

Τίτλος: Μελέτη του ρόλου των T-ρυθμιστικών κυττάρων και του μικροβιώματος του εντέρου σε βρέφη με IgE και μη-IgE αλλεργία στο γάλα αγελάδας.

Υποψήφια διδάκτορας: Δάφνη Μωρίκη

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

1. (Επιβλέπων) Πρίφτης Κωνσταντίνος, Αν. Καθηγητής Παιδιατρικής Πνευμονολογίας, Γ' Παιδιατρική ΕΚΠΑ
2. Ξάνθου-Τσιγκόγλου Γεωργία, ερευνητής Γ', ΙΙΒΕΑΑ
3. Παπαευαγγέλου Βασιλική, Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Λοιμωξιολογίας, Γ' Παιδιατρική ΕΚΠΑ

Περίληψη Πρωτοκόλλου

Εισαγωγή: Ως τροφική αλλεργία ορίζεται η ανοσολογικά μεσολαβούμενη ανεπιθύμητη αντίδραση η οποία εμφανίζεται μετά την έκθεση σε πρωτεΐνες των τροφών. Παρόλο που μπορεί να αφορά οποιαδήποτε ηλικία, η τροφική αλλεργία εμφανίζεται πιο συχνά σε παιδιά ηλικίας έως 3 ετών λόγω του ανώριμου ανοσοποιητικού τους συστήματος. Ο επιπολασμός της στα παιδιά υπολογίζεται ότι είναι 6-8% και το πιο συχνό αλλεργιογόνο είναι τα γάλα αγελάδας (ΓΑ). Ανάλογα με το παθογενετικό μηχανισμό οι τροφικές αλλεργίες διακρίνονται σε άμεσου (IgE-μεσολαβούμενες), έμμεσου (μη-IgE-μεσολαβούμενες) και μικτού τύπου. Ο μόνος γνωστός και αποδεδειγμένος ανοσολογικός μηχανισμός είναι εκείνος της αντίδρασης υπερευαισθησίας άμεσου τύπου ο οποίος οφείλεται στην παραγωγή ειδικών IgE αντισωμάτων που προσδένονται στην επιφάνεια των μαστοκυττάρων και προκαλούν απελευθέρωση των μεσολαβητών της αλλεργικής φλεγμονής. Ο μηχανισμός με τον οποίο επιτυγχάνεται η ανοχή από το στόμα δεν έχει κατανοηθεί ακόμη πλήρως. Ωστόσο, θεωρείται θεμελιώδους σημασίας η αναγνώριση των αντιγόνων της τροφής από τα δενδριτικά κύτταρα του εντέρου και η ισχυρή επαγωγή T-ρυθμιστικών (Treg) και B-ρυθμιστικών (Breg) κυττάρων. Υπάρχουν δεδομένα στη βιβλιογραφία που υποστηρίζουν ότι τα παιδιά με τροφική αλλεργία έχουν μειωμένο αριθμό Tregs και αυτό φαίνεται πως εμπλέκεται στην παθογένεια της νόσου. Τα πιο καλά μελετημένα Tregs είναι εκείνα που εκφράζουν στην επιφάνεια τους τον μεταγραφικό παράγοντα FOXP3. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα παιδιά με IgE-μεσολαβούμενη τροφική αλλεργία έχουν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης αυτού του μεταγραφικού παράγοντα σε σύγκριση με τα υγιή. Επιπλέον, παρατηρείται επηρεασμένη λειτουργία και μειωμένο ποσοστό ενεργοποιημένων Tregs μετά από *in vivo* έκθεση στο υπεύθυνο αλλεργιογόνο. Τα δεδομένα για τη μη-IgE-μεσολαβούμενη τροφική αλλεργία είναι πολύ περιορισμένα. Για την ανάπτυξη ανοχής από το στόμα φαίνεται διαδραματίζει κεντρικό ρόλο το εντερικό μικροβίωμα. Μελέτες σε πειραματικά μοντέλα

υποστηρίζουν ότι η βιοποικιλότητα του εντερικού μικροβιώματος σχετίζεται με μικρότερο κίνδυνο εκδήλωσης τροφικής αλλεργίας. Τέλος, έχει διαπιστωθεί ότι ορισμένα είδη κλωστηριδίων, και διάφορα μεταβολικά προϊόντα του μικροβιώματος, όπως τα λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFA), ενεργοποιούν τα Tregs και επηρεάζουν τη λειτουργία τους. Με αυτό τον τρόπο συμβάλλουν στην ανάπτυξη ανοχής. Οι μελέτες σε παιδιά είναι ελάχιστες και παρουσιάζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα χωρίς να επιβεβαιώνουν τα αποτελέσματα των πειραματικών ερευνών.

Σκοπός: Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνήσει τον ρόλο των T-ρυθμιστικών κυττάρων και του εντερικού μικροβιώματος σε βρέφη με IgE-μεσολαβούμενη αλλεργία, αλλεργική πρωκτοκολίτιδα και FPIES στο ΓΑ.

Υλικό και μέθοδος: Το δείγμα της μελέτης θα αποτελείται από βρέφη ηλικίας 1-6 μηνών που σιτίζονται αποκλειστικά με ΓΑ και παρακολουθούνται στη Παιδοαλλεργιολογική Μονάδα της Γ' Παιδιατρικής κλινικής, ΕΚΠΑ στο ΠΓΝ «Αττικόν». Ως προς τον ερευνητικό σχεδιασμό, διακρίνονται δύο μέρη. Το πρώτο μέρος αποτελεί περιγραφική, μη τυχαιοποιημένη μελέτη ασθενών-μαρτύρων με εξατομικευμένη εξομοίωση κατά ηλικία, φύλο και κοινωνικοοικονομικό επίπεδο. Θα περιλαμβάνει τέσσερις ομάδες: βρέφη με IgE-μεσολαβούμενη αλλεργία στο ΓΑ (n=10), βρέφη με αλλεργική πρωκτοκολίτιδα στο ΓΑ (n=10), βρέφη με FPIES στο ΓΑ (n=10) και υγιή βρέφη (n=10). Σε κάθε ασθενή με αλλεργία θα γίνεται δοκιμασία πρόκλησης σύμφωνα με πρωτόκολλο ανάλογα με το είδος της αλλεργίας. Προκειμένου να διαπιστωθεί η ανοσιακή απόκριση κατά την οξεία φάση θα ληφθούν δυο δείγματα αίματος, πριν και μετά από θετική δοκιμασία πρόκλησης. Επιπλέον θα συλλέγεται δείγμα κοπράνων πριν την έναρξη της δοκιμασίας. Τέλος, σε κάθε ασθενή θα αξιολογούνται κλινικές παράμετροι ανάλογα με το είδος της αλλεργίας. Θα γίνει σύγκριση μεταξύ των ομάδων στα Treg κύτταρα, στα T-δραστικά, στις κυτταροκίνες, στους μεταβολίτες του περιφερικού αίματος και στο εντερικό μικροβίωμα. Το δεύτερο μέρος της μελέτης συνιστά προοπτική μη-τυχαιοποιημένη μελέτη. Τα βρέφη με αλλεργία θα παρακολουθηθούν για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 6 μηνών προκειμένου να εκτιμηθεί ποιά από αυτά ανέπτυξαν ανοχή και εάν παρατηρήθηκε διαφορά στα μελετώμενα ανοσιακά κύτταρα και μεσολαβητές.

DOCTORAL THESIS

Title: Study of the role of T-regulatory cells and gut microbiome in infants with IgE and non-IgE allergy in cow's milk.

Candidate student: Dafni Moriki

Tripartite Advisory Committee

1. (Supervisor) Priftis Konstantinos Associate Professor of Paediatric Pulmunology, 3rd Department of Paediatrics, National and Kapodistrian University of Athens
2. Xanthou-Tsigkoglou Georgina, Researcher C, Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens
3. Papaevangelou Vassiliki, Professor of Paediatric Infectious Diseases, 3rd Department of Paediatrics, National and Kapodistrian University of Athens

Protocol Summary

Introduction: Food allergy is defined as an adverse immune response to ingested food proteins. Although being present in all ages, it most often occurs in children aged up to three years, due to their immature immune system. The estimated prevalence of food allergy amongst children is around 6 to 8%, with the most common allergen being cow's milk (CM). Depending on the pathogenetic mechanism, food allergy can be divided into IgE-mediated, non-IgE-mediated and mixed type. The only known and proven immunological mechanism is that of the immediate type of hypersensitivity reaction, which is due to the production of specific IgE antibodies that bind to mast cell surface and cause the release of mediators of allergic inflammation. The mechanism by which oral tolerance is achieved has not been fully understood. However, the recognition of food antigens by gut dendritic cells and the strong induction of T-regulatory (Treg) and B-regulatory (Breg) cells is considered to be important. There is evidence that children with food allergy have a reduced number of Tregs and this appears to be involved in its pathogenesis. The best described Tregs are those who express on their surface the FOXP3 transcription factor. It was shown that children with IgE-mediated food allergy have significantly lower expression levels of this transcription factor compared to healthy children. In addition, these children appear to have an impaired function as well as a reduced percentage of activated Tregs following in vivo exposure to the allergen. Data on non-IgE-mediated food allergy is very limited. The role of gut microbiome in the development of oral tolerance is also considered to be important. Studies in experimental models suggest that the diversity of gut microbiome reduces the risk of food allergy. In addition, it has been found that some clostridia species, as well as various dietary substrates or their resulting metabolites, such as short chain fatty acids (SCFA),

activate Tregs and affect their function. In this way they contribute to the development of tolerance. However, studies in children are scarce and show conflicting results, not confirming the results of experimental research.

Aim: The aim of this study is to investigate the role of Tregs and gut microbiome in infants with IgE-mediated allergy, allergic proctocolitis and FPIES in CM.

Materials and Methods: The sample will consist of infants aged 1-6 months, exclusively fed with CM attending the Pediatric Allergy Unit of the 3rd Pediatric Department of the National and Kapodistrian University of Athens, "Attikon" University Hospital. In terms of design, this is a study that consists of two parts. The first part is a descriptive, non-randomized, case-control study with personalized simulation by age, gender and socio-economic status. It will include 4 groups: infants with IgE-mediated CM allergy (n=10), infants with allergic proctocolitis to CM (n=10), infants with FPIES to CM (n=10) and healthy infants (n=10). An oral food challenge (OFC) will be performed in each patient with food allergy, by proper protocol depending on the type of allergy. In order to detect the acute phase immune response, two peripheral blood samples will be taken, before and after a positive OFC. In addition, a stool sample will be collected before the onset of OFC. Finally, each patient will be evaluated for clinical parameters depending on the type of allergy. A comparison will be made between the groups on Tregs, T-effectors, cytokines, peripheral blood metabolites and gut microbiome. The second part is a perspective non-randomized study. In this phase allergy infants will be monitored for at least 6 months in order to assess which of them developed oral tolerance.

ΤΟ ΕΠΙΒΛΕΠΟΝ ΜΕΛΟΣ Δ.Ε.Π.

ΠΡΙΟΤΗΤΗΤΗΤΑ
ΑΝ. ΚΑΘ.
Γ. ΠΑΙΔ.
ΑΘΗΝΩΝ
ΑΜΚΑ: 030552002
ΑΤ: 41594

Ο/Η ΥΠΟΨΗΦΙΟΣ/Α



Adam Mouri