlemezke-aktiváló faktor  
*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  
*TFA*: tejfehérje-allergia (nemzetközi szakirodalomban CMPA (Cow's Milk Protein Allergy) vagy CMA (Cow's Milk Allergy))

## 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 (Flom & Sicherer, 2019; Giannetti et al., 2021; Lendvai-Emmert et al., 2022; Polgár, 1997; Saad et al., 2023; Savage & Johns, 2015; Vandenplas et al., 2022). Elmondható, hogy mind a fejlett, mind a fejlődő nemzeteknél is emelkedő tendencia figyelhető meg a tejfehérje-hiperszenzitivitás incidenciájának és prevalenciájának tekintetében (Flom & Sicherer, 2019; Giannetti et al., 2021; Savage & Johns, 2015).

A betegség változatos tünettana miatt még a 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 (Halken et al., 2021; Hossny et al., 2019; Oláh, 2008; Prescott et al., 2013; Radlović et al., 2016; Sampath et al., 2021; Tang & Mullins, 2017).

A táplálékallergiák, köztük a TFA is, az esetek jelentős hányadában nem-IgE-mediált mechanizmuson alapszik, ezért a leggyakrabban alkalmazott diagnosztikai módszerek, a Prick teszt („alkaros bőrpróba”) és a specifikus IgE vizsgálat önmagában nem alkalmas a betegség fennállásának bizonyítására vagy annak elvetésére.

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 kisgyermekek „burokban tartása”), valamint az intesztinális mikrobióta károsodása a helytelen táplálkozás miatt (Oláh, 2008; Polgár, 1996, 1997).

Jelentős problémát okoz továbbá, hogy nincs egy nemzetközi, egységes diagnosztikai követelményrendszer, mely a szubjektív elemeket nélkülözné. Ebben jelenthet hatalmas előrelépést a tehéntej okozta tünetek pontozó skálája (CoMiSS), mely kritériumrendszer alkalmazása rendkívül hasznos lehet a TFA diagnosztikai eszközeként, ezzel egységesíthetve a betegség fennállásának megítélését. A pontozó rendszer célja, a betegség túl- és aluldiagnosztizálásának elkerülése, valamint biztosítja, hogy a csecsemők egészsége és életminősége ne sérüljön, emellett potenciálisan csökkentheti az egészségügyi ellátórendszer költségeit is (Bajerova et al., 2022; Diaferio et al., 2020; Flom & Sicherer, 2019; Lifschitz & Szajewska, 2015; Lozinsky et al., 2015; Meyer et al., 2017; Sorensen et al., 2022; Vandenplas et al., 2022).

A korai diagnózis jelentősége, illetve a szigorú eliminációs diéta megkezdése és betartása amiatt is fontos, mert több tanulmány számolt be a TFA és a gyulladássos bélbetegségek (IBD) kialakulásának szoros korrelációjáról, ami hosszútávon a beteg életminőségét nagyban ronthatja, illetve az egészségügyi rendszert is terheli (Al-Beltagi et al., 2022; Knoflach et al., 1987; Virta et al., 2013).

Összességében elmondható, hogy a TFA egyre több gyermeket 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 (Al-Beltagi et al., 2022; Knoflach et al., 1987; Polgár, 1997; Virta et al., 2013; Virta et al., 2016).

## Problémafelvetés

TFA-s 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 (Ly et al., 2017; Madzhidova & Sedrakyan, 2019; Nigg & Holton, 2014; Topal et al., 2016). 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 (Yorbik et al., 2016). 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 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 (Coorevits et al., 2013; Herrera et al., 2016; Tóth, 2020). 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 (Belizon et al., 2016; Beşer et al., 2014).

## **A vizsgálat célja, hipotézisek**

### **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, vérékép, gyulladásos paraméterek) vizsgálata, valamint az allergia kimutatására szolgáló lymphocita-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.

### **Specifikus cél 1**

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

### **Specifikus cél 2**

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

### **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) hátterében eltolódott hormon- és mediátor-szint áll (kortizol, alfa-amiláz, szerotonin, melatonin), melyeket objektív diagnosztikai mérésekkel alá tudunk támasztani.

## Szakirodalmi áttekintés

### Táplálékallergiák gyermekkorban

#### Bevezetés a gyermekkorban leggyakrabban előforduló táplálékallergiákba

Jelen ismereteink szerint több, mint 160 élelmiszerről tudjuk, hogy hiperszenzitivitási reakciót okozhatnak különböző mértékben, és rendkívül sokszínű tünetekkel. 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 (Halken et al., 2021; Keet & Wood, 2019; Sampath et al., 2021). Minden életkorban jelentkezhethet, de leggyakrabban a háromévesnél fiatalabb gyermekpopulációban fordul elő ételallergia. Európában és az USA-ban az ételallergiák előfordulása 8-11% gyermek és felnőtt populációt tekintve (csecsemőknél 2-6%) (Lendvai-Emmert et al., 2019; Pratap et al., 2020).

A rendkívül változatos tünetek, és az esetlegesen fellépő keresztreakciók nagyban megnehezítik a házi gyermekorvosok és a klinikumban dolgozó szakorvosok munkáját.

#### A táplálékallergén okozta tünetek

Az adverz táplálékreakció a táplálék vagy annak egy komponense által kiváltott kóros reakció. 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 táplálékallergia esetén az allergiára pozitív családi anamnézis lényeges predisponáló tényező lehet. Több vizsgálatban is arra az eredményre jutottak, hogy ha mindkét szülőnél allergiás megbetegedés áll fenn, a gyermek közel 20-szor nagyobb eséllyel alakul ki atópiás megbetegedés, valamint gyakran előfordul más élelmiszercsoporttal szembeni túlérzékenység, illetve megnő az inhalatív allergia kialakulásának esélye is (Arató A, 2003; Crnković et al., 2019; Kalach et al., 2019). 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 (Arató A, 2003))

Leggyakoribb tünetek adverz táplálékreakciókban		
<i>IgE</i> -mediált allergia (I. típus)	<i>Nem-IgE</i> -mediált allergia (III., IV. típus)	<i>Kevert allergia</i> ( <i>IgE</i> - és <i>nem-IgE</i> -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 (Flom & Sicherer, 2019).

### **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 (Marwa & Kondamudi, 2023; Muraro et al., 2014).

Az elsőként tisztázandó kérdés a potenciális allergén azonosítása. 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 (Marwa & Kondamudi, 2023), mely 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 (Arató A, 2003; Crnković et al., 2019; Hossny et al., 2019; Kalach et al., 2019; Polgár, 1997; Prescott et al., 2013; Radlović et al., 2016; Rancé et al., 2009; Tang & Mullins, 2017) 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 diagnózis felállításának alappillére az allergén étrendből való eliminációját követő visszaterhelés, melynek három fő variánsa a nyílt, a vak, és a kettős vak terhelés. A táplálékallergia diagnosztikájának aranyszandardja (de Weger et al., 2022; Sampson et al., 2012) a kettős vak, placebokontrollált táplálékprovokációs próba (DBPCFC=Double-blind, placebo-controlled food challenge).

Az immunoassay-k olyan in vitro vizsgálatok, amelyeket élelmiszer-specifikus IgE antitestek azonosítására használnak a szérumban. Előnyük, hogy egyre szélesebb körben elérhetőek, antihisztamin szedése az eredményt nem befolyásolja, súlyos anafilaxia szempontjából veszélyeztetett betegeknél is biztonsággal elvégezhető.

A komponens-alapú allergiateszt során az egyedi allergénekre adott specifikus IgE-válaszok mérhetőek. Földimogyoró allergia vizsgálata során kiemelkedő jelentőséggel bír e diagnosztikai módszer. Tej- és tojásallergia esetében a komponens-alapú tesztelés ígéretes prediktornak bizonyulhat az allergia későbbi perzisztálásának kockázatát, valamint a hőkezelt allergén tolerálhatóságát illetően (Ito et al., 2020; Järvinen et al., 2002; Keet et al., 2013; Lemon-Mulé et al., 2008; Nowak-Węgrzyn et al., 2008), azonban az eliminációt követő visszaterhelés, mint diagnosztikai lépés, ezen vizsgálatokkal továbbra sem kiváltható.

### **Kezelési lehetőségek**

Az ételallergia kezelésének elsődleges célja az étellel szembeni tartós tolerancia kialakítása. A táplálékallergiák terápiájának aranyszandardja a tüneteket kiváltó allergén elkerülése, vagyis az eliminációs diéta. Hatékony diéta mellett egyes ételallergiák (pl. tehéntej-, tojás-, szójaallergia) a gyermekkor során „kinőhetnek”, mások (pl. földimogyoró, hal és tenger gyümölcsei) 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 deszenzitizáció) vagy nem élelmiszer-allergén specifikus (pl. anti-immunglobulin) kezelések.

Az élelmiszerallergén-specifikus terápiák közé az orális, szublingvális és szubkután immunterápiák (OIT, SLIT és SCIT) sorolhatók. Közös jellemzőjük, hogy a bejuttatott allergén dózist hetente-kéthetente növelve a reakciót kiváltó küszöbdózis emelhető, vagy teljes tolerancia is elérhető a szisztémás mellékhatások csekélyebb kockázata mellett.

A nem élelmiszer-specifikus terápiák célja elsősorban az allergiás immunválasz downregulációja, mérséklése. A nem allergén-specifikus kezelések közé tartozik az anti-IgE terápia, a toll-like receptor 9 (TLR9) agonista használata, valamint a vazóaktív mediátorok, például a vérlemezke-aktiváló faktor blokkolása (PAF) hízósejtekből és bazofilekből.

### ***A tehéntej allergén összetétele***

A tehéntej teljes fehérje-összetétele két fő frakcióra osztható: a kazeinfehérjéket tartalmazó alvadékra (az összes tejfehérje 80%-a) és a laktoszerumra (tejsavófehérjék, az összes tejfehérje 20%-a). A kazeinek ellenállnak a hőnek, de érzékenyek az enzimatis leomlásra. A laktoszerum egyik legfontosabb összetevője a  $\beta$ -laktoglobulin, amely lineáris IgE-kötő epitópokat tartalmaz. További komponensek közé tartozik az  $\alpha$ -laktalbumin (valódi, tejspecifikus epitópokat tartalmaz) és a szarvasmarha-szérumalbumin (amelynek feltehetően nemcsak a TFA-ban, hanem a marhahús-allergiában is szerepe van). A kazein elleni IgE antitestekkel rendelkező betegeknél nagyobb az allergia fennmaradásának valószínűsége (Taniuchi et al., 2017).

### ***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.

A hidrolízist a tejfehérjék allergenitálásának megváltoztatására használják, de csak a nagymértékben hidrolizált tápszerek tekinthetők biztonságosnak a TFA-ban szenvedő betegek számára.

### ***Diagnózis: jelenlegi gyakorlat és jövőbeli lehetőségek***

A TFA diagnosztikájának 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 sIgE mérése és az SPT elvégzése a következő lépés, bár meg kell jegyezni, hogy ezek a tesztek önmagukban nem elegendők a TFA diagnosztikájához (Boyce et al., 2010; Koletzko et al., 2012).

Az SPT negatív prediktív értéke magas; szenzitizációt is jelezhet. Az allergén kivonatot egy kis lándzsa hegyére visszük fel, amely áthatol a hámrétegen, és hízósejtek degranulációját okozza az erre érzékeny egyénekben, ami csalánkiütés-szerű bőrjelenségek formájában jelentkezik (Yu et al., 2016).

A specifikus 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) (Barni et al., 2020).

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

A DBPCFC az egyik legjobb módszer a diagnózis felállítására, de a magas költségek és időigényessége miatt ritkán használják a mindennapi klinikai gyakorlatban.

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 diagnosztikájának megerősítésében (Belizon et al., 2016; Roca et al., 2017).

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 (Qin et al., 2022; Tuano & Davis, 2015).

A bazofil aktivációs teszt (BAT) ígéretes, biztonságos, in vitro diagnosztikai módszer; bár jelenleg leginkább kutatási környezetben használják, javíthatja az IgE-mediált ételallergiák diagnosztikai pontosságát.

### ***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.

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 (Kiewiet et al., 2015; Qamer et al., 2019).

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.

## **Tanulmány a gyermekkori tehéntejfehérje-allergia diagnosztikai kihívásairól**

### **Bevezetés**

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 hasmenés, esetleg szorulás, puffadás, hányás. A tejfehérje-mentes diéta alkalmazása jelentős javulást eredményez ezen tünetekben, ugyanakkor azok regredialása nem objektív mutatója az allergiás colitis gyógyulásának (Lendvai-Emmert et al., 2019). A kalprotektin székletből való kimutatása non-invazív módon nyújt információt a colitis fennállásáról és annak súlyosságáról.

A kalprotektin egy kalcium- és cinkkötő fehérje, az S-100 fehérjecsalád tagja, melyet először fehérvérsejtekből izoláltak, azonban az egész emberi szervezetben fellelhető, vérplazmában, vizeletben, agyvízben, székletben, nyálban és a szinoviális folyadékokban is (Herrera et al., 2016; Pathirana et al., 2018; Tóth, 2020). Számos élettani folyamatban játszik szerepet, többek között a gyulladásos folyamatokban aktív mediátor. Tekintettel arra, hogy a széklet a bélnyálkahártyával közvetlen kontaktusban áll, a széklet kalprotektin sokkal érzékenyebb jelzője a bélgyulladásnak/bélkárosodásnak, mint a szérumban mérhető biomarkerek.

TFA-s gyermekek esetében gyakran megfigyelhető a szervi eltérések mellett, hogy magatartásbeli problémák is jelentkeznek: figyelemzavarról, fokozott impulzivitásról, alvászavarról számolnak be a szülők, melynek biológiai háttere pontosan nem ismert. ADHD-s gyermekek esetében több tanulmány felveti a tehéntejfehérje-mentes diéta jótékony hatását (Kaplan et al., 1989; Madzhidova & Sedrakyan, 2019; Nigg & Holton, 2014); azonban fordított összefüggést vizsgálva, egyelőre nem áll rendelkezésre átfogó vizsgálat.

A viselkedésbeli probléma biológiai háttere, illetve a tejfehérje kóroki szerepe nem tisztázott. Hipotézisünk szerint a CRH-ACTH-kortizol tengely, illetve az allergiás folyamatokban jelen lévő mediátorok, mint pl. a szerotonin szerepet játszhat a hiperaktivitás, koncentrációs nehézségek és az alvászavar kialakulásának patomechanizmusában.

Rész kutatásunk 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. Longitudinális vizsgálatunk célja az volt, hogy megfigyelhessük, a tejfehérjementes diéta jótékony hatása hogyan monitorozható objektív paraméterek segítségével.

### **Módszer**

#### ***Minta***

Vizsgálatunk során a mintagyűjtésre a Tolna Vármegyei Balassa János Kórház gyermek-gastroenterológiai szakrendelésén. 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 mintagyűjtés két lépésben zajlott, a résztvevők azonban háromszor látogattak el a gyermek-gastroenterológiai szakrendelésére. Az első vizit alkalmával TFA-ra utaló tüneteket mutató betegek jelentkeztek az ambuláns ellátásra, ahol a résztvevők teljes körű szóbeli és írásbeli tájékoztatást kaptak a vizsgálat felépítéséről és a mintavételi módszerekről. Ekkor nutritív Prick teszt, valamint LTT elvégzése céljából vérvétel történt, emellett a diéta megkezdése előtt nyál- és székletmintákat gyűjtöttünk, melyeket a megjelenést követő 72 órán belül, a kitöltött kérdőívekkel együtt gyűjtöttünk be.

Egy hónapig tartó, szigorú tejmentes diétát követően a szülők tejfehérje tartalmú élelmiszert vezettek vissza gyermekük étrendjébe, tapasztalataikat második kérdőívünkön rögzítették. Ha a gyermek a diéta alatti

panaszmentes időszak után a tejtermékek fogyasztását követően tüneteket mutatott, TFA diagnózisát állapítottuk meg, és bevontuk a végső vizsgálatba.

Három hónapos 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 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 teljes mintából a viselkedésbeli eltéréseket vizsgáló részkutatásunkban további 4 kisgyermeket zártunk ki ( $n=43$ ), mert velük kapcsolatban a DSM-5 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) 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.

### ***Prick teszt***

A Prick teszt egy gyors és egyszerű mód különböző allergénekre adott túlérzékenységi reakció diagnosztizálására, mely főként az I. típusú (IgE-mediált) allergiás reakciók kimutatására alkalmas módszer, de táplálékallergia fennállásának gyanúja esetén is az első diagnosztikai módszerek közt szerepel.

### ***Lymphocita-transzformációs teszt***

Az LTT elsősorban gyógyszerallergiák kimutatására szolgáló in vitro eljárás, de táplálékallergiák diagnosztikájában is alkalmazható (Endre & Osvath, 1975; Polgár, 1996, 1997). Az allergén-specifikus szenzitizáción átesett gyermekek mintáiban az allergént felismerő lymphocyták klonális proliferációja történt, ezeket kontroll, stimulálatlan tenyészethez viszonyítottunk.

### ***Nyálmintavétel és kortizol-szint meghatározás***

A nyálminták gyűjtése a gyermekek otthonában, meghatározott módszerekkel történt: a reggeli gyűjtést ébredést követően azonnal, a száj vízzel történő öblítését követően 2-3 perccel, az esti mintát 18:00 és 20:00 óra között gyűjtötték, előre feliratozott csövekbe. A mintavétel előtt legalább 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) tároltuk, majd tisztítást követően, a kortizol-szint meghatározásáig (ELISA módszer) -80 °C-on tároltuk (Michels et al., 2012).

### ***Széket mintavétel és konzisztencia meghatározás***

A széketminták gyűjtése szintén a gyermekek otthonában történt, előre feliratozott széketgyűjtő tartályokba. A minták visszaérkezésekor Bristol széketkálá (BFS) segítségével meghatároztuk a széket konzisztenciáját.

A BFS segítségével nagyon egyszerűen, gyorsan, non-invazív módon sorolható be a széket állaga különböző osztályokba, mely segítségével könnyen nyomon lehet követni a széket állagának változását az eliminációs diéta hatására.

### ***Széket kalprotektin szint meghatározása***

A széketmintákat szobahőmérsékleten hagytuk felolvadni (-80 °C-on való tárolást követően). A mintákat Quantum Blue fCAL kalprotektin gyorseszteszt segítségével teszteltük.

A FC rezisztens a proteázokkal, valamint a hasnyálmirigy és bél eredetű bakteriális lebontással szemben, in vitro és in vivo környezetben is. A gyártó által megadott normál cut-off érték 30 $\mu$ g/g.

### ***Kérdőíves adatfelvétel***

A kutatócsoport által kidolgozott kérdőívek a szociodemográfiai adatokra, az életmóddal kapcsolatos szokásokra, az egészségi állapotra, a születési körülményekre és a TFA-val kapcsolatos tünetekre vonatkozó

kérdésekből állt, illetve a kontrollok során alkalmazott 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 (Abrahám & Nussbaum, 2013).

### ***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-tesztet 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.

### ***Etikai szempontok***

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

A kutatás a Helsinki Deklaráció ajánlását, illetve annak kiegészítéseit betartva valósult meg ("World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects," 2014).

### **Eredmények**

#### ***Szocio-demográfiai és klinikai adatok***

Vizsgálatunkban összesen 47 gyermek vett részt. A nemek aránya közel azonos volt (57% fiú). Óvodás és kisiskolás korúak alkották a vizsgált populáció nagy részét (72,4%), kisebb részben kisdéd, pre-pubertás és pubertás (27,6%) 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 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 gyermeknél adott pozitív eredményt tejure vonatkozóan. Az LTT eredményeket vizsgálva 8 gyermeknél kaptunk pozitív, 4-nél pedig kétes eredményt.

#### ***Viselkedészavar, hiperaktivitás, alvászavar***

Ezen részvizsgálatból további 4 kisgyermeket kizártunk ( $n=43$ , 58,1% fiú, átlag életkor:  $7,88 \pm 4,02$  év), mert koruknál fogva (3 év alatti, közösségbe nem jár) a DSM-5 ADHD tünetlistával kapcsolatos kérdéseket rájuk vonatkozóan nem lehetett kitölteni. Első megjelenéskor 9 gyermek szülője figyelemzavarra, 8-é hiperaktivitásra panaszkodott, 16 szülő említette, hogy gyermekénél alvási nehézségeket tapasztalt.

A 3 hónapos diétát követően 12 gyermeknél nyugodtabb viselkedést figyeltek meg napközben, és 15 gyermek szülője számolt be kiegyensúlyozottabb alvásról.

A kérdőívek kiértékelése során objektívebb képet kaphattunk a pszichés eltérésekről: több gyermeknél állnak fenn ilyen jellegű tünetek, mint ahányan megemlítették azt.

Az ADHD pontok tekintetében elmondhatjuk, hogy diéta előtti és a diétát követő pontszámokban szignifikáns különbség figyelhető meg ( $6,88 \pm 4,43$  vö.  $4,73 \pm 3,73$ ,  $p=0,0003$ ,  $r=0,521$ ).

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

### **Kortizol**

A vizsgálati csoportból 2 gyermek nyál kortizol szintjét nem tudtuk meghatározni, így 45 gyermek reggeli és esti kortizol szintjét mértük ELISA módszerrel.

A diéta megkezdését megelőzően, illetve a 3 hónap múlva mért kortizol-szintek között nem találtunk szignifikáns különbséget. Diéta előtti és utáni kortizol-szintek között szignifikáns különbséget találtunk; diéta előtt a reggeli értékhez képest a kortizol szintje az esti mérés idejére lecsökkent ( $p<0,0001$   $r=0,893$ ). Hasonló eredményt tapasztaltunk a diéta utáni kortizol értékek napszaki változásában is ( $p<0,0001$   $r=0,804$ ), ami pontosan követi a kortizol cirkadián ritmusát.

### **Széket vizsgálatának eredményei**

#### *Szigorú eliminációs diétát tartók szociodemográfiai és klinikai adatai*

A teljes vizsgálati populációból a diétát 35 gyermek tartotta. A diétázók körében közel azonos a nemek aránya (54% fiú). A diétát a fiatalabb gyermekeknél nem tudták szigorúan betartatni a szülők, viszont a pre-pubertás és pubertás korcsoportú gyermekek 100%-a betartotta az előírt étrendet.

#### *A széket konzisztenciájának változása Bristol skála alapján*

A diéta előtt és után vett széketmintákon végeztük el a Bristol skála szerinti besorolást. A széket állagának vizsgálata a következő eredményeket hozta: a gyermekek 34,29%-át soroltuk normál kategóriába (34,29%), 34,29% „székrekedéses”, 31,43% „hasmenéses” osztályba voltak sorolhatók. A széket konzisztenciájában szignifikáns javulást tapasztaltunk a 3 hónapos diétát követően,  $p<0,001$ . A gyermekek 94,29% -ának volt széklete normális osztályba sorolható, és csupán 5,72%-uk széklete maradt a kóros állapotjelző osztályokban.

#### *Széket 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 ( $p=0,717$ ). A helyesen diétázók (n=35) FC szintjeit összehasonlítva szignifikáns különbség volt megfigyelhető 3 hónap után ( $84,06\pm 79,48\mu\text{g/g}$  vö.  $41,11\pm 34,24\mu\text{g/g}$ ,  $p<0,001$   $r=0,454$ ).

A szakirodalom szerint a FC-t 4 éves kortól felnőtt referenciaértékek alapján lehet értékelni, ezért megvizsgáltuk a 4 év alatti gyermekek FC-szintjét diéta előtt és után, azonban nem találtunk különbséget a korcsoportok között,  $p=0,859$  (Fagerberg et al., 2003; Rodriguez-Belvis et al., 2020). A mért eredmények nemenként is összehasonlítottuk, és e tekintetben sem találtunk szignifikáns különbséget,  $p=0,597$ .

A különböző tünetekkel érkező gyermekek kalprotektin szintjeit is összehasonlítottuk diéta előtt és után (n=35). Eredményeinkből 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. A gyomor-bélrendszeri tünetekkel érkező gyermekek kalprotektin szintjét tekintve szignifikáns különbséget találtunk ( $p<0,001$   $r=0,601$ ). A bőrtüneteket említő gyermekek FC esetében is szignifikáns különbséget találtunk a diéta előtti és utáni értékekben ( $p=0,003$ ,  $r=0,652$ ). A felsőlégúti panaszokat említőknél is szignifikáns változás volt tapasztalható ( $p=0,004$ ,  $r=0,733$ ). A viselkedésbeli eltérések esetén is szignifikáns, különbség mutatkozott a FC tekintetében ( $p=0,001$ ,  $r=0,783$ ).

Többváltozós lineáris regressziós modellünkben a három hónapos diétát követő, kontroll során mért FC 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.

## Megbeszélés

A diagnózis felállítása sok esetben nehézséget okoz, akár a gyakorlott szakembereknek is, köszönhetően a betegség okozta tünetek sokszínűségének (Caffarelli et al., 2010; Vandenplas et al., 2014).

Az általunk vizsgált populációban a nem-IgE-mediált allergiás betegek voltak túlnyomó többségben. Kutatásunk célja volt, 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. Követéses 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 (Boyce et al., 2010; Hoffman et al., 1997; Tainio & Savilahti, 1990).

Kutatásunk erőssége az ADHD-szerű tünetek feltérképezésének kísérlete volt. 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 a fent említett idegrendszeri tünetekről, mint azt a DSM-5 ADHD-kérdőívében jelezték. Összességében elmondható, hogy az ADHD tünetlista alapján szerzett pontokat figyelembe véve szignifikáns javulást értünk el az érintett gyermekek körében az eliminációs diétával ( $p=0,0003$ ). Hasonló eredményeket tapasztaltunk az alvászavart megemlítő gyermekek ADHD- pontjaival kapcsolatosan is ( $p=0,005$ ).

Az ADHD-jellegű tünetek fennállását terveztük bizonyítani nyál kortizol-szint méréssel, mint objektív diagnosztikai módszerrel, mely az akut és krónikus stressz kutatása céljából is gyakran használt módszer (Kirshbaum C, 2016).

Vizsgálatunk 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, tehát valószínűsíthető, hogy a TFA okozta viselkedései 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 „*Tanulmány a gyermekkori tehéntejfehérje-allergia kapcsán kialakuló viselkedészavar háttérmechanizmusairól*” című fejezetben mutatunk be.

Értékes 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 FC szintjének meghatározása egy non-invazív, olcsó és gyors eljárás, így nagy szerepe lehet a TFA pontosabb diagnózisának felállításában és az étrendi megfelelés nyomon követésében is (Wassell et al., 2012).

Beser és kutatócsoportja FC teszttel vizsgálták a szigorú tejmentes diéta hatását 32, újonnan diagnosztizált TFA-s gyermekben ( $10,16 \pm 8,57$  hónapos korban). Beser vizsgálatainak eredményei megerősítették, hogy a szigorú diéta szignifikáns csökkenést eredményez az FC értékekben ( $p < 0,001$ ) (Beşer et al., 2014).

Vizsgálatunk eredményei – Beser és mtsai-hoz hasonlóan (Beşer et al., 2014) – szintén szignifikáns csökkenést mutattak FC-szint tekintetében ( $p < 0,001$ ), 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.

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.

# Tanulmány a gyermekkori tehéntejfehérje-allergia kapcsán kialakuló viselkedészavar háttérmechanizmusairól

## 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. 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.

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 (Vandenplas et al., 2021).

Az autonóm idegrendszer szimpatikus és paraszimpatikus ágai beidegzik a nyálmirigyeket, így szimpatikus stimuláció esetén nő a nyálmirigyek fehérje (pl. alfa-amiláz) szekréciója, mely non-invazív módon mérhető. Rohleder és munkatársai vizsgálták az alfa-amilázt, mint a szimpatikus aktivitás indikátorát. Kutatásuk során 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 tükrösképe a jól ismert kortizol cirkadián ritmusának; a kora reggeli órákban a legalacsonyabb, míg a délutáni, kora esti időszakban figyelhető meg a legmagasabb alfa-amiláz koncentráció (Maldonado et al., 2008; Rohleder et al., 2004).

A szerotonin (5-HT) széles körben tanulmányozott neurotranszmitter, mely perifériás hormonként is működhet (Chojnacki et al., 2018; Egri et al., 2020; Huang et al., 2012). A szervezet teljes szerotonin készletének 95%-a az enterocromaffin sejtek által termelődik. A szerotonin rendkívül fontos szabályozója kardiovaszkuláris funkcióknak, légzésnek, a cirkadián ritmusnak, az alvásnak, az étváagnak vagy akár a hangulatnak (Egri et al., 2020). A szerotonin túlnyomórészt 5-hidroxi-indol-ecetsavvá (5-HIAA) vagy melatoninná metabolizálódik, amely a vizelettel ürül, így mérése egyszerűen, non-invazívan kivitelezhető (Chojnacki et al., 2018; Moriarty et al., 2011; Nichkova et al., 2012). Gyakran vizsgálják a szerotonin szintjét, illetve annak eltolódott mintázatát különböző pszichiátriai kórképekben, többek között autizmus-spektrum zavarban (ASD) vagy ADHD-ban (Gabriele et al., 2014; Hercigonja Novkovic et al., 2009; Yunias Setiawati et al.). 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 (Gabriele et al., 2014).

A tobozmirigyben, főként éjszaka szintetizálódó hormon, a melatonin felelős a cirkadián ritmus szabályozásáért és az alvásért, de rendkívül hatékonyan működik az oxidatív stressz hatásainak csökkentésében is. 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 (Checa-Ros et al., 2017; Leu et al., 2011), míg mások nem tudták bizonyítani a korrelációt a csökkent melatonin-koncentráció és az alvászavarok tekintetében (Wade et al., 2010). A vizeletben egyszerűen és non-invazív módon mérhető a melatonin bomlásterméke, a 6-hidroximelatonin-szulfát (aMT6s), melynek mennyisége pozitív korrelációt mutat a vérplazma melatonin koncentrációjával (Braam & Spruyt, 2022). 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 foszfokreatin (p-kreatin) metabolitja. A kreatin egy része spontán alakul át az izmokban kreatininné. 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 (Kalantari & Bolton, 2013).

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 (Rohleder et al., 2004; Takai et al., 2004; Yorbik et al., 2016). 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.

## **Módszer**

### ***Minta***

Részkutatásunk mintagyűjtése a Soproni Erzsébet Oktatókórház és Rehabilitációs Intézet gyermek-gasztroenterológiai szakrendelésén zajlott. A vizsgálati populáció, a beteg kiválasztás módja és a kizárási kritériumok, valamint a vizsgálatba való bevonás ugyanazon feltételekkel zajlott, mint a korábbi vizsgálati helyszínen, Szekszárdon.

A vizsgálatba bevont 36 gyermek közül heten nem teljesítették maradéktalanul a feltételeket, így őket kizártuk a kutatásból. Vizsgálatunkban így 29 (fiú: 44,8%, átlag életkor:  $7,10 \pm 4,20$  év) gyermek biológiai mintáit analizáltuk. A teljes mintából ( $n=29$ ) a viselkedésbeli eltéréseket vizsgáló részkutatásunkban további 5 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 kizáráásra.

### ***Nyálmintavétel és alfa-amiláz szint meghatározás***

A nyálminták gyűjtése, tisztítása és tárolása a korábban bemutatottak szerint történt. Az összes minta visszaérkezését követően, a korábban előkészített nyálmintákból ELISA módszer segítségével határoztuk meg a kutatásban résztvevők nyál alfa-amiláz szintjét.

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

#### ***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 csövekbe. A minták visszaérkezését követően a begyűjtött elsődleges mintákat több aliquotra osztottuk, ezeket hűtőben ( $2-8$  °C), tároltuk legfeljebb 72 órán át, majd a biomarkerek meghatározásáig  $-80$  °C-ra helyeztük őket.

#### ***Vizelet 6-hidroxi-melatonin-szulfát szintjének meghatározása***

A fénytől védve tárolt vizeletminták szobahőmérsékleten történő felolvasását követően a melatonin-szulfát (a6MTs) meghatározása a gyártói útmutató szerint történt. Eredményeinket a vizsgálat során mért vizelet-kreatinin mennyiségekhez arányosítottuk.

#### ***Vizelet 5-hidroxi-indol-ecetsav szintjének meghatározása***

A mintákat fénytől védve, hűtve tároltuk. A normalizáláshoz vizelet kreatinin-meghatározás is történt. Eredményeinket minden esetben arányosítottunk a vizeletből mért kreatinin-szinttel.

#### ***Vizelet kreatinin-szintjének meghatározása***

A vizeletminták szobahőmérsékleten történő felolvasását követően a gyártó felhasználási útmutatója szerint történt a mérés.

### ***Kérdőíves adatfelvétel***

A kutatócsoport által kidolgozott kérdőívek kitöltése pontosan aszerint zajlott, mint a szekszárdi betegcsoportnál, korábbi vizsgálataink során.

A gyermekek viselkedéssel kapcsolatos tüneteinek objektív felmérését saját szerkesztésű kérdőíveinkbe adaptált, DSM-5 ADHD pontozóskálájának kérdéseivel végeztük el (Abrahám & Nussbaum, 2013).

### ***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.

### ***Etikai szempontok***

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

A kutatás az Orvosok Világszövetsége által 1964-ben megfogalmazott Helsinkii Deklaráció ajánlását, illetve annak kiegészítéseit betartva valósul meg, valamint hatályos hazai törvényeknek és szabályozásoknak megfelelően zajlott ("World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects," 2014).

## **Eredmények**

### ***Szociodemográfiai és klinikai adatok***

Vizsgálatunkban összesen 29 gyermek vett részt, a nemek aránya közel azonos (44,83% fiú). Kisgyermekek alkották a vizsgált populáció nagy részét (82,76%), kisebb részben az idősebb korosztályba sorolt gyerekek (17,24%).

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 e 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.

### ***Nyál alfa-amiláz szint***

A szigorúan diétázók csoportjában négy gyermeknél nem tudtuk elvégezni a reggeli és esti alfa-amiláz szint (ELISA) meghatározását az elégtelen mennyiségű nyálminta miatt ( $n=18$ ). Az alfa-amiláz ismert cirkadián ritmusa szerint az esti mérési eredményekre helyeztük a fókuszot. A diétát szigorúan tartók körében marginálisan szignifikáns csökkenést tapasztaltunk az alfa-amiláz szintjében ( $p=0,064$ ). A diétázók alacsony csoportjában ( $n=7$ ), akiknél egyértelmű viselkedésbeli javulás mutatkozott, az alfa-amiláz kora esti szintjében szignifikáns, erős különbség mutatkozott a 3 hónapos diéta hatására ( $p=0,010$ ,  $r=0,822$ ).

### ***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 alacsony csoportot vizsgálva tendenciózus változás figyelhető meg a diéta hatására. A szerotonin

metabolitjának mennyisége a szigorú tejmentes diéta hatására lecsökkent ( $p=0,287$ ), 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,  $r_s=-0,628$   $p=0,003$ .

### ***Vizelet 6-hidroxi-melatonin-szulfát szint***

Az a6MTs koncentrációja tendenciózusan mutatta a hipotézisünk szerinti növekedést a diétát követők csoportjában ( $n=22$ ), azonban eredményeink nem mutattak szignifikáns változást ( $p=0,783$ ). 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 ( $p=0,508$ ). A diétázó gyermekek életkora és a kapott a6MTs szintek között szignifikáns korreláció mutatkozott  $r_s=-0,430$   $p=0,046$ .

### **Megbeszélés**

Korábbi rész kutatásunk során tapasztaltuk, hogy szembe tűnően 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 (Kaplan et al., 1989; Madzhidova & Sedrakyan, 2019; Nigg & Holton, 2014); 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 (Topal et al., 2016).

Az ADHD egy elterjedt neuropszichiátriai betegség, mely kisgyermekek és serülők körében is gyakori (Biederman, 2005). 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 (APA, 2013; Miklósi et al., 2020; Rocco et al., 2021).

Az ADHD neurobiológiai háttere, illetve a TFA-s gyermekek ADHD-szerű tüneteinek esetében a tejfehérje kóros 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 (Vandenplas et al., 2021).

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 (Rohleder et al., 2004). 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 (Gabriele et al., 2014; Hercigonja Novkovic et al., 2009; Yunias Setiawati et al.). 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 (Hercigonja Novkovic et al., 2009). Vizsgálatunk során a szerotonin metabolitjának (5-HIAA) szintjét határoztuk meg, mely jól korrelál a vér szerotonin koncentrációjával (Audhya et al., 2012; Egri et al., 2020). 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 (Hercigonja Novkovic et al., 2009).

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 (Checa-Ros et al., 2017; Leu et al., 2011), míg mások nem tudták bizonyítani a korrelációt a csökkent melatonin-koncentráció és az alvásproblémák tekintetében (Wade et al., 2010). A vizeletben egyszerűen és non-invazív módon mérhető az aMT6s, melynek mennyisége erősen korrelál a vérplazma melatonin koncentrációjával (Braam & Spruyt, 2022). 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 (Braam & Spruyt, 2022).

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 (Rohleder et al., 2004; Takai et al., 2004; Yorbik et al., 2016). 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.

## Következtetések

A frissen diagnosztizált TFA-s 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.

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 betegség tünettana rendkívül sokrétű, így felismerése a mai napig kihívást jelenthet a háziorvosoknak 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.

Longitudinális, multicentrikus vizsgálatunkba nem véletlenszerű, célirányos szakértői beteg kiválasztás 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 szérum 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 bélgnyulladás javulásának, és a diéta jótékony hatásának.

Viselkedésbeli eltéréseket feltáró részkutatásunkhoz 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. Az eliminációs diéta előtti-utáni eredmények sem mutattak számottevő különbséget a teljes vizsgálati populációban. Mivel a kortizol-szint meghatározás nem mutatott szignifikáns változást, 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 ( $p=0,783$ ). 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 ( $p=0,508$ ). A diétázó gyermekek életkora és a kapott a6MTs szintek között szignifikáns korreláció mutatkozott ( $p=0,046$ ).

Kutatásunk eredményei alapján elmondhatjuk, hogy a TFA-s gyermekeknél a pontos diagnózis felállításához nem elegendő a sIgE vizsgálat, a Prick teszt vagy az LTT 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. 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.

## **Limitációk**

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

## 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 diagnosztizálásának 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.

## 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 felett 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 titkárnak, valamint Dr. Prémusz Viktóriának, a Doktori Iskola titkárnak 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 Patrícának, 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 TFA-s 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 Talentum Alapítvány Kuratóriumi Bizottságának, amiért fantáziát láttak bennem, és érdemesnek 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.

## Saját közlemények jegyzéke

### *In extenso közlemények*

*A disszertáció alapjául szolgáló közlemények*

**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

Tóth Gergely; Emmert Vanessza; **Lendvai-Emmert Dominika**, A székletkalprotektin szerepe a gasztroenterológiai diagnosztikában. Gyermekorvos Továbbképzés 19: 1 pp. 11-14., 4 p. (2020)

**Lendvai-Emmert Dominika**, Emmert Vanessza, Tóth Gergely, Táplálékallergiák gyermekkorban. Gyermekgyógyászati Továbbképző Szemle 27: 4 pp. 112-116., 5 p. (2022)

**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

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

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