

MARTA SŁOWIANEK, JOANNA LESZCZYŃSKA

## ALERGENY PRZYPRAW

### Streszczenie

Niektóre składniki przypraw mogą prowadzić do reakcji alergicznych, samodzielnie bądź w reakcjach krzyżowych z alergenami innych roślin. Mogą być przyczyną alergii wziewnej, pokarmowej lub kontaktowej. W pracy scharakteryzowano i opisano alergeny przypraw odpowiedzialne za wywoływanie reakcji nadwrażliwości mediowanej przez IgE. Ponadto opisano alergeny wywołujące reaktywność krzyżową między przyprawami a białkami pochodzenia pyłkowego m.in. pyłkiem bylicy, brzozy oraz selera.

**Słowa kluczowe:** przyprawy, alergeny, alergia, reaktywność krzyżowa

### Wprowadzenie

Przyprawy są substancjami w większości pochodzenia roślinnego lub składnikami wytworzonymi przemysłowo, dodawanymi do potraw w celu polepszenia ich walorów smakowych i zapachowych. Można je sklasyfikować według wielu kryteriów, np. ze względu na pochodzenie (krajowe, importowane), zawartość substancji czynnych (olejkowe, goryczkowe, olejkowo-goryczkowe, barwiące) czy ze względu na części morfologiczne rośliny, z których uzyskiwany jest surowiec przyprawowy (nasiona, liście, korzenie, owoce, pączki kwiatowe) [34].

Przyprawy pochodzące z roślin mają właściwości alergenowe i mogą indukować objawy nadwrażliwości po ich spożyciu od łagodnych reakcji lokalnych do ostrych reakcji układowych, włącznie z szokiem anafilaktycznym [31]. Mogą przyczyniać się do rozwoju alergii pokarmowych, wziewnych i kontaktowych [34]. Reakcje nadwrażliwości mediowane przez IgE stwierdza się najczęściej na składniki przypraw należących do rodzin botanicznych: *Apiaceae*, *Solanaceae*, *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Papaveraceae*, *Brassicaceae* i w mniejszym stopniu do *Piperaceae*, *Myrtaceae*, *Myricaceae*, *Orchidaceae*, *Lauraceae*, *Zingiberaceae* i *Alliaceae* [31]. U dorosłych pacjentów alergia na przyprawy (pieprz, cynamon, szafran, koper włoski, anyż lub paprykę) doty-

czy niektórych grup zawodowych, np. piekarzy, rzeźników, florystów czy pracowników przetwórstwa przypraw [1, 2, 3, 8, 10, 11, 13, 25, 30, 33]. W tych przypadkach wpływ na uczulenie ma głównie inhalacja lub kontakt ze skórą. Bardzo małe dawki przyprawy wystarczą do wywołania objawów takich, jak: reakcje skórne po bezpośrednim kontakcie, objawy związane z układem pokarmowym po ich spożyciu czy astma po wdychaniu pyłu przypraw [31]. Należy podkreślić, że objawy kliniczne niekoniecznie muszą być związane z układem, w którym następuje wniknięcie alergenu np. spożycie przyprawy może spowodować atak astmy. Potencjalne działanie alergizujące przypraw jest niebezpieczne o tyle, że są one dodawane do wielu potraw i produktów, o czym konsumenci nie zawsze wiedzą. Szacuje się, że alergia na przyprawy stanowi 2 - 4 % wszystkich alergii pokarmowych [34]. Stwierdzono, że kobiety wykazują większe ryzyko rozwoju alergii pokarmowej, włączając przyprawy, ale przyczyny zwiększonej zapadalności pozostają niewyjaśnione. Odnotowano także, że z powodu niepożądanych reakcji na przyprawy cierpią w szczególności osoby dorosłe i młodzież ze stwierdzoną alergią na pyłki bylicy pospolitej i brzozy, oczywiście z powodu obecności reagujących krzyżowo alergenów w poszczególnych roślinach [31].

Oprócz alergenów przyprawy zawierają także liczne farmakologicznie aktywne i/lub toksyczne składniki odpowiedzialne za podrażnienie i zapalenie, prowadząc do reakcji niezależnej od IgE lub nietolerancji pokarmowej, która może być mylna z alergią pokarmową, przez co zróżnicowanie reakcji alergicznej i nietolerancji jest trudne [31]. W przypadku przypraw alergeny nie zostały jeszcze dokładnie poznane. Z przeglądu literatury wynika, że czynnikiem najczęściej alergizującym są białka o dużej masie cząsteczkowej oraz białka uważane za identyczne lub podobne do profilin, odpowiedzialne za występowanie alergii krzyżowych [34]. Konieczne są więc badania dotyczące wykrycia i scharakteryzowania białek przypraw homologicznych do białek pochodzenia roślinnego, które z powodu reaktywności krzyżowej indukują reakcje alergiczne u predysponowanych atopowych osób [31].

### **Alergia na przyprawy i alergeny reagujące krzyżowo**

Kluczowe znaczenie dla rozwoju alergii na przyprawy ma zjawisko występowania alergii krzyżowej, wynikające z identyczności antygenowej lub podobieństwa alergenów różnego pochodzenia biologicznego [34]. Odnotowano, że u osób uczulonych na pyłki brzozy i bylicy pospolitej lub na seler bardzo często pojawiają się reakcje alergiczne po spożyciu przypraw z rodziny selerowatych – *Apiaceae* (dawniej baldaszkowate – *Umbelliferae*): anyżu, kolendry, kuminu i kopru włoskiego. Ten przypadek kliniczny został nazwany przez Wuthricha i wsp. [9] terminem syndromu alergicznego bylica-seler-przyprawy (mugwort-celery-spice syndrome) [15], który potem został poszerzony do syndromu alergicznego seler-brzoza-bylica-przyprawy i syndromu seler-marchew-bylica-przyprawy. Dlatego alergia na przyprawy jest często wyjaśniana

jako drugorzędowy efekt po początkowym uczuleniu alergenem wziewnym [31]. *Apiaceae* jest rodziną roślin zielnych liczącą więcej niż 3000 gatunków występujących w miejscach o klimacie umiarkowanym, wykorzystywanych jako żywność (marchew, pasternak i seler) i jako przyprawy (pietruszką, kumin, koperek, koper włoski, majeranek, kminek, anyż i kolendra). Ta rodzina roślin jest związana z alergicznymi reakcjami nie tylko wywołującymi problemy oddechowe i alergie pokarmowe, ale także alergie kontaktowe [13].

Związek między nadwrażliwością na przyprawy a alergią na pyłki brzozy i bylicy stał się przedmiotem wielu prac badawczych, podejmowano również próby zdefiniowania alergenów reagujących krzyżowo. Surowice osób z syndromem alergii bylica-brzoza-seler-przyprawy były często wykorzystywane przez zespoły badawcze analizujące alergeny przypraw. Posłużyły one do scharakteryzowania alergenów w przyprawach pochodzących z następujących rodzin botanicznych: *Apiaceae* (anyż, kolendra, koper włoski, kumin), *Piperaceae* (pieprz) i *Solanaceae* (papryka). W badaniach tych identyfikowano alergeny posługując się technikami SDS-PAGE i IgE-immunoblottingu, jak również testami inhibicji ELISA [9]. Dostępność cDNA kodującego Bet v 1 i Bet v 2 (alergenne białka pyłku brzozy) umożliwiła stworzenie rekombinowanych alergenów, dzięki którym możliwe było wykrycie (poprzez test inhibicji) homologicznych białek – w owocach, warzywach i przyprawach – prowadzących do syndromu alergii pyłkowo-pokarmowej [36]. IgE-immunoblotting i test inhibicji wiązania IgE wykazały szeroką reaktywność krzyżową między przyprawami i białkami pochodzenia pyłkowego. Za pomocą przeciwciał monoklonalnych przeciwko reagującemu krzyżowo alergenom pyłków (profiliny, Bet v 1) wykryto homologiczne białka w prawie każdym rodzaju analizowanej przyprawy. Pozwoliło to na sformułowanie wniosku, że alergia na przyprawy rzadko jest autonomicznym, niezależnym uczuleniem, ale raczej konsekwencją alergii na pyłki, wynikającą z reaktywności krzyżowej [9].

Badania przeprowadzone w Austrii dowodzą, że w anyżu, kuminie, kolendrze i koprze włoskim występują alergeny identyczne z profiliną, które mogą powodować reakcję alergiczną typu natychmiastowego z udziałem przeciwciał klasy IgE. Badaniom poddano surowice 15 pacjentów, którzy wykazywali niepożądaną reakcję na przyprawy lub przyprawioną żywność. Oceniano zdolność wiązania IgE do ekstraktów ww. przypraw, stosując technikę immunoblottingu i testu inhibicji. Wykorzystanie monoklonalnych przeciwciał anti-Bet v 1 i poliklonalnych króliczych przeciwciał anti-profilinowych ujawniło obecność reagujących krzyżowo alergenów w badanych ekstraktach przypraw. W teście inhibicji wykazano, że wiązanie IgE do alergenów przypraw z rodziny *Apiaceae* może być blokowane przez preinkubację surowic z profilinami brzozy: rBet v 1 lub rBet v 2. Oprócz homologów profilin: Bet v 1 i Bet v 2 o masie  $12 \cdot 10^3$  -  $17 \cdot 10^3$  Da wykryto reagujące krzyżowo molekuly o masie molekular-

nej rzędu  $60 \cdot 10^3$  Da [15]. Wykryte w anyżu homologi Bet v 1 i profiliny nazwano Pim a 1 i Pim a 2, w kuminie – Cum c 1, Cum c 2, w koprze włoskim – Foe v 1 i Foe v 2 oraz w kolendrze – Cor s 1 i Cor s 2 [31]. Wiązanie IgE do alergenów przypraw zdarzało się tylko z surowicami 10 na 15 (66 %) pacjentów z alergią na pyłki (brzozy, bylicy) i/lub seler. U 5 na 15 pacjentów ze stwierdzoną alergią na przyprawy i brakiem alergii na pyłki (brzozy, bylicy) i seler nie wykazano wiązania IgE do żadnego białka przypraw. Możliwe więc, że te ostatnie kliniczne reakcje mogą być powodowane przez inne typy nadwrażliwości (typ II, III, IV). Ze względu na to, że przyprawy zawierają wysoko reaktywne substancje objawy mogą równie dobrze być klasyfikowane jako nietolerancja pokarmowa. Badania dowiodły, że Bet v 1 i profilino-podobne alergeny mogą wraz z alergicznymi molekułami o wyższej masie cząsteczkowej być odpowiedzialne za typ I alergii na przyprawy z rodziny *Apiaceae*: anyż, koperek, kolendrę czy kumin [15]. W przypadku kolendry (*Coriandrum sativum* L) opisywane są przypadki wstrząsu anafilaktycznego po jej spożyciu [7]. Według danych literaturowych na temat nasion kopru włoskiego, zwanego fenkułem, ryzyko wystąpienia alergii jest wysokie, wykryto w nich alergeny o masie  $67 \cdot 10^3$  -  $75 \cdot 10^3$  Da, których jednak nie scharakteryzowano. W nasionach kopru nie potwierdzono obecności homologów Bet v 1 i alergenów podobnych do profilin oraz alergenów o masie  $60 \cdot 10^3$  Da występujących w świeżym koprze włoskim [34].

Bardzo popularną przyprawą z rodziny *Apiaceae* jest pietruszka (*Petroselinum crispum*) w postaci świeżych lub wysuszonych liści zwanych natką. W niej również wykryto homologi Bet v 1 i profilin, które nazwano odpowiednio Pet c 1 ( $17,5 \cdot 10^3$  Da) i Pet c 2 ( $14 \cdot 10^3$  Da) [31].

Badania alergenów pieprzu i papryki wykazały, że reaktywność krzyżowa IgE u osób z syndromem alergii bylica-brzoza-seler-przyprawy do przypraw – pieprzu i papryki nie jest powodowana przez homologi Bet v 1 i profilin. W pracy tej wykorzystano 22 surowice od pacjentów z syndromem alergii bylica-brzoza-seler-przyprawy i scharakteryzowano wiązanie ich IgE do przypraw: pieprzu (zielonego i czarnego) i papryki (przyprawę stanowią wysuszone i zmielone owoce pieprzowca rocznego – *Capsicum annuum*) [9, 23, 34]. W przypadku ekstraktu pieprzu 16 na 22 (73 %) surowic pacjentów wykazało wiązanie do niego IgE, przy czym 15 na 16 (93 %) testowanych surowic wykazało najsilniejsze wiązanie IgE do molekuł o masie  $28 \cdot 10^3$  i  $60 \cdot 10^3$  Da (najwyraźniejsze ścieżki w immunoblottingu). Z kolei 21 na 22 (95 %) surowic pacjentów z syndromem alergicznym rozpoznawało alergeny papryki w zakresie masy  $23 \cdot 10^3$  -  $50 \cdot 10^3$  Da [9, 23]. Zatem immunoblotting pozwolił wyodrębnić główne alergeny pieprzu o masie cząsteczkowej  $28 \cdot 10^3$  i  $60 \cdot 10^3$  Da oraz papryki o masie  $23 \cdot 10^3$  Da i wyższej masie cząsteczkowej (do  $50 \cdot 10^3$  Da) [23]. W teście inhibicji ekstrakt bylicy, pyłku brzozy i selera znacząco redukowało wiązanie IgE do alergenów pieprzu i papryki. Jednakże nie osiągnięto inhibicji wiązania IgE po preinkubacji

surowic z rBet v 1 i rBet v 2, co dowiodło, iż żaden homolog tych brzożowych białek alergicznych nie jest alergenem w ekstraktach pieprzu i papryki. Analiza N-terminalnej sekwencji alergenów pieprzu o masie cząsteczkowej  $14 \cdot 10^3$  i  $28 \cdot 10^3$  Da i alergenu papryki o masie  $23 \cdot 10^3$  Da ujawniła brak homologii do poznanych alergenów. Alergen pieprzu o masie cząsteczkowej  $28 \cdot 10^3$  Da został zidentyfikowany jako homolog białka kiełkowania pszenicy (wheat germin – białko GLP) [31], a alergen papryki o masie  $23 \cdot 10^3$  Da nazwany Cap a 1 w – jako białko podobne do osmotyny, związane z patogenezą w pomidorze P23 [23, 31].

Warto wspomnieć, że w papryce poza „Cap a 1 w” wykryto i scharakteryzowano inne alergeny m.in. Cap a 1 – białko podobne do taumatyny. Przypuszcza się, że działanie alergizujące wykazuje także enzym uczestniczący w procesach dojrzewania papryki –  $\beta$ -1,4-glukozydaza. Potwierdzenie tego wymaga jednak dalszych badań. Stwierdzono też obecność profilin, a w niektórych odmianach papryki białka Bet v 1 [34]. Białka homologiczne do profilin zostały oznaczone jako Cap a 2, a ich obecność stwierdzono w papryce o wydłużonych strąkach (bell peppers) [38]. Zależnie od odmiany papryki, mogą również ulegać/nie ulegać w niej ekspresji homologi Bet v 1 i białka związanego z patogenezą (P23) [16]. Dodatkowo odnotowano przypadek reaktywności krzyżowej między papryką i alergenami lateksu [12]. W przypadku papryki ostrej ryzyko wystąpienia alergii szacowane jako wysokie, może wywołać wstrząs anafilaktyczny [37], zaś papryki słodkiej jako średnie. Alergia na słodką paprykę spotykana jest u pacjentów uczulonych na lateks, ten rodzaj alergii krzyżowej nosi nazwę syndromu lateksowo-owocowego i występuje często u dzieci [34].

Główne alergeny przypraw odpowiedzialne za reakcje krzyżowe są homologami alergenu pyłku brzozy Bet v 1 [15], panalergenu profiliny [10, 35, 38], białek zapasowych, przechwalniczych nasion, takich jak białka kiełkowania (germins) i im podobne (GLP) [6, 17] lub albuminy 2S [31]. U osób uczulonych na pyłki brzozy (zawierające mn. białko Bet v 1) i bylicy pospolitej lub seler często pojawiają się reakcje alergiczne po spożyciu anyżu, kminku, kolendry lub kopru włoskiego. Z kolei przyprawy takie, jak: papryka, pieprz, gałka muskatołowa, cynamon, imbir mogą wywołać objawy alergii pokarmowej u osób uczulonych na pyłki roślin zielnych, zaś curry – u osób uczulonych na pyłki brzozy, olchy i leszczyny [34].

Ziarna sezamu są znane jako silne alergeny, powodujące ostre reakcje u uczulonych osób z dużym ryzykiem szoku anafilaktycznego [4]. Są wymienione na podstawowej liście europejskiej klasyfikującej 12 alergenów pokarmowych (dyrektywa 2003/89/EC), w doustnym podaniu dawka 30 mg ziarna sezamu lub 1 - 5 ml oleju sezamowego może wzbudzić reakcję alergiczną u osób uczulonych. Zidentyfikowano do tej pory kilka alergennych protein w sezamie, są to: uboga w siarkę 2S albumina (Ses i 1;  $10 \cdot 10^3$  Da), bogata w siarkę 2S albumina (Ses i 2;  $7 \cdot 10^3$  Da) i 7S globulina

wicylinopodobna (Ses i 3;  $45 \cdot 10^3$  Da) [6, 29, 32], białka oleozyny: Ses i 5 o masie  $15 \cdot 10^3$  Da i Ses i 4 o masie  $17 \cdot 10^3$  Da [29, 31].

W przypadku czosnku stwierdzono, że ryzyko wystąpienia alergii jest wysokie [34]. Na uwagę zasługuje fakt, że udało się wykryć główny alergen czosnku (*Allium sativum*), jednej z najbardziej ulubionych i często stosowanych przypraw wykorzystywanych kulinarnie na świecie [20]. Badania prowadzono na grupie pacjentów z Tajwanu ze stwierdzoną alergią na czosnek. Ekstrakt białek czosnku został rozdzielony metodą SDS-PAGE i dwuwymiarowej elektroforezy, następnie wykonano immunoblotting z użyciem surowic alergicznych pacjentów. Na 15 testowanych próbek surowic wszystkie wykazały wiązanie IgE do białek ekstraktu czosnku. Masa cząsteczkowa białek wiążących IgE wahała się w zakresie od  $31 \cdot 10^3$  do  $60 \cdot 10^3$  Da. Najsilniej wiążącym IgE alergenem czosnku było białko o masie cząsteczkowej około  $56 \cdot 10^3$  Da, wiązane przez wszystkie 15 surowic. Inne białka wiążące IgE o różnych masach cząsteczkowych zostały wykryte z częstością mniejszą niż 30 %. Główne białka swoiste dla IgE analizowano metodą sekwencjonowania aminokwasów i spektrometrii masowej. Domniemane alergeny zostały później oczyszczone metodą chromatografii. Alergenność i reaktywność krzyżowa oczyszczonych białek była analizowana metodą immunoblottingu, oksydacji nadjodanem (periodate), testami skórnymi i testami inhibicji wiązania IgE. Głównym alergenem czosnku okazał się enzym – allinaza zidentyfikowana za pomocą spektrometrii masowej i degradacji Edmana, zsekwencjonowana i oczyszczona przez użycie dwuetapowej metody chromatograficznej. Testy skórne wykazały, że oczyszczone białko wywołuje mediowaną przez IgE nadwrażliwość u pacjentów z alergią na czosnek. Czosnkowa allinaza wykazała silną reaktywność krzyżową z allinazami z innych gatunków należących do rodzaju *Pallium*, takich jak: por, szalotka i cebula. W związku z tym osoby uczulone na czosnek mogą wykazywać objawy alergii także po spożyciu tych roślin cebulowych. Szerokie występowanie allinazy w obrębie rodzaju *Allium* sugeruje, że może być ona nowym reagującym krzyżowo alergenem [20].

W jednej z prac opisano przypadek pacjentki, 42-letniej kobiety, która doznała szoku anafilaktycznego po spożyciu żywności (kurczęcia z warzywami) doprawionej nieznanymi przyprawami. Kobieta tolerowała wcześniej tego typu posiłki i nie cierpiała na alergię. W związku z tym pod uwagę wzięto przyprawy użyte do tego dania. Badania *in vitro* i *in vivo* dowiodły, że pacjentka jest uczulona na alergen obecny w nasionach przypraw z rodziny *Apiaceae*. Sporządzono ekstrakty z nasion różnych przypraw (kolendry, kurkumy, kozieradki i 2 różnych gatunków curry) w buforze PBS o stężeniu 10 % (m/v) do testu skórnego, w którym uzyskano pozytywny wynik w przypadku obydwu gatunków curry i kolendry. Testy skórne z udziałem owoców, warzyw, jaj, mleka, orzechów, ryb i lateksu były negatywne. Pozytywny był poziom IgE specyficznych dla białek curry (82,4 kU/l), sezamu (4,7 kU/l), ziaren *Apiaceae*:

kolendry (47,8 kU/l), anyżu (42,1 kU/l) i kuminu (17,5 kU/l). Negatywny wynik uzyskano w przypadku należących do tej samej rodziny: kopru włoskiego, koperku, pietruszki, marchwi, gorczycy i innych przypraw (oregano, cardamonu, goździków, estragonu), pyłków brzozy, bylicy, trawy. SDS-PAGE ekstraktów z kolendry wykazał obecność kilku białek o wysokiej masie cząsteczkowej. Najsilniejszą reakcję stwierdzono w przypadku białka o masie cząsteczkowej  $11 \cdot 10^3$  Da. Alergeny o podobnej masie zidentyfikowano w innych ziarnach roślin z rodziny *Apiaceae* (anyżu, kminku, kuminu, pietruszce oraz ich brak w sezamie i gorczycy). Oczyszczone białko  $11 \cdot 10^3$  Da wywoływało silną inhibicję wiązania IgE do wykrytych alergenów przypraw. Z udziałem surowicy uczulonej pacjentki wykryto obecność alergenów w 2 komercyjnych gatunkach curry i mieszance przyprawowej. Analiza takich właściwości, jak: masa cząsteczkowa, odporność na działanie czynnika redukującego (2-merkaptotanol (2-ME) dzieli albuminę 2S na 2 mniejsze podjednostki) i nie wykazująca homologii N-terminalna sekwencja aminokwasowa wykazała, że ten alergen nie należy do rodziny albuminy 2S. Albuminy 2S są powszechnymi alergennymi białkami, zidentyfikowanymi jako główne alergeny pokarmowe w wielu jadalnych ziarnach, takich jak: gorczyca (Sin a 1), sezam (Ses i 1) i orzechy (włoskie, brazylijskie, ziemne) [24]. Białka ziaren albuminy 2S są odporne na trawienie żołądkowo-jelitowe [31]. Przyprawy z rodziny *Apiaceae* zawierają alergen, obecny w powszechnie dostępnych mieszankach przyprawowych i curry, różny od dobrze poznanej albuminy 2S, która ulega szerokiej ekspresji w wielu różnych gatunkach należących do tej samej rodziny [24]. Wysoką korelację między IgE wiążącymi się do albuminy 2S a anafilaksją indukowaną przez żywność wykazano w przypadku ziaren sezamu [6].

Silnymi właściwościami alergennymi charakteryzuje się również anyż (*Pimpinella anisum L*), należący do rodziny *Apiaceae*, aromatycznej rośliny pochodzącej z regionu wschodniośroziemnomorskiego, stosowanej jako aromat i przyprawa do ciast, konserw, sosów, ryb i mięsa oraz w produkcji likierów [14]. Odnotowano przypadek natychmiastowej nadwrażliwości na likier anyżowy, a właściwie – jak później dowiedziano – na anyż wchodzący w jego skład. Był to przypadek mężczyzny, który cierpiał na powtarzające się epizody pokrzywki języka po spożyciu likieru anyżowego. Oznaczono poziom specyficznych IgE w surowicy pacjenta za pomocą testu radioalergosorpcyjnego (RAST) i uzyskano następujące wyniki: 0,4 kU/l w stosunku do ekstraktu z anyżu, 0,6 kU/l w stosunku do ziaren wyki i kuminu, zaś  $< 0,35$  kU/l w stosunku do nasion kopru włoskiego, kolendry i ekstraktów z likieru anyżowego. Została przeanalizowana również masa cząsteczkowa białek wiążących IgE za pomocą SDS-PAGE immunoblottingu: wyraźne i szerokie pasma wiążące IgE dotyczyły molekuł o masie  $12,9 \cdot 10^3$  –  $13,7 \cdot 10^3$  Da w ekstraktach anyżu i wyki, natomiast w ekstraktach kuminu IgE wiązały molekuly o masie  $15 \cdot 10^3$  –  $17,5 \cdot 10^3$  Da. Nie zaobserwowano reakcji immunologicznej w ekstraktach z 2 różnych gatunków likieru anyżowego. Od czasu, gdy

pacjent unikał spożycia anyżu, nie wykazywał objawów nadwrażliwości. Test skórny na ekstrakt anyżowy wykazał wynik negatywny po 20 miesiącach od zaprzestania spożywania likieru anyżowego [14].

Potwierdzeniem alergizującego działania anyżu może być inna praca badawcza, w której wzięto pod uwagę przypadek kobiety cierpiącej na zawodową alergię na anyż, objawiającą się dolegliwościami żołądkowo-jelitowymi i zapaleniem spojówek oraz nosa. Przeanalizowano masę cząsteczkową alergenów metodą SDS-PAGE i immunoblottingu, a także reaktywność krzyżową wśród gatunków należących do rodziny *Apiaceae* za pomocą testu inhibicji immunoenzymatycznej. Testy skórne wykazały pozytywną natychmiastową odpowiedź na ekstrakty anyżu, kminku, kolendry, kuminu, koperku i kopru włoskiego oraz intensywną późną odpowiedź na anyż. Negatywny wynik uzyskano w testach skórnych z udziałem ekstraktów selera, marchwi, pyłku brzozy i bylicy. Pozytywne okazały się także wyniki testu prowokacji drogą nosową i drogą doustną na anyż. Oszacowano zawartość białka i węglowodanów w ekstraktach z przypraw (anyż, kminek, kolendra, kumin i koperek), uzyskując następujące wartości: zawartość białka  $23,7 \pm 9,7$  %, zawartość heksozy  $20,1 \pm 7,8$  % i zawartość pentozy  $10,6 \pm 6,2$  %. Analizowane ekstrakty metodą SDS-PAGE zawierały białko w zakresie mas od  $14 \cdot 10^3$  do  $70 \cdot 10^3$  Da. Masy cząsteczkowe najbardziej dominujących białek wynosiły w przybliżeniu: (44 do 50; 30 do 33; 18 do 20)  $\cdot 10^3$  Da. SDS-PAGE immunoblotting ekstraktów ujawnił pasma wiązania IgE molekuł o następujących masach: (48, 42, 39, 37, 34, 33 i 20)  $\cdot 10^3$  Da w ekstraktach z anyżu, (54, 42, 38, 31 i 20)  $\cdot 10^3$  Da w ekstrakcie z kminku, (66,5; 51,6; 43; 38; 32; 28; 25,8 i 19)  $\cdot 10^3$  Da w ekstrakcie z kuminu, (57, 42, 38, 33 i 20)  $\cdot 10^3$  Da w ekstrakcie z kopru włoskiego, (57; 50; 39,5; 34 i 20)  $\cdot 10^3$  Da w ekstrakcie z kolendry [13].

Na uwagę zasługuje przypadek pacjenta, który wykazywał objawy kataru i astmy w wyniku kontaktu z przyprawami wykorzystywanymi w jego pracy. Pacjent wykazywał pozytywny natychmiastowy test skórny na paprykę (*Solanaceae*), kolendrę (*Apiaceae*) i gałkę muszkatołową (*Myristica fragrans*, rodzina *Myristicaceae*). Potwierdzeniem uczulenia było wykrycie w jego surowicy przeciwciał IgE specyficznych dla papryki, kolendry i gałki muszkatołowej za pomocą testu ELISA. Przez test inhibicji ELISA stwierdzono częściową reaktywność krzyżową wśród molekuł wiążących IgE między papryką a gałką muszkatołową. Dzięki immunoblottingowi uwidoczniło 2 zdolne do wiązania IgE pasma: odpowiadające molekułom o masie  $20 \cdot 10^3$  i  $40 \cdot 10^3$  Da w ekstrakcie z gałki muszkatołowej oraz  $50 \cdot 10^3$  i  $56 \cdot 10^3$  Da w ekstrakcie z kolendry. Żadnego białka reagującego krzyżowo nie wykryto w ekstrakcie z papryki. Specyficzny oskrzelowy test prowokacji wziewnej wykazał natychmiastową reakcję astmatyczną na ekstrakty z papryki, kolendry i gałki muszkatołowej z maximum opadania w FEV<sub>1</sub> odpowiednio 26 %, 40 % i 30 %, bez późnych reakcji astmatycznych. Inhalacja pyłów papryki, kolendry i gałki muszkatołowej może skutkować reakcją mediowaną przez



IgE na te przyprawy. U wymienionego pacjenta zawodowa astma była spowodowana przez przyprawy z botanicznie niespokrewnionych gatunków [30].

Podjęto również próbę scharakteryzowania alergenów szafranu, rośliny uprawianej powszechnie w Hiszpanii w celach komercyjnych [10]. Szafran jest najdroższą przyprawą świata otrzymywaną z wysuszonych pręcików i znamion słupka kwiatowego szafranu uprawnego. Jako przyprawa występuje w postaci nitek i proszku. W pyłku i pręcikach wykryto obecność alergenów podobnych do profilin. W literaturze są opisywane przypadki wstrząsu anafilaktycznego po jego spożyciu [39]. Feo i wsp. [10] przeprowadzili badania dwóch grup pacjentów: osób pracujących z szafranem i nie narażonych na kontakt z nim. Surowice obydwu grup pacjentów z pozytywnymi testami skórnymi na ekstrakty z pyłku szafranu i pręcików zostały analizowane *in vitro* za pomocą testu radioalergosorpcyjnego (RAST) i immunoblottingu, z wykorzystaniem obydwu ekstraktów. Alergeny szafranu (obecne w pyłku i pręcikach) zostały scharakteryzowane metodą SDS-PAGE immunoblottingu. W obydwu badanych ekstraktach wykazano, na podstawie reakcji z udziałem wszystkich surowic alergicznych pacjentów, obecność alergenu o masie  $15,5 \cdot 10^3$  Da o naturze profiliny, który został później oczyszczony na drodze chromatografii. Żadne alergiczne molekuly nie zostały znalezione w słupkach. Reaktywność krzyżowa ekstraktów szafranu została oceniona przez test inhibicji RAST w odniesieniu do innych pyłków powszechnie powodujących uczulenie w tym samym obszarze badań. Najwyższy poziom inhibicji uzyskany przy stężeniu 10 mg/ml był odpowiednio 90, 47, 40 i 20 % z szafranem (*Crocus salivus*), oliwką (*Olea*), solanką (*Salsola*) i zycią (*Lolium*). Zatem znaczny stopień reaktywności krzyżowej został wykazany między szafranem, oliwką, solanką, zycią.

Sproszkowane nasiona kozieradki, służące jako przyprawa i będące składnikiem mieszanek przyprawowych (m.in. curry) także zawierają kilka potencjalnych alergenów. Średnio alergizujące białka kozieradki zostały zidentyfikowane przez grupę norweskich badaczy metodą immunoblottingu, z wykorzystaniem surowic 29 pacjentów z IgE specyficznymi dla orzechów ziemnych i innych roślin strączkowych. Dowiedziono w ten sposób, że uczulenie na kozieradkę może być konsekwencją reaktywności krzyżowej u pacjentów z alergią na orzechy ziemne. Wysoki poziom IgE specyficznych dla kozieradki i orzecha ziemnego został stwierdzony w większości surowic. Zidentyfikowano główne alergeny kozieradki najsilniej wiążące IgE o masie  $50 \cdot 10^3$ ,  $52 \cdot 10^3$  i  $74 \cdot 10^3$  Da oraz orzecha ziemnego o masie  $22 \cdot 10^3$ ,  $36 \cdot 10^3$  i  $40 \cdot 10^3$  Da. Badania te dowiodły wysokiego poziomu reaktywności krzyżowej kozieradki w stosunku do orzecha ziemnego [22]. Z kolei reakcje krzyżowe między roślinami należącymi do rodziny, do której należy kozieradka (motylkowate) są rzadkie, jednak u osób nadwrażliwych mogą wystąpić objawy po spożyciu groszku lub soi [34].

Zidentyfikowano również główne alergeny nasion gorczycy należącej do rodziny *Brassicaceae*, które są białkami przechowalniczymi nasion. Z gorczycy białej wyizo-

lowano alergen Sin a 1 o masie  $14 \cdot 10^3$  Da, odporny na działanie wysokiej temperatury i enzymów proteolitycznych, z kolei z gorczycy sarepskiej – podobny do obecnego w gorczycy białej alergen o masie  $14 \cdot 10^3$  Da, któremu nadano nazwę Bra j 1. Ryzyko alergii po spożyciu gorczycy jest określane jako średnie. Mimo to odnotowano przypadki wystąpienia reakcji anafilaktycznej po spożyciu musztardy [18, 26]. Badania francuskich naukowców wykazały, że alergia na gorzycę dotyka zarówno dorosłych, jak i dzieci, może się ona ujawnić bardzo wcześnie (przed 3 rokiem życia) i dotyczy ok. 1,1 % dzieci ze stwierdzoną alergią pokarmową [34]. Znane są reakcje krzyżowe między alergenem rzepakowym Bn III i alergenem gorczycy Sin a 1 [27], jak również pomiędzy gorzycą a nasionami słonecznika i rącznika pospolitego [34].

W przypadku oregano, nazywanego w Polsce dzikim majerankiem lub macierzanką wysoką, stwierdzono silną zdolność tej przyprawy do alergizacji. Do tej pory alergeny, podstawowej przyprawy używanej do spaghetti i pizzy, będącej składnikiem ziół prowansalskich, nie zostały scharakteryzowane. Alergia pokarmowa na oregano występuje rzadko, aczkolwiek w literaturze opisano przypadki wystąpienia objawów alergicznych np. po spożyciu pizzy, w tym wstrząsu anafilaktycznego [5, 34].

Średnio alergizujące działanie przypisuje się bazylii – przyprawie, którą stanowią suszone liście bazylii pospolitej. Alergia pokarmowa na tę przyprawę, wchodzącą w skład ziół prowansalskich, występuje rzadko, a jej alergeny nie zostały jeszcze dokładnie scharakteryzowane. Wiadomo tylko, że pomiędzy bazylią a innymi roślinami z rodziny wargowych (*Lamiaceae*) takimi, jak: mięta, oregano, lawenda, majeranek, tymianek, szalwia może występować zjawisko alergii krzyżowej [34].

Podobnie, jak w przypadku bazylii, średnie ryzyko wystąpienia alergii dotyczy cynamonu – przyprawy dostępnej w formie proszku oraz lasek cynamonowych, czyli wysuszonej kory cynamonowca. Przyprawa ta jest przyczyną głównie alergii kontaktowej [1, 21], niekiedy pokarmowej. Zaobserwowano, że wywołuje potnicę i obrzęk dziąseł po doustnym podaniu. Głównym zidentyfikowanym jej alergenem jest aldehyd cynamonowy będący składnikiem olejku cynamonowego, którego zawartość w roślinie waha się od 0,8 do 1,5 % [34].

Przyprawa uzyskiwana z owoców kminku zwyczajnego w całości lub w postaci zmielonej wykazuje średnie działanie alergizujące, najbardziej narażone na jej działanie są osoby uczulone na pyłek brzozy i/lub bylicy oraz seler [34]. W literaturze opisano przypadki wstrząsu anafilaktycznego po spożyciu tej przyprawy [19].

Dotąd nie scharakteryzowano alergenów występujących w goździkach – przyprawie tworzonej przez wysuszone pąki kwiatu goździkowca korzennego, wchodzącej w skład curry. Jedynie oszacowano ryzyko wystąpienia alergii na tę przyprawę jako niewielkie. Podobnie, jak w przypadku jednej z najstarszych przypraw pochodzącej z Azji będącej m.in. składnikiem curry – imbiru. Stwierdzono tylko, że najczęściej imbir jest przyczyną alergii kontaktowej i wziewnej, rzadko – pokarmowej. Nie udało

się również scharakteryzować alergenów wanilii. Na podstawie obserwacji klinicznych stwierdzono, że wywołuje ona odpowiedź komórkową typu późnego (IV), podczas gdy większość przypraw jest przyczyną natychmiastowej reakcji alergicznej organizmu [34].

Właściwości alergizujące mieszanek przyprawowych określane są jako wysokie i wynikają z alergizującego działania poszczególnych składników. Najpopularniejsze w Polsce to curry i zioła prowansalskie. W skład curry wchodzi: kurkuma, kozieradka, gałka muszkatołowa, kolendra, pieprz czarny, goździki, czosnek, cynamon, kardamon, chili, kmin rzymski, imbir, sól, glutaminian sodu [34]. W przypadku curry odnotowano po jej spożyciu wstrząs anafilaktyczny [28]. Natomiast składnikami ziół prowansalskich są: rozmaryn, bazylia, tymianek, szalwia, mięta pieprzowa, estragon, cząber ogrodowy, lebiodka, majeranek [34].

Białka gałki muszkatołowej są słabymi alergenami. Powodują one głównie alergię kontaktową, zaś w przypadku alergii pokarmowej objawy występują rzadko. Alergiczne reakcje krzyżowe zaobserwowano między gałką muszkatołową a kwiatem muszkatołowym [34].

Przyczyną alergii kontaktowej są również kardamon i rozmaryn, ale ryzyko alergii z ich udziałem jest niewielkie [34].

Niewielkie ryzyko alergii stwarzają także takie przyprawy, jak: liść laurowy, majeranek, tymianek, trybula, szalwia. W przypadku liścia laurowego przyprawę stanowią wysuszone liście wawrzynu szlachetnego, a właściwości alergizujące wykazuje prawdopodobnie pyłek wawrzynu. Alergenów majeranku nie scharakteryzowano. Wiadomo tylko, że u osób uczulonych na majeranek mogą wystąpić objawy alergiczne po spożyciu oregano. Mimo niskiego ryzyka wystąpienia alergii odnotowano przypadek wstrząsu anafilaktycznego [5] na tymianek. U osób uczulonych na tymianek i szalwię objawy alergii mogą wystąpić po spożyciu oregano, majeranku, bazylii, szalwii czy mięty należących do tej samej rodziny – wargowych [34].

## **Podsumowanie**

Przyprawy są szeroko stosowane w kuchni na całym świecie. Przegląd literatury wykazuje, że wiele z nich ma działanie alergizujące. Alergia na przyprawy jest zjawiskiem rzadkim (2 - 4 % osób z alergią pokarmową), co nie oznacza, że może być lekceważona. Argumentem za rozwojem badań w tym zakresie jest to, że odnotowano wiele przypadków wstrząsu anafilaktycznego po spożyciu niektórych przypraw. W wielu przypadkach alergia na przyprawy jest chorobą zawodową osób pracujących w fabrykach przypraw lub przy produkcji wyrobów spożywczych z ich udziałem. Część alergenów przypraw udało się scharakteryzować, jednak zdecydowana większość nie została jeszcze zidentyfikowana. W związku z tym ważne jest prowadzenie dalszych badań w celu poznania biologicznej i chemicznej natury alergenów przypraw, by

zmniejszyć ryzyko wystąpienia reakcji alergicznych po np. nieświadomym spożyciu alergenu lub zmniejszyć alergenicność przypraw.

### Literatura

- [1] Ackermann L., Aalto-Korte K., Jolanki R., Alanko K.: Occupational allergic contact dermatitis from cinnamon including one case from airborne exposure. *Contact Dermatitis*, 2009, **60**, 96-99.
- [2] Anliker M.D., Borelli S., Wüthrich B.: Occupational protein contact dermatitis from spices in a butcher: A new presentation of the mugwortspice syndrome. *Contact Dermatitis*, 2002, **46**, 72-74.
- [3] Arias Irigoyen J., Talavera Fabuel A., Maranon Lizana F.: Occupational rhinoconjunctivitis from white pepper. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 2003, **13**, 213-215.
- [4] Asero R., Mistrello G., Roncarolo D., Antonioti P.L., Falagiani P.: A case of sesame seed-induced anaphylaxis. *Allergy*, 1999, **54**, 526-527.
- [5] Benito M., Jorro G., Morales C., Pelaez A., Fernandez A.: *Labiatae* allergy: systemic reactions due to ingestion of oregano and thyme. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 1996, **76**, 416-8.
- [6] Beyer K., Bardina L., Grishina G., Sampson H.A.: Identification of sesame seed allergens by 2-dimensional proteomics and Edman sequencing: Seed storage proteins as common food allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002, **110**, 154-159.
- [7] Bock S.A.: Anaphylaxis to coriander: A sleuthing story. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1993, **91**, 1232-1233.
- [8] Cueva B., Izquierdo G., Crespo J.F., Rodriguez J.: Unexpected spice allergy in the meat industry. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001, **108**, 144.
- [9] Ebner C., Jensen-Jarolim E., Leitner A., Breiteneder H.: Characterization of allergens in plant-derived spices: *Apiaceae* spices, pepper (*Piperaceae*), and paprika (bell peppers, *Solanaceae*). *Allergy*, 1998, **53**, 52-54.
- [10] Feo F., Martinez J., Martinez A., Galindo P.A., Cruz A., Garcia R., Guena F., Palacios R.: Occupational allergy in saffron workers. *Allergy*, 1997, **52**, 633-641.
- [11] Foti C., Carino M., Cassano N., Panebianco R., Vena G.A., Ambrosi L.: Occupational contact urticaria from paprika. *Contact Dermatitis* 1997, **37**, 135.
- [12] Gallo R., Cozzani E., Guarrera M.: Sensitization to pepper (*Capsicum annuum*) in a latex-allergic patient. *Contact Dermatitis*, 1997, **37**, 36-37.
- [13] Garcia-González J.J., Bartolomé Zavala B., Fernandez-Melendez S. et al: Occupational rhinoconjunctivitis and food allergy because of aniseed sensitization. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2002, **88**, 518-522.
- [14] Gázquez García V., Gaig Jané P., Bartolomé Zavala B.: Aniseed-Induced Nocturnal Tongue Angioedema. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 2007, **17** (6), 406-408.
- [15] Jensen-Jarolim E., Leitner A., Hirschwehr R.: Characterization of allergens in *Apiaceae* spices: Anise, fennel, coriander and cumin. *Clin. Exp. Allergy*, 1997, **27**, 1299-1306.
- [16] Jensen-Jarolim E., Santner B., Leitner A.: Bell peppers (*Capsicum annuum*) express allergens profilin, pathogenesis-related protein P23 and Bet v 1) depending on the horticultural strain. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1998, **116**, 103-109.
- [17] Jensen-Jarolim E., Schmidt B., Bernier F.: Allergologic exploration of germins and germin-like proteins, a new class of plant allergens. *Allergy* 2002, **57**, 805-810.
- [18] Jorro G., Morales C., Braso J.V., Pelaez A.: Mustard allergy: Three cases of systemic reaction to ingestion of mustard sauce. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 1995, **5**, 54-56.
- [19] Joseph B.E.: Caraway seed allergy: a case report. *Ann. Allergy*, 1995, **74**, 55-6.

- [20] Kao S.H., Hsu Ch.H., Su S.N., Hor W.T., Chang T W.H., Chow L.P.: Identification and immunologic characterization of an allergen, alliin lyase, from garlic (*Allium sativum*). J. Allerg Clin. Immunol., 2004, **113**, 1.
- [21] Kind F., Scherer K., Bircher A.J.: Allergic contact stomatitis in chewing gum mistaken as facial angioedema. Allergy, 2010, **65**, 276-277.
- [22] Kruse Fæste Ch., Namork E., Lindvik H.: Allergenicity and antigenicity of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) proteins in foods. J. Allergy Clin. Immunol. 2009, **123**, 187-194.
- [23] Leitner A., Jensen-Jarolim E., Grimm R.: Allergens in pepper and paprika. Immunologic investigation of the celery-birch-mugwortspice syndrome. Allergy, 1998, **53**, 36-41.
- [24] Manzanedo L., Blanco J., Fuentes M., Caballero M.L., Moneo I.: Anaphylactic reaction in a patient sensitized to coriander seed. Allergy 2004, **59**, 362-363.
- [25] Meding B.: Skin symptoms among workers in a spice factory. Contact Dermatitis, 1993, **29**, 202-205.
- [26] Monreal P., Botey J., Pena M., Marin A., Eseverri J.L.: Mustard allergy. Two anaphylactic reactions to ingestion of mustard sauce. Ann. Allergy, 1992, **69**, 317-320.
- [27] Monsalve R.I., Gonzalez de la Pena M.A., Lopez- Otin C.: Detection, isolation and complete amino acid sequence of an aeroallergenic protein from rapeseed flour. Clin. Exp. Allergy, 1997, **27**, 833-841.
- [28] Ohnuma N., Yamaguchi E., Kawakami Y.: Anaphylaxis to curry powder. Allergy 1998, **53**, 452-454.
- [29] Pastorello E.A., Varin E., Farioli L. et al: The major allergen of sesame seeds (*Sesamum indicum*) is a 2S albumin. J. Chromat. B Biomed. Sci. Appl., 2001, **756**, 85-93.
- [30] Sastre J., Olmo M., Novalvos A., Ibanez D., Lahoz C.: Occupational asthma due to different spices. Allergy, 1996, **51**, 117-120.
- [31] Schöll I., Jensen-Jarolim E.: Allergenic potency of spices: hot, medium hot, or very hot. Int. Arch. Allergy Immunol., 2004, **135**, 247-261.
- [32] Schöringhumer K., Cichna-Markl M.: Development of a Real-Time PCR Method To Detect Potentially Allergenic Sesame (*Sesamum indicum*) in Food. J. Agric. Food Chem., 2007, **55**, 10540-10547.
- [33] Schwartz H.J., Jones R.T., Rojas A.R., Squillace D.L., Yunginger J.W.: Occupational allergic rhinoconjunctivitis and asthma due to fennel seed. Ann. Allergy Asthma Immunol., 1997, **78**, 37-40.
- [34] Taraszewska A., Jarosz M.: Zioła a alergja pokarmowa. Wyd. BORGIS, Warszawa 2006.
- [35] Valenta R., Duchene M., Ebner C.: Profilins constitute a novel family of functional plant pan-allergens. J. Exp. Med., 1992, **175**, 377-385.
- [36] Valenta R., Kraft D.: Type I allergic reactions to plant-derived food: A consequence of primary sensitization to pollen allergens. J. Allergy Clin. Immunol., 1996, **97**, 893-895.
- [37] Vega de la Osada F., Esteve Krauel P., Alonso Lebrero E. Ibanez Sandin M.D., Munoz Martinez M.C., Laso Borrego M.T.: Sensitization to paprika: Anaphylaxis after intake and rhinoconjunctivitis after contact through airways. Med. Clin. (Barc.), 1998, **111**, 263-266.
- [38] Willeröider M., Fuchs H., Ballmer-Weber B.K.: Cloning and molecular and immunological characterisation of two new food allergens, Cap a 2 and Lyc e 1, profilins from bell pepper (*Capsicum annuum*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*). Int. Arch. Allergy Immunol., 2003, **131**, 245-255.
- [39] Wüthrich B., Schmidt-Grendelmeyer P., Lundberg M.: Anaphylaxis to saffron. Allergy, 1997, **52**, 476-477.

## **SPICE AND HERB ALLERGENS**

### **S u m m a r y**

Some ingredients of spices & herbs can cause allergic reactions, either by themselves or while cross-reacting with allergens of other plants. They can trigger an inhalative, food, or contact allergy. In this paper, those allergens are characterized and described, which are responsible for eliciting an IgE-mediated hypersensitivity reaction. Moreover, there are also described the allergens that cause cross-reactivity between spices & herbs and pollen-derived proteins, among other things by pollens of mugwort, birch, and celery.

**Key words:** spices and herbs, allergens, allergy, cross-reactivity ✕