Research Paper

Investigating Ability of the Specific IgE Response Profile of Shellfish Allergy and Relationship with Houst Dust Mite, Cockroach Allergy

Nguyen Thi Huyen^{*}, Tran Thi Bich Ngoc, Phan Thi Minh Phuong, Guido Forni, Giovanni Rolla

Vietnam National Children's Hospital, 18/879 La Thanh, Dong Da, Hanoi, Vietnam

Received 11 August 2020

Revised 22 August 2020; Accepted 28 August 2020

Abstract

Background/Purposes: Nowadays shrimp plays an increasingly important role in allergy because it is widely consumed in the world due to its nutritional value. There are four allergens from shrimp that have been identified to be the common contributor to allergenicity including tropomyosin (TM), arginine kinase (AK), sarcoplasmic calcium-binding protein (SCP) and myosin light chain (MLC). In addition, cross-reactivity among and between shrimp and crustaceans, house dust mite, cockroach was reported, the most common cross-reactive allergen is tropomyosin. The purpose of this study is to investigate the response of specific IgE profile to shrimp protein and evaluate cross-reactivity between some shrimp protein and house dust mite, cockroach proteins.

Methods: White leg shrimps and black tiger shrimps were used to extract protein from them. Proteins were separated by the LDS-PAGE technique and then run Immunoblotting with serum of the patient who have history allergy as well as positive skin prick test to shrimp, crab, house dust mite and/or cockroach.

Results: Most of specific IgE responded to proteins at molecular weights of 21 kDa, 45 kDa and 116 kDa, mainly shrimp samples were treated by high temperature processing. In patients allergic to house dust mites and / or cockroaches and without or with low shrimp-specific IgE concentration occurred cross-reactivity with these proteins and the most clearly was protein of 36 kDa that corresponding to weight molecule of shrimp tropomyosin.

Conclusion: The specific IgE increasingly reacted with the proteins at the high heat-treated samples, and there were the cross-reactions between some shrimp proteins and the house dust mite, cockroach proteins.

Keywords: *Shrimp allergy, specific IgE, tropomyosin, arginine kinase, sarcoplasmic calcium-binding protein, cross-reactivity.*

^{*} Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: tranngoc142@gmail.com

<https://doi.org/10.47973/jprp.v4i6.274>

Khảo sát khả năng đáp ứng của IGE đặc hiệu với hải sản có vỏ và mối liên quan với dị ứng mạt bụi nhà, gián

Nguyễn Thị Huyền*, Trần Thị Bích Ngọc, Phan Thị Minh Phương, Guido Forni, Giovanni Rolla

Bệnh viện Nhi Trung ương, 18/879 La Thành, Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 11 tháng 7 năm 2020

Chỉnh sửa ngày 12 tháng 8 năm 2020; Chấp nhận đăng ngày 28 tháng 8 năm 2020

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Ngày nay tôm đóng vai trò quan trọng trong dị ứng hải sản bởi tôm được sử dụng rất rộng rãi do giá trị dinh dưỡng cao của nó. Bốn loại dị nguyên từ tôm đã được xác định thường hay gây ra dị ứng nhất là tropomyosin (TM), arginine kinase (AK), protein liên kết canxi chất cơ (SCP) và myosin chuỗi nhẹ (MLC). Bên cạnh đó, sự phản ứng chéo giữa tôm với protein của nhóm giáp xác, mạt bụi nhà và gián đã được ghi nhận, dị nguyên gây phản ứng chéo phổ biến nhất là tropomyosin. Mục đích của nghiên cứu này là khảo sát phản ứng các IGE đặc hiệu đối với các thành phần protein của tôm và đánh giá phản ứng chéo giữa một số protein của tôm với protein của mạt bụi nhà, gián.

Phương pháp: Tôm thẻ chân trắng và tôm sú được sử dụng để tách chiết protein. Những protein này được phân tách bằng kỹ thuật LDS-PAGE và sau đó thực hiện immunoblotting bằng cách sử dụng huyết thanh từ những bệnh nhân có tiền sử dị ứng, test lấy da dương tính với tôm, cua, mạt bụi nhà và/hoặc gián.

Kết quả: Hầu hết các IGE đặc hiệu đáp ứng với các protein có trọng lượng phân tử 21 kDa, 45 kDa và 116 kDa, chủ yếu là từ các mẫu tôm được xử lý với nhiệt độ cao. Ở những bệnh nhân dị ứng với mạt bụi nhà và/hoặc gián, không có hoặc có nồng độ thấp IGE đặc hiệu với tôm thể hiện phản ứng chéo với những protein này và rõ nhất là với protein 36 kDa tương ứng với trọng lượng phân tử tropomyosin của tôm.

Kết luận: IGE đặc hiệu tăng phản ứng với các mẫu được xử lý ở nhiệt độ cao và có phản ứng chéo xảy ra giữa một số protein của tôm với protein của mạt bụi nhà, gián.

Từ khóa: dị ứng tôm, IGE đặc hiệu, tropomyosin, arginine kinase, protein liên kết canxi chất cơ, phản ứng chéo.

1. Đặt vấn đề

Dị ứng thức ăn là một trong những bệnh lý phức tạp của lĩnh vực dị ứng. Bệnh lý này không chỉ ảnh hưởng tới sức khỏe cá nhân bị dị ứng thức ăn mà còn là gánh nặng cho sức khỏe cộng đồng ở hầu hết các nước

trong vài thập kỷ gần đây [8]. Khoảng 2-4% dân số trên toàn thế giới [3,5], trong đó khoảng 5-8% trẻ em và tới 3% người lớn có dị ứng với thức ăn [5].

Hải sản có vỏ là một trong những loại thức ăn được sử dụng phổ biến và rộng rãi trên toàn thế giới bởi giá trị dinh dưỡng mà chúng mang lại. Do đó, sự gia tăng tình trạng dị ứng thức ăn qua trung gian kháng thể IgE do hải sản có vỏ gây ra đã được

*Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: tranngoc142@gmail.com

<https://doi.org/10.47973/jprp.v4i6.274>

hiều nghiên cứu báo cáo và tình trạng này ngày càng gia tăng ở cả người lớn và trẻ em [18,19]. Cục quản lý Dược phẩm và Thực phẩm Hoa Kỳ (FDA) đã xếp hải sản có vỏ vào danh sách tám loại thực phẩm gây dị ứng phổ biến nhất. Tỷ lệ dị ứng hải sản có vỏ chiếm từ 0,5 đến 2,5% tùy thuộc vào vị trí địa lý, thói quen ăn uống và độ tuổi. Không giống như hầu hết các trường hợp dị ứng thức ăn khác, dị ứng hải sản có vỏ tồn tại kéo dài và có khi suốt đời, chiếm trên 90% tổng số bệnh nhân bị dị ứng hải sản có vỏ và đồng thời thường liên quan đến phản ứng phản vệ toàn thân nghiêm trọng do chúng gây ra [10,14].

Hải sản có vỏ bao gồm động vật giáp xác và động vật thân mềm. Phần lớn động vật giáp xác là loài thường gây ra dị ứng [20]. Tôm là loại hải sản được sử dụng rộng rãi bởi hàm lượng dinh dưỡng mà chúng mang lại. Đó cũng là lý do tại sao tỷ lệ dị ứng với tôm ngày càng tăng. Có nhiều thành phần protein của tôm đã được xác định từ trọng lượng phân tử thấp đến cao (17 kDa đến 200 kDa). Tuy nhiên có bốn loại protein dị nguyên là thành phần gây dị ứng từ tôm đã được nhiều nghiên cứu trên thế giới ghi nhận bao gồm tropomyosin (TM), arginine kinase (AK), chuỗi nhẹ myosin và protein liên kết canxi chất cơ. Khi phân tích bằng SDS-PAGE, các thành phần này có trọng lượng phân tử lần lượt là 34-38 kDa, 40-45 kDa, 17-20kDa và 20-25 kDa [11]. Đồng thời, sự biểu hiện của các thành phần protein này bị hưởng bởi nhiệt độ. Một số nghiên cứu cho thấy ở những mẫu tôm được chế biến ở nhiệt độ càng cao thì nồng độ các protein hoà tan giảm và tăng nồng độ của các protein có trọng lượng phân tử lớn, dẫn đến sự thay đổi đáp ứng của IgE đặc hiệu đối với các loại dị nguyên protein này.

TM là một loại protein có trong cơ, là thành phần gây dị ứng quan trọng được

tìm thấy đầu tiên ở tôm [4,13]. Sự miễn cảm với dị nguyên TM chiếm trên 80% ở những bệnh nhân dị ứng với tôm [1]. TM cũng là chất gây dị ứng của nhiều loài khác như tôm hùm, cua và động vật thân mềm như sò, hến. Theo bậc thang tiến hóa, có 78–98% axit amin của protein TM tương đồng giữa động vật giáp xác và mặt nhà; 80–97% tương đồng giữa động vật giáp xác và gián [16]. Do đó, TM không những là nguyên nhân gây ra tình trạng phản ứng chéo giữa các loài hải sản có vỏ với nhau mà còn là nguyên nhân gây ra phản ứng chéo giữa dị ứng thức ăn với các dị nguyên hô hấp có nguồn gốc từ mặt bụi nhà hoặc gián. Arlian L. và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu phản ứng chéo giữa mặt bụi nhà và tôm và đã chứng minh rằng IgE đặc hiệu dành cho TM của mặt bụi nhà (Der p10) phản ứng rất mạnh với TM của tôm [2]. Hay nghiên cứu của Fernandes J và cộng sự đã tiến hành trên những người tu hành bị dị ứng mặt bụi nhà có phản ứng với tôm mặc dù những người này chưa bao giờ tiếp xúc với tôm [7].

Đối với các thành phần arginine kinase (AK), chuỗi nhẹ myosin và protein liên kết canxi chất cơ cũng như nhiều thành phần protein khác chưa được nghiên cứu về tính gây dị ứng cũng như phản ứng chéo. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu “Khảo sát khả năng đáp ứng của IgE đặc hiệu với hải sản có vỏ và mối liên quan với dị ứng mặt bụi nhà, gián” với mục tiêu: (1) *Khảo sát khả năng đáp ứng của IgE đặc hiệu với các protein tách chiết từ tôm*, (2) *Đánh giá mối liên quan giữa dị ứng hải sản có vỏ với dị ứng mặt bụi nhà, gián*.

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Mẫu tôm

Hai loại tôm thẻ chân trắng và tôm sú được mua ở chợ. Sau đó, bảo quản ở -20°C cho đến khi được sử dụng để tiến hành nghiên cứu.

2.2. Chủ thể dị ứng

13 bệnh nhân đến khám tại Bệnh viện Đại học Y Dược Huế được xác định dị ứng với tôm, cua và hoặc mặt, bụi nhà qua

khai thác tiền sử dị ứng và thực hiện test lấy da với chứng dương là histamine (1mg/ml), chứng âm là glycerin 50% (dị nguyên thương mại của hãng ALK, US). Bệnh nhân có test lấy da dương tính nếu kích thước sẩn >3mm so với chứng âm (Bảng 2.1).

Bảng 1. Khai thác tiền sử và thực hiện test lấy da

ID mẫu HT	Tuổi	Hen phế quản dị ứng	Viêm mũi dị ứng	Dị ứng thức ăn	Dị ứng côn trùng	Kết quả test lấy da				
						Tôm	Cua	D. farinae	D. pteronys-sinus	Gián
1	38	Không	Có	Không	Có	Âm	Âm	4 mm	Âm	Âm
2	35	Không	Có	Không	Có	Âm	Âm	5 mm	3 mm	4 mm
3	34	Không	Có	Không	Không	Âm	Âm	3 mm	6 mm	Âm
4	8	Có	Có	Không	Không	Âm	Âm	8 mm	10 mm	6 mm
5	6	Có	Có	Tôm	Có	4 mm	Âm	3 mm	5 mm	Âm
6	6	Có	Có	Không	Không	Âm	3 mm	4 mm	4 mm	Âm
7	24	Không	Không	Rạm	Có	Âm	Âm	5 mm	8 mm	4 mm
8	26	Không	Không	Cua	Không	Âm	6 mm	5 mm	4 mm	Âm
9	26	Không	Có	Tôm	Có	4 mm	Âm	4 mm	5 mm	4.5 mm
10	24	Không	Có	Không	Có	Âm	Âm	Âm	Âm	5 mm
11	45	Không	Có	Không	Có	7 mm	Âm	Âm	6 mm	Âm
12	13	Có	Có	Tôm, cua	Có	5 mm	4 mm	20x12 mm	7 mm	Âm
13	26	Không	Không	Hến	Không	Âm	Âm	4 mm	5 mm	Âm

Sau đó, lấy huyết thanh để định lượng IgE đặc hiệu bằng ImmunoCAP và với giá trị cut off 0.35kUA/L là dương tính (Bảng 2.2).

2.3. LDS-PAGE

Các thành phần protein sau tách chiết được phân tách và xác định các protein bằng kỹ thuật điện di trên gel Lithium dodecyl sulfate-Polyacrylamide (LDS-PAGE). Sử dụng gel đúc sẵn

(NuPAGE 4-12% Bis – Tris, Invitrogen Life Technologies Ltd., Paisley, UK) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Mỗi mẫu protein đã tách chiết được pha loãng bằng NuPage LDS Sample Buffer (Invitrogen) với thể tích bằng nhau. Sau khi chạy điện di với hệ thống Bio-Rad, gel được nhuộm bằng Colloidal Coomassie Blue (Candiano et al., 2004), sau đó được xác định mật độ bằng máy đo ChemiDoc MP System.

2.5. Immuno Blotting

Sau khi chạy xong LDS-PAGE, các protein ở trên gel được chuyển qua màng Nitrocellulose (0.2 μ m) bằng module XCell II Blot. Để ngăn sự hấp thụ của các protein không đặc hiệu, màng được ủ với TBS có chứa 0,3% Tween 20 trong 30 phút và ủ O.N. ở 4 ° C với huyết thanh của bệnh nhân và một mẫu huyết thanh của người không có IgE đặc hiệu với dị nguyên hải sản để

làm chứng âm được pha loãng ở tỷ lệ 1: 5. Sau khi ủ, màng được rửa ba lần bằng dung dịch rửa (TBS, 0,05% Tween 20) trong 10 phút, và tiếp tục ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng với kháng thể kháng IgE của dê (Sera Care Life Sciences Inc., Milford, Massachusetts) được pha loãng 1:5000. Các màng được rửa ba lần và phức hợp protein-IgE-anti-IgE được phát hiện bằng Alkaline Phosphatase (Bio-Rad).

Bảng 2. Nồng độ của IgE toàn phần và IgE đặc hiệu

ID	IgE toàn phần (kU/L)	Specific IgE (kUA/L)				
		f24 Tôm	d202 rDer p1	d203 rDer p2	d205 rDer p10 Tropomyosin	d209 rDer p23
1	277	0.18	0.01	0.00	0.00	0.00
2	147	0.16	0.01	0.00	0.01	0.00
3	97.9	0.27	0.00	0.00	0.00	0.9
4	1849	20.40	0.06	5.54	0.06	0.04
5	237	7.81	15.30	0.00	0.00	4.05
6	346	0.25	0.01	0.00	0.00	0.00
7	777	1.46	0.04	0.02	0.02	8.02
8	560	1.61	32.30	12.30	0.02	5.35
9	137	0.60	0.02	0.00	0.01	0.00
10	2323	3.43	41.20	0.07	0.79	55.40
11	834	2.91	0.04	0.02	0.02	0.02
12	1309	2.99	0.08	0.17	4.35	0.02
13	108	0.49	0.03	0.00	0.00	0.00

3. Kết quả

3.1. Kết quả LDS-PAGE của mẫu protein tách chiết từ tôm:

6 mẫu protein từ tôm thẻ chân trắng và tôm sú ở dạng để sống, luộc và chiên

được phân tách bằng LDS-PAGE. Khi thực hiện kỹ thuật này, các protein hòa tan và không hòa tan của mỗi loại mẫu được trộn thành một dịch huyền phù đồng nhất.

Hình 3: Immunoblotting của RWL

Kết quả LDS-PAGE cho thấy các thành phần tách chiết từ tôm có nhiều dải protein khác nhau, từ 17 đến 200 kDa. Thể hiện rõ nhất là protein 21 kDa và 36 kDa tương ứng với trọng lượng phân tử của protein liên kết canxi chất cơ và Tropomyosin. Điểm đáng chú ý có sự thể hiện khác nhau giữa tôm luộc và chiên so với tôm sống. Đó là ở tôm luộc và chiên có nhiều protein 21 kDa và 36 kDa hơn so với tôm sống.

Bên cạnh đó, ở mẫu tôm chiên và luộc còn thể hiện nhiều protein trong khi ở tôm sống không thể hiện bao gồm các dải protein có trọng lượng phân tử xấp xỉ 17 kDa, 40 kDa, 45kDa và nhiều dải khác có trọng lượng phân tử từ 55 đến 200 kDa. Protein 45 kDa tương ứng với trọng lượng phân tử của Arginine kinase.

3.2. Kết quả Immunoblotting

Sử dụng 13 mẫu huyết thanh của bệnh nhân được xác định có dị ứng với tôm, cua hoặc mặt nhà, gián với nồng độ IgE đặc hiệu khác nhau để thực hiện Immunoblotting và kết quả như sau:

3.2.1. Kết quả Immunoblotting với protein của tôm sống

Hình 4: Immunoblotting của RWL

IgE đặc hiệu của huyết thanh bệnh nhân số 1 và số 10 cho phản ứng với protein 31 kDa ở trên cả tôm thẻ và tôm sú sống. Cũng với protein đó, trên mẫu tôm thẻ sống còn có thêm phản ứng ở bệnh nhân 11 và 12. Ngoài ra, trên mẫu tôm sú sống, thì còn thấy sự phản ứng với protein 66 kDa của các mẫu huyết thanh 1,3,4,7 (Hình 3.2, hình 3.3).

Hình 5: Immunoblotting của RBT

3.2.1. Kết quả Immunoblotting với protein của tôm luyệt

Hình 6: Immunoblotting của BWL

Hình 7: Immunoblotting của BBT

Hầu hết IgE đặc hiệu của tất cả các mẫu huyết thanh phản ứng với protein 116 kDa (trừ bệnh nhân 11,12 ở mẫu tôm thẻ).

Điểm khác là với mẫu tôm sú luyệt, còn cho thấy nhiều phản ứng của IgE đặc hiệu với các protein có trọng lượng phân tử trên 55 kDa, 66kDa, trong khi mẫu tôm thẻ luyệt không thấy phản ứng ở những vị trí này (trừ ở bệnh nhân số 10). Đồng thời, trên mẫu tôm sú, có khá nhiều phản ứng xảy ra đối với protein 45 kDa như bệnh nhân 4,6,7,8,9,11(Hình 3.4, hình 3.5).

3.2.1. Kết quả Immunoblotting với protein từ tôm chiên

Các IgE đặc hiệu phản ứng với nhiều vị trí trên cả mẫu tôm thẻ chiên và tôm sú chiên gồm protein 21kDa, 45 kDa và phản ứng rõ nhất thể hiện ở vị trí protein 116 kDa. Đồng thời một số mẫu huyết thanh còn phản ứng với các protein trong khoảng từ 55 đến 97 kDa trên cả 2 loại tôm chiên như ở mẫu huyết thanh bệnh nhân 1,3,7,9 (Hình 3.6, hình 3.7).

Hình 8: Immunoblotting của FWL

Hình 9: Immunoblotting của FBT

4. Bàn luận

Với kỹ thuật điện di LDS-PAGE đã cho chúng ta thấy sự phân bố các protein tách chiết từ tôm, với hai loại tôm thường được dùng nhiều ở Việt Nam là tôm thẻ chân trắng và tôm sú. Sự phân bố các protein của hai loại này là giống nhau. Các dải được xác định ở các vị trí 21, 31, 36, 45, 66, 97 và 116 kDa và mức độ biểu hiện của mỗi dải là khác nhau. Bên cạnh đó, theo kết quả điện di LDS-PAGE xuất hiện các dải protein ở các vị trí có trọng lượng phân tử cao (từ 55 đến 116 kDa) ở các mẫu tôm luộc và tôm chiên, trong khi ở các mẫu tôm sống thì không có sự biểu hiện. Có lẽ điều này là do ảnh hưởng của quy trình chế biến dẫn đến sự kết tủa protein. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Jarupalee và cộng sự [10] (2018) hay nghiên cứu của Sahabudin và cộng sự [17] (2011).

Chúng tôi đã tiến khảo sát phản ứng IgE đặc hiệu với các protein tách chiết từ tôm bằng cách sử dụng huyết thanh của 13 bệnh nhân có tiền sử dị ứng với tôm/ cua, gián, mật nhà kèm test lấy da dương tính và định lượng IgE đặc hiệu bằng immunoCAP.

Bằng cách sử dụng Immunoblotting, IgE đặc hiệu gắn lên các protein ở các vị trí khác nhau và qua đó thể hiện sự phản ứng của chúng. Kết quả cụ thể là IgE đặc hiệu ở hầu hết các mẫu huyết thanh của bệnh nhân phản ứng dương tính với protein của tôm có trọng lượng phân tử 21 kDa, 45 kDa và 116 kDa. Các protein này lần lượt có thể là protein liên kết canxi chất cơ, Arginine kinase và Paramyosin. Hai thành phần là protein liên kết canxi chất cơ, Arginine kinase đã được biết đến như những chất gây dị ứng ở động vật không xương sống, bao gồm tôm, cua, gián và mật bụi nhà. Kết quả này tương tự như nhiều nghiên cứu trước đây về các dị nguyên gây dị ứng của tôm hay của các loại hải sản có vỏ [6,10]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi còn cho thấy hầu hết không có sự phản ứng của IgE đặc hiệu với protein 36 kDa (chỉ có ở mẫu huyết thanh 10 và 12) tương ứng với trọng lượng phân tử của tropomyosin, điều này có thể do số lượng mẫu huyết thanh còn quá ít nên chưa thể đánh giá. Trong khi đó, hầu hết các mẫu đều cho phản ứng với protein 116 kDa, đặc biệt là khi các mẫu protein được xử lý ở nhiệt độ càng cao thì phản ứng càng mạnh. Với loại protein này thì chưa được xác định cụ thể đó là loại protein nào, theo một vài nghiên cứu có thể là Paramyosin, vì vậy cần thực hiện các kỹ thuật khác để xác định chính xác loại nào bởi vì đây có thể cũng là loại dị nguyên gây dị ứng phổ biến trên tôm nói riêng và các loại hải sản nói chung.

Qua nghiên cứu của chúng tôi còn ghi nhận rằng sự phản ứng của IgE đặc hiệu còn ảnh hưởng bởi giống loài và cách chế biến. Cụ thể là đa phần các phản ứng của IgE đặc hiệu với các protein từ tôm sú thể hiện phong phú và mạnh mẽ hơn so với các protein từ tôm thẻ chân trắng. Quá trình chế biến sử dụng nhiệt càng cao thì mức độ phản ứng càng tăng. Cho nên hầu hết các

mẫu huyết thanh đều cho phản ứng với protein 21 kDa, 45kDa cũng như 116 kDa của tôm luộc và tôm chiên. Bởi các thành phần có thể là các protein bền với nhiệt hoặc cũng có thể là vẫn được IgE đặc hiệu kết hợp sau khi xử lý như ở một số nghiên cứu khác. Trên những bệnh nhân không có tiền sử dị ứng với hải sản có vỏ, có test lấy da dương tính với mật bụi nhà, gián; cũng như không có IgE đặc hiệu với tôm (bao gồm bệnh nhân số 1, 2, 3, 6) đều có phản ứng với protein 21 kDa, 45kDa, 116 kDa. Hay là những bệnh nhân có IgE đặc hiệu cho tôm thấp, nhưng IgE đặc hiệu cho mật bụi nhà cao (bao gồm bệnh nhân số 8, 10, 12) cũng cho phản ứng rất rõ với protein 21 kDa, 45 kDa, 116 kDa đặc biệt là trên bệnh nhân số 12 có IgE đặc hiệu dành cho tropomyosin của rDer p10 4,35 kUA / L cho phản ứng với protein 36 kDa tương ứng với vị trí của tropomyosin từ tôm rất mạnh. Điều này có thể nghĩ đến là do phản ứng chéo xảy ra do một số protein của mật bụi nhà hoặc gián với với một số protein của tôm vì chúng có sự tương đồng về cấu trúc. Thể hiện rõ nhất là qua sự phản ứng của IgE đặc hiệu với tropomyosin. Đây là thành phần được biết đến như một dị nguyên gây phản ứng chéo do trình tự acid amine tương đồng lên đến 95-100% giữa các loại hải sản có vỏ và 55-70% ở các loại động vật khác như mật bụi nhà, gián. Bên cạnh đó, arginine kinase, protein gắn canxi chất cơ cũng liên quan đến phản ứng chéo giữa động vật giáp xác, mật bụi nhà và côn trùng đã được xác định. Trong nghiên cứu của chúng tôi còn phát hiện thêm phản ứng chéo với protein 116 kDa, tuy nhiên thành phần này vẫn chưa được xác định cụ thể.

5. Kết luận

Bằng kỹ thuật LDS-PAGE đã cho thấy sự phân bố của các protein của cả hai loại tôm thẻ chân trắng và tôm sú, từ 21kDa

đến 200 kDa và sự phân bố này là tương tự nhau ở cả 2 loại tôm. Với các mẫu tôm được nấu chín thì cho thấy có sự gia tăng số lượng các dải protein ở trọng lượng phân tử cao (từ 66 đến 200 kDa) trong khi ở dạng tôm sống thì không thể hiện.

Bằng kỹ thuật Immunoblotting đã cho thấy hầu hết IgE đặc hiệu của các bệnh nhân đều phản ứng với protein của tôm có trọng lượng phân tử 21 kDa, 45 kDa và 116 kDa. Trong đó protein 21 kDa và 45 kDa tương ứng với vị trí của protein gắn canxi chất cơ và arginine kinase, là những dị nguyên gây dị ứng phổ biến, còn protein 116 kDa chưa xác định cụ thể cần thực hiện các kỹ thuật khác như LC-MS/MS để xác định chính xác. Ở mẫu protein được xử lý nhiệt càng cao thì phản ứng IgE đặc hiệu càng thể hiện rõ.

Ngoài ra, phản ứng chéo xảy ra giữa IgE đặc hiệu trên các bệnh nhân có dị ứng với mật bụi nhà hoặc gián không có hoặc có nồng độ IgE đặc hiệu cho tôm thấp cũng cho phản ứng các protein của tôm, thể hiện rõ nét ở bệnh nhân có IgE đặc hiệu dành cho tropomyosin của mật bụi nhà phản ứng với tropomyosin của tôm.

Sự kết hợp giữa LDS-PAGE với Immunoblotting rất hữu ích để xác định mức độ phản ứng của IgE đặc hiệu trong huyết thanh bệnh nhân với các thành phần gây dị ứng của tôm nói riêng và của các loại hải sản có vỏ nói chung, đồng thời giúp đánh giá khả năng phản ứng chéo giữa một dị nguyên của tôm trên những bệnh nhân dị ứng với mật bụi nhà hoặc gián.

Tài liệu tham khảo

- [1] Albrecht M, Alessandri S, Conti A, Reuter A, Lauer I, Vieths S and Reese G (2008): High level expression, purification and physico- and

- immunochemical characterisation of recombinant Pen a 1: A major allergen of shrimp. *Mol Nutr Food Res.* 52 (Suppl 2):S186–S195.
- [2] Arlian L, Morgan M, Vyszynski-Moher D, Sharra D (2009). Cross-reactivity between storage and dust mites and between mites and shrimp. *Experimental and Applied Acarology.* 47:159–72
- [3] Baumert, J. L. *Detecting and Measuring Allergens in Food. Risk Management for Food Allergy* (Elsevier, 2013).
- [4] Daul C, Slattery M, Reese G and Lehrer SB (1994): Identification of the major brown shrimp (*Penaeus aztecus*) allergen as the muscle protein tropomyosin. *Int Arch Allergy Immunol.* 105:49–55.
- [5] Eigenmann, P. A (2007). The spectrum of cow's milk allergy. *Pediatr. Allergy Immunol.* 18, 265-271.
- [6] Faber, M. A., Pascal, M., El Kharbouchi, O., Sabato, V., Hagendorens, M. M., Decuyper, I. I., Ebo, D. G. (2017a). Shellfish allergens: tropomyosin and beyond. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 72(6), 842–848.
- [7] Fernandes J, Reshef A, Patton L, Ayuso R, Reese G, Lehrer SB (2003). Immunoglobulin E antibody reactivity to the major shrimp allergen, tropomyosin, in unexposed Orthodox Jews. *Clinical and Experimental Allergy.* ;33:956–61
- [8] Gelincik, A. *et al.* (2008). Confirmed prevalence of food allergy and non-allergic food hypersensitivity in a Mediterranean population. *Clin. Exp. Allergy* 38, 1333–1341
- [9] Jarupalee, T., Chatchatee, P., Komolpis, K., Suratannon, N., Roytrakul, S., Yingchutrakul, Y., Palaga, T. (2018). Detecting allergens from black tiger shrimp *penaeus monodon* that can bind and cross-link IgE by ELISA, western blot, and a humanized rat basophilic leukemia reporter cell line RS-ATL8. *Allergy, Asthma and Immunology Research*, 10(1), 62–76.
- [10] Khora SS (2016): Seafood-associated shellfish allergy: A comprehensive review. *immunol invest* 45: 504-530.
- [11] Liang, Y.L., Cao, M.J., Su, W.J., Zhang, L.J., Huang, Y.Y. and Liu, G.M. (2008). Identification and characterisation of the major allergen of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*). *Food Chemistry* 111: 998-1003.
- [12] Lu, Y., Ohshima, T., Ushio, H., Hamada, Y. and Shiomi, K. (2007). Immunological characteristics of monoclonal antibodies against shellfish major allergen tropomyosin. *Food Chemistry* 100: 1093-1099
- [13] Naqpal S, Rajappa L, Metcalfe DD and Rao PV (1989): Isolation and characterization of heat-stable allergens from shrimp (*Penaeus indicus*). *J Allergy Clin Immunol.* 83:26–36.
- [14] Huong NTM, Hoa NPA, Ngoc ND. Application of Biotechnology in Detection ATP7B Gene Mutation in Vietnamese Children with Wilson Disease and Screening Target Mutation for Their Family Members. *Journal of Pediatric Research and Practice* 2020;5:10-20.
<https://doi.org/10.25073/jprp.v4i5.227>
- [15] Rona, R. J. *et al.* (2007). The prevalence of food allergy: A meta-analysis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 120, 638–646

- [16] Ruethers T, Taki AC, Johnston EB, Nugraha R, Le TTK, Kalic T, McLean TR, Kamath SD and Lopata AL (2018): Seafood allergy: A comprehensive review of fish and shellfish allergens. *Mol Immunol.* 100:28–57.
- [17] Sahabudin, S., Misnan, R., Yadzir, Z. H. M., Mohamad, J., Abdullah, N., Bakhtiar, F., & Murad, S. (2011b). Identification of major and minor allergens of black tiger prawn (*Penaeus monodon*) and king prawn (*Penaeus latisulcatus*). *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 18(3), 27–32.
- [18] Shek LPC, Cabrera-Morales EA, Soh SE, Gerez I, Ng PZ, Yi FC, et al (2010). A population-based questionnaire survey on the prevalence of peanut, tree nut, and shellfish allergy in 2 Asian populations. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* ;126:324–U50.
- [19] Hoa NTM, Le NNQ, Huong LTM. Food Allergy in Ashtmatic Children. *Journal of Pediatric Research and Practice* 2018;6:37-43. <https://doi.org/10.25073/jprp.v0i6.130>
- [20] Woo, C.K. and Bahna, S.M. (2011) Not all shellfish “allergy” is allergy!. *Clinical Translational Allergy* 1: 1-7.