

MARIA TRZCIŃSKA<sup>1</sup>, MARTA WILK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra Inżynierii Bioprocessowej  
Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu

<sup>2</sup>Katedra Bioutylizacji Odpadów Rolno-Spożywczych  
Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu

## ALERGIZUJĄCE WŁAŚCIWOŚCI JABŁEK – PODSTAWY MOLEKULARNE, CZYNNIKI WPLYWAJĄCE NA POZIOM ALERGENÓW

ALLERGENIC PROPERTIES OF APPLES – MOLECULAR BASIS,  
FACTORS DETERMINING LEVEL OF ALLERGENS

**Streszczenie.** W rejonie północno- i środkowoeuropejskim uczulenia na jabłka stwierdza się u około 2% konsumentów, dlatego wiele uwagi poświęcono alergennym właściwościom tych owoców. W opracowaniu przedstawiono informacje o czterech głównych alergenach jabłek: należących do białek stresu roślinnego Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3 oraz zakwalifikowanego do profilin białka Mal d 4. Opisano wyniki badań nad wpływem różnych czynników: odmiany, warunków hodowli i przechowywania, na poziom i ekspresję syntezy alergennych białek w jabłkach. Omówiono próby uzyskania owoców hipoalergicznym, które mogłyby być spożywane przez konsumentów dotkniętych łagodną alergią.

**Słowa kluczowe:** alergeny jabłek, alergie krzyżowe, odmiany hipoalergiczne

Pośród owoców spożywanych przez człowieka za najsilniej alergizujące uważane są te, które pochodzą z roślin należących do rodziny Rosaceae. Zaliczane do tej rodziny taksonomicznej jabłka należą do owoców wykazujących silne właściwości alergizujące. Według niektórych źródeł aż 2% populacji Europy wykazuje reakcje alergiczne na jabłka (Bokszczanin i Przybyła, 2012; Kootstra i in., 2007). Ma to o tyle znaczenie, że Polska należy do światowej czołówki producentów jabłek, a owoce te są nie tylko surowcem eksportowym, lecz także w kraju są przez cały rok chętnie spożywane bezpośrednio lub w postaci soków i innych przetworów.

Dotychczasowe badania jabłek pozwoliły na identyfikację w tych owocach czterech alergenów, które w oficjalnym spisie Podkomitetu do spraw Nomenklatury Światowej

Organizacji Zdrowia i Międzynarodowej Unii Towarzystw Immunologicznych (WHO/IUIS Nomenclature Sub-committee) figurują jako Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3 i Mal d 4. Trzy pierwsze z wymienionych alergenów są identyfikowane jako białka stresu roślinnego – tzw. białka PR (ang. *pathogenesis-related*). Te powszechnie występujące w tkankach roślinnych małowczątkowe białka biorą udział w reakcjach obronnych roślin następujących w odpowiedzi na inwazję patogenów: wirusów, bakterii, grzybów lub owadów, ale także w reakcji na szkodliwe działanie czynników abiotycznych, takich jak szok temperaturowy czy zranienie (Breiteneder i Ebner, 2000). Badania wykazały, że 25% roślinnych alergenów pokarmowych można zakwalifikować jako białka PR.

Mal d 1, małowczątkowe białko o masie 14 kD, jest głównym czynnikiem jabłka, powodującym reakcje alergiczne w północnej i centralnej Europie (Fernández-Rivas i in., 2006). Wraz z wieloma innymi alergenami występującymi w owocach i pyłkach roślin jest zaliczany do grupy PR-10 białek stresu roślinnego. Mal d 1 jest alergenem homologicznym głównego alergenu pyłku brzozy Bet v 1, stąd często występują alergie krzyżowe wywoływane przez te dwa białka. Na obszarze Europy Północnej i Centralnej u 50–70% alergików uczulonych na pyłek brzozy po zjedzeniu jabłka występuje ustny zespół uczuleniowy (Gao i in., 2008). Podobieństwo w sekwencji aminokwasów cząsteczek Mal d 1 i Bet v 1 jest oceniane na 64,5% (Vanek-Krebitz i in., 1995), przy czym szczegółowe analizy sekwencji aminokwasów i badania krystalograficzne powierzchni obu białek pozwoliły na zidentyfikowaniu co najmniej dwóch regionów, które mogą stanowić epitopy uczestniczące w reakcji krzyżowej, tj. łączące się ze specyficzną immunoglobuliną IgE (Holm i in., 2001; 2011).

Badania białka Mal d 1 wykazały istnienie wielu izoform tej cząsteczki. Zarówno ekspresja poszczególnych izoalergenów, jak i ich działanie kliniczne mogą się znacznie różnić. W badaniach przeprowadzonych na wielu odmianach jabłek różniących się właściwościami alergizującymi stwierdzono istotną korelację pomiędzy tymi właściwościami a poziomem w nich niektórych izoalergenów Mal d 1. Były jednak i takie formy białka Mal d 1, dla których taka korelacja nie występowała. Jak podają Gao i in. (2008), obserwacje te wskazują, że izoalergeny Mal d 1 różnią się właściwościami uczulającymi.

Obecnie wiadomo, że alergen Mal d 1 jest kodowany przez dużą rodzinę genów. Gao i in. (2008) zbadali geny kodujące omawiany alergen zlokalizowane w trzech loci. Siedem z opisanych genów zawierało sekwencje intronowe, 11 innych było pozbawionych takich sekwencji. Pagliarani i in. (2012) za pomocą techniki qRT PCR (ilościowy PCR z odwrotną transkryptazą) wykazali obecność w genomie jabłek 31 genów Mal d 1, z których 11 w owocach odmian 'Florina' i 'Gala' nie ulegało ekspresji. Ekspresja pozostałych 20 genów była różna w poszczególnych odmianach, a także w różnych tkankach tego samego owocu. Stwierdzono, że ekspresja niektórych genów Mal d 1 była znacznie silniejsza w skórce niż w miąższu owoców. Obieranie jabłek mogłoby zatem skutkować usunięciem wielu alergenów. Ponieważ jednak poszczególne alergeny Mal d 1 mają różne właściwości uczulające, a wrażliwość na nie jest zawsze cechą osobniczą, nie można z góry przewidzieć, czy usunięcie skórki wpłynie na reakcję alergiczną konkretnego konsumenta. Białko Mal d 1 powstaje w tkankach roślinnych konstytutywnie, ale jego synteza jest także dodatkowo indukowana inwazją pasożytów bakterii lub grzybów oraz przez stres abiotyczny. Omawiane białka są także intensywniej wytwarzane w czasie dojrzewania owoców (Atkinson i in., 1996).

Alergen Mal d 2, podobnie jak poprzednio opisany, jest białkiem stresu roślinnego, co oznacza, że fizjologiczna rola tego białka polega na udziale w mechanizmach obronnych rośliny przeciw inwazji pasożytów. Eksperymentalnie wykazano aktywność przeciwgrzybiczą Mal d 2 w stosunku do *Fusarium oxysporum* i *Penicillium expansum* (Krebitz i in., 2003). Mal d 2 jest białkiem o masie cząsteczkowej 21–31 kD, zaliczonym do grupy pięciu białek stresu roślinnego (PR-5). Jak inne należące do grupy PR-5 białka, Mal d 2 jest homologiem taumatyny, wykazującego słodki smak białka występującego w owocach afrykańskiej rośliny *Thaumatococcus danielli*. Ze względu na to podobieństwo białka z grupy PR-5 są często określane akronimem TLP, pochodzącym od angielskiej frazy *thaumatin-like protein* (Breiteneder i Ebner, 2000; Krebitz i in., 2003). Badania wyizolowanego i oczyszczonego metodą chromatografii jonowymiennej alergenu Mal d 2 wykazały występowanie dwóch izoform tego białka reagujących z odpowiednimi czynnikami IgE surowicy osób uczulonych na jabłka (Smole i in., 2008). Mal d 2 jest glikoproteidem. W reakcji między tym alergenem a odpowiednim przeciwciałem są zaangażowane domeny cukrowe (Krebitz i in., 2003; Oberhuber i in., 2008). Eksperymenty przeprowadzone na modelach trawiennych *in vitro* wskazują na znaczną odporność alergenu Mal d 2 na działanie enzymów trawiennych, co sugeruje, że alergen ten może swobodnie działać uczulająco na śluzówkę przewodu pokarmowego (Smole i in., 2008).

W rejonie Morza Śródziemnego, gdzie nie rośnie brzoza, głównym alergenem jabłek jest Mal d 3 (Fernández-Rivas i in., 2006; Gao i in., 2005b). Jest to małowczątkowe białko o masie 9 kD, które zaliczono do grupy 14 białek stresu roślinnego. Białka PR-14 biorą udział w procesach obronnych roślin indukowanych w przypadku inwazji grzybów lub bakterii i są zlokalizowane głównie w zewnętrznych tkankach roślin, mają też zdolność przenoszenia lipidów z liposomów do mitochondriów, gdzie następuje ich utlenianie. Z powodu tej funkcji białka te są określane mianem niespecyficznych białek transportujących lipidy – nsLTP (ang. *non-specific lipid transfer protein*). Białko Mal d 3 posiada w cząsteczce, charakterystyczny dla nsLTP, układ ośmiu reszt cysteinowych tworzących cztery mostki disiarczkowe. Układ ten powoduje dużą termostabilność, jak również odporność na zmiany pH (Breiteneder i Ebner, 2000; Husband i in., 2011; Krebitz i in., 2003). Na przykład oczyszczone białko Mal d 3 traktowane przez 20 min temperaturą 90°C nie zmieniało swoich zdolności wiązania się z odpowiednim IgE. Dopiero po dwugodzinnym działaniu temperatury 100°C biologiczna aktywność Mal d 3 zmniejszała się kilkadziesiąt razy. Równoległe obserwowane zmiany w strukturze badanego białka były wciąż stosunkowo niewielkie, następowało jednak trwałe zerwanie jednego z charakterystycznych dla cząsteczek białek nsLTP mostków disiarczkowych (Sancho i in., 2005). Badania genetyczne za pomocą techniki PCR pozwoliły na zidentyfikowanie dwóch nie zawierających sekwencji intronowych genów kodujących białka Mal d 3. Dalsze badania, do których wykorzystano osiem odmian jabłek, wykazały polimorfizm w obrębie alleli obu genów (Gao i in., 2005b). Także badania alergicznych właściwości 10 różnych odmian jabłek w powiązaniu z poziomem w ich skórce frakcji białek o masie cząsteczkowej 9 kD wskazują na różnice ilościowe i jakościowe alergenów (Carnés i in., 2006).

W odróżnieniu od trzech poprzednio opisanych, czwarty alergen jabłek, oznaczony symbolem Mal d 4, nie jest białkiem stresu roślinnego. Mal d 4 należy do profilin, powszechnie występujących w komórkach roślinnych niewielkich białek o masie czą-

steczkowej 12–15 kD. W komórce profiliny uczestniczą w budowie cytoszkieletu, a ich rola polega na przyłączaniu cząsteczek aktywny do tworzącego się włókna szkieletu komórkowego. Obecnie wiadomo, że profiliny mogą działać jako alergeny krzyżowe (Breiteneder i Ebner, 2000). Mal d 4 jest monomerycznym białkiem o masie cząsteczkowej równej 14 kD, a jego właściwości alergogenne potwierdzono, wykazując zdolność do reagowania z przeciwciałami IgE (Ma i in., 2006). Mal d 4 może dawać alergiczną reakcję krzyżową z alergenem pyłku brzozy Bet v 2, także zaliczanym do roślinnych profilin (Breiteneder i Ebner, 2000). Przeprowadzone z wykorzystaniem dwóch odmian jabłek badania genetyczne: klonowanie techniką PCR i sekwencjonowanie izolowanych fragmentów pozwoliło na zidentyfikowanie i scharakteryzowanie czterech genów Mal d 4, przy czym dwa z nich są leżącymi obok siebie kopiami (Gao i in., 2005a). Wykazano, że omawiany alergen jest termolabilny, a także wrażliwy na działanie enzymów proteolitycznych, np. pepsyny (Asero i in., 2006; Ma i in., 2006).

Jabłka należą do najchętniej spożywanych owoców i są dostępne przez cały rok. Jednocześnie wiele krzyżowych alergii pokarmowych jest związanych właśnie ze spożywaniem jabłek. Z tego względu ważne jest upowszechnianie wiedzy na temat występowania alergii pokarmowych, szczególnie wśród osób specjalizujących się w przygotowaniu żywności (Jędrusek-Golińska i in., 2010). Wiele uwagi poświęcono także poszukiwaniom odmian o możliwie najmniejszej alergenicności oraz badaniu wpływu różnych czynników na poziom głównych alergenów w owocach. Najwięcej badań dotyczy występowania i stężenia w jabłkach białka Mal d 1, ponieważ w naszej części Europy ten alergen ma przy spożywaniu jabłek przez osoby uczulone kluczowe znaczenie. Często występujące u osób uczulonych reakcje krzyżowe pomiędzy białkiem Mal d 1 a alergenami pyłków drzew z rzędu bukowatych, reprezentowanych m.in. przez brzozę, grab, buk, leszczynę, dąb biały, spowodowały poszukiwania hipoalergicznym odmian owoców, które pacjenci z łagodną alergią mogliby spożywać (Kootstra i in., 2007; Vlieg-Boerstra i in., 2013). Szczegółowe badania wskazują, że na zawartość alergenów w jabłkach wpływ mają nie tylko odmiana, lecz także warunki glebowe i klimatyczne, obecność szkodników, stopień dojrzałości owoców, wreszcie warunki i czas przechowywania zebranych owoców. Poziom alergenów zależy wyraźnie od odmiany jabłek. Na przykład Gao i in. (2008) w swoich badaniach za najmniej alergizujące uznali odmiany ‘Santana’ i ‘Priscill’, a za szczególnie mocno alergizujące – odmiany ‘Grany Smith’ i ‘Golden Delicious’. Również w innych pracach badacze wskazywali jabłka odmiany ‘Santana’ jako szczególnie hipoalergiczne. Na przykład Kootstra i in. (2007) na podstawie obserwacji medycznej 15 pacjentów uczulonych na jabłka stwierdzili, że ośmioro spośród nich (53%) nie wykazywało żadnej alergicznego reakcji po zjedzeniu jabłek omawianej odmiany. Podobną zależność pomiędzy właściwościami alergizującymi a odmianą jabłek stwierdza się także w owocach pochodzących z różnych obszarów Europy: Wielkiej Brytanii, Szwajcarii, północnych Włoch (Vlieg-Boerstra i in., 2013).

Na poziom białek alergennych w owocach wpływają dojrzałość, a także warunki hodowli i czas przechowywania. Na przykład wykazano, że pochodzące z upraw ekologicznych jabłka zawierają najczęściej mniej białka Mal d 1 niż owoce tej samej odmiany z hodowli konwencjonalnej (Matthes i Schmitz-Eiberger, 2009). Sancho i in. (2006) stwierdzili, że poziom Mal d 3 spada w czasie przechowywania. Na zawartość alergenów w jabłkach wpływa też skład atmosfery. Stwierdzono, że obecność przyspieszającego dojrzewanie etylenu zwiększa ekspresję genów kodujących białka Mal d 1 i Mal d

4, chociaż wielkość omawianych zmian była różna dla różnych genów (Yang i in., 2012). Również dodatek metylocyklopropanu (1-MCP), gazu spowolniającego dojrzewanie, wpływał na poziom alergenów w przechowywanych owocach. Kiewning i in. (2013a) stwierdzili, że w sześciu różnych odmianach przechowywanych jabłek zawartość białka Mal d 1 była mniejsza, jeśli w atmosferze był 1-MCP. Tylko w przypadku odmiany 'Boskoop' owoce przechowywane w atmosferze zawierającej 1-MCP zawierały więcej Mal d 1 niż te przechowywane bez wspomnianego związku. Szczegółowe badania ekspresji genów kodujących alergeny wykazały, że 1-MCP hamuje ekspresję większości genów Mal d 1 i działa szczególnie silnie w fazie wczesnego dojrzewania. Jednak ekspresje niektórych genów Mal d 1, a także genów Mal d 2 były przez omawiany gaz stymulowane. Różny był też wpływ obecności 1-MCP na poszczególne geny Mal d 4, natomiast nie zarejestrowano wpływu 1-MCP na ekspresje genów Mal d 3 (Yang i in., 2012).

Wykazano też, że spadek zawartości Mal d 1 w przechowywanych jabłkach może być związany z aktywnością oksydaz polifenolowych. Prawdopodobnie jest to efekt wiązania białek przez utlenione polifenole (Kiewning i in., 2013b).

Na poziom alergenów wpływa też naświetlenie. Badania wykazały, że w rosnących w miejscach zacienionych jabłkach, a szczególnie w ich skórce, jest mniej alergenów (Botton i in., 2008). Stwierdzono także, że jabłka pochodzące z hodowli ekologicznych zawierają zasadniczo mniej alergenów (Matthes i Schmitz-Eiberger, 2009).

Alergen Mal d 3 wykazuje znaczną termostabilność, podczas gdy pozostałe alergeny jabłek są wrażliwe na działanie wysokiej temperatury. Mal d 1 przy normalnym ciśnieniu ulega zniszczeniu w temperaturze 55°C (Husband i in., 2011). Wysokie ciśnienie, szczególnie skojarzone z podwyższoną temperaturą, niszczy alergeny jabłek i może być skuteczną metodą redukcowania alergennych właściwości tych owoców (Husband i in., 2011; Somkuti i in., 2011).

Podjęto także próby wyciszenia ekspresji występujących w jabłkach genów kodujących białka alergenów. Do genomu jabłoni wprowadzono DNA kodujący sekwencję komplementarną do specyficznego fragmentu intronowego mRNA dla białka Mal d 1. Powstający w zmodyfikowanej roślinie RNA interferujący (antysensowny) blokował ekspresję genu Mal d 1. W niektórych wyselekcjonowanych mutantach efekt wyciszenia był nawet 10 000 razy silniejszy. Testy hodowlane wykazały, że nabytą cechę wykrywa się nie tylko u zmodyfikowanych roślin rosnących w szklarni, lecz także u tych, które zostały użyte jako zrazy do szczepienia drzewek. Prowadzone w ciągu kolejnych trzech lat kontrole wykazały trwałość uzyskanej cechy ograniczenia alergenności (Gilissen i in., 2005; Krath i in., 2009). Jakkolwiek stosowanie modyfikacji genetycznych wydaje się skuteczną metodą ograniczania alergenności owoców, jednak wymagałoby dodatkowo przełamania nieufności konsumentów względem genetycznie modyfikowanej żywności.

Jabłka są owocami chętnie spożywanymi, zarówno ze względu na walory smakowe, jak i wyraźne właściwości prozdrowotne. Są źródłem witamin, błonnika pokarmowego, w tym przede wszystkim pektyn, wreszcie bardzo cenionych przeciwutleniaczy. Z tych względów podejmowane są badania czynników powodujących uczulenia na jabłka oraz często występujących reakcji krzyżowych pomiędzy alergenami jabłek a alergenami pochodzącymi z innych źródeł. Dokładna znajomość alergenów, ich budowy i działania pozwoli nie tylko na projektowanie odpowiednich testów medycznych diagnozujących

alergię, lecz także na opracowanie optymalnych diet dla osób uczulonych i na skuteczne poszukiwanie rozwiązań technologicznych prowadzących do uzyskania hipoalergicznym odmian jabłek.

## Literatura

- Asero, R., Mistrello, G., Roncarolo, D., Amato, S. (2006). PT with heat-processed apple peel extract to detect LTP hypersensitivity. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.*, 38, 10, 351–354.
- Atkinson, R. G., Perry, J., Matsui, T., Ross, G. S., Macrae, E. A. (1996). A stress-, pathogenesis-, and allergen-related cDNA in apple fruit is also ripening-related. *N. Z. J. Crop Hortic. Sci.*, 24, 1, 103–107.
- Bokszczanin, K. Ł., Przybyła, A. A. (2012). Molekularne aspekty alergii na produkty pochodzenia roślinnego. Cz. II. Białka związane z patogenezą (PR), alergogenność jabłek warunkowana genem Mal d 1. *Pol. Merkur. Lek.*, 32, 189, 176–181.
- Botton, A., Lezzer, P., Dorigoni, A., Barcaccia, G., Ruperti, B., Ramina, A. (2008). Genetic and environmental factors affecting allergen-related gene expression in apple fruit (*Malus domestica* L. Borkh.). *J. Agric. Food Chem.*, 56, 15, 6707–6716.
- Breiteneder, H., Ebner, C. (2000). Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 106, 1, 27–36.
- Carnés, J., Ferrer, A., Fernández-Caldas, E. (2006). Allergenicity of 10 different apple varieties. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 96, 4, 564–570.
- Fernández-Rivas, M., Bolhaar, S., González-Mancebo, E., Asero, R., van Leeuwen, A., Bohle, B., Ma, Y., Ebner, C., Rigby, N., Sancho, A. I., Miles, S., Zuidmeer, L., Knulst, A., Breiteneder, H., Mills, C., Hoffmann-Sommergruber, K., van Ree, R. (2006). Apple allergy across Europe: how allergen sensitization profiles determine the clinical expression of allergies to plant foods. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 118, 2, 481–488.
- Gao, Z., van de Weg, E. W., Matos, C. I., Arens, P., Bolhaar, S. T. H. P., Knulst, A. C., Li, Y., Hoffmann-Sommergruber, K., Gilissen, L. J. (2008). Assessment of allelic diversity in intron-containing Mal d 1 genes and their association to apple allergenicity. *BMC Plant Biol.*, 116, 8, 1–12.
- Gao, Z. S., Weg, W. E., Schaart, J. G., Arkel, G. V., Breiteneder, H., Hoffmann-Sommergruber, K., Gilissen, L. J. (2005a). Genomic characterization and linkage mapping of the apple allergen genes Mal d 2 (thaumatin-like protein) and Mal d 4 (profilin). *Theor. Appl. Genet.*, 111, 6, 1087–1097.
- Gao, Z. S., van de Weg, W. E., Schaart, J. G., van der Meer, I. M., Kodde, L., Laimer, M., Breiteneder, H., Hoffmann-Sommergruber, K., Gilissen, L. J. (2005b). Linkage map positions and allelic diversity of two Mal d 3 (non-specific lipid transfer protein) genes in the cultivated apple (*Malus domestica*). *Theor. Appl. Genet.*, 110, 3, 479–491.
- Gilissen, L. J., Bolhaar, S. T., Matos, C. I., Rouwendal, G. J., Boone, M. J., Krens, F. A., Zuidmeer, L., Van Leeuwen, A., Akkerdaas, J., Hoffmann-Sommergruber, K., Knulst, A. C., Bosch, D., Van de Weg, W. E., Van Ree, R. (2005). Silencing the major apple allergen Mal d 1 by using the RNA interference approach. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 115, 2, 364–369.
- Holm, J., Baerentzen, G., Gajhede, M., Ipsen, H., Larsen, J. N., Løwenstein, H., Wissenbach, M., Spangfort, M. D. (2001). Molecular basis of allergic cross-reactivity between group 1 major allergens from birch and apple. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.*, 756, 1–2, 307–313.
- Holm, J., Ferreras, M., Ipsen, H., Würtzen, P. A., Gajhede, M., Larsen, J. N., Lund, K., Spangfort, M. D. (2011). Epitope grafting, re-creating a conformational Bet v 1 antibody epitope on the surface of the homologous apple allergen Mal d 1. *J. Biol. Chem.*, 286, 20, 17569–17578.

- Husband, F. A., Aldick, T., Van der Plancken, I., Grauwet, T., Hendrickx, M., Skypala, I., Mackie, A. R. (2011). High-pressure treatment reduces the immunoreactivity of the major allergens in apple and celeriac. *Mol. Nutr. Food Res.*, 55, 1087–1095.
- Jędrusek-Golińska, A., Piasecka-Kwiatkowska, D., Hęś, M., Małecka, K. (2010). Wiedza na temat alergii pokarmowej wśród uczniów Zespołu Szkół Gastronomicznych w Bydgoszczy. *Nauka Przyr. Technol.*, 4, 2, #20.
- Kiewning, D., Baab, G., Schmitz-Eiberger, M. (2013a). Effect of 1-MCP treatment on the apple (*Malus domestica* L. Borkh.) allergen Mal d 1 during long-term storage. *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 53, 198–203.
- Kiewning, D., Wollseifen, R., Schmitz-Eiberger, M. (2013b). The impact of catechin and epicatechin, total phenols and PPO activity on the Mal d 1 content in apple fruit. *Food Chem.*, 140, 99–104.
- Kootstra, H. S., Vlieg-Boerstra, B. J., Dubois, A. E. J. (2007). Assessment of the reduced allergenic properties of the Santana apple. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 99, 6, 522–525.
- Krath, B. N., Eriksen, F. D., Pedersen, B. H., Gilissen, L. J. W. J., van de Weg, W. E., Dragsted, L. O. (2009). Development of hypo-allergenic apples: silencing of the major allergen Mal d 1 gene in ‘Elstar’ apple and the effect of grafting. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 84, 6, 52–57.
- Krebitz, M., Wagner, B., Ferreira, F., Peterbauer, C., Campillo, N., Witty, M., Kolarich, D., Steinkellner, H., Scheiner, O., Breiteneder, H. (2003). Plant-based heterologous expression of Mal d 2, a thaumatin-like protein and allergen of apple (*Malus domestica*), and its characterization as an antifungal protein. *J. Mol. Biol.*, 329, 721–730.
- Ma, Y., Zuidmeer, L., Bohle, B., Bolhaar, S. T., Gadermaier, G., González-Mancebo, E., Fernández-Rivas, M., Knulst, A. C., Himly, M., Asero, R., Ebner, C., van Ree, R., Ferreira, F., Breiteneder, H., Hoffmann-Sommergruber, K. (2006). Characterization of recombinant Mal d 4 and its application for component-resolved diagnosis of apple allergy. *Clin. Exp. Allergy*, 36, 8, 1087–1096.
- Matthes, A., Schmitz-Eiberger, M. (2009). Apple (*Malus domestica* L. Borkh.) allergen Mal d 1: effect of cultivar, cultivation system, and storage conditions. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 22, 10548–10553.
- Oberhuber, C., Ma, Y., Marsh, J., Rigby, N., Smole, U., Radauer, C., Alessandri, S., Briza, P., Zuidmeer, L., Maderegger, B., Himly, M., Sancho, A. I., van Ree, R., Knulst, A., Ebner, C., Shewry, P., Mills, E. N., Wellner, K., Breiteneder, H., Hoffmann-Sommergruber, K., Bublin, M. (2008). Purification and characterisation of relevant natural and recombinant apple allergens. *Mol. Nutr. Food Res.*, 52, Suppl. 2, 208–219.
- Pagliarani, G., Paris, R., Iorio, A. R., Tartarini, S., Del Duca, S., Arens, P., Peters, S., van de Weg, E. (2012). Genomic organisation of the Mal d 1 gene cluster on linkage group 16 in apple. *Mol. Breed.*, 29, 3, 759–778.
- Sancho, A. I., Foxall, R., Rigby, N. M., Browne, T., Zuidmeer, L., van Ree, R., Waldron, K. W., Mills, E. N. (2006). Maturity and storage influence on the apple (*Malus domestica*) allergen Mal d 3, a nonspecific lipid transfer protein. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 14, 5098–5104.
- Sancho, A. I., Rigby, N. M., Zuidmeer, L., Asero, R., Mistrello, G., Amato, S., González-Mancebo, E., Fernández-Rivas, M., van Ree, R., Mills, E. N. (2005). The effect of thermal processing on the IgE reactivity of the non-specific lipid transfer protein from apple, Mal d 3. *Allergy*, 60, 10, 1262–1268.
- Smole, U., Bublin, M., Radauer, C., Ebner, C., Breiteneder, H. (2008). Mal d 2, the thaumatin-like allergen from apple, is highly resistant to gastrointestinal digestion and thermal processing. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 147, 4, 289–298.
- Somkuti, J., Houska, M., Smeller, L. (2011). Pressure and temperature stability of the main apple allergen Mal d 1. *Eur. Biophys. J.*, 40, 2, 143–151.
- Vanek-Krebitz, M., Hoffmann-Sommergruber, K., Laimer da Camara Machado, M., Susani, M., Ebner, C., Kraft, D., Scheiner, O., Breiteneder, H. (1995). Cloning and sequencing of Mal d 1,

- the major allergen from apple (*Malus domestica*), and its immunological relationship to Bet v 1, the major birch pollen allergen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 214, 2, 538–551.
- Vlieg-Boerstra, B. J., van de Weg, W. E., van der Heide, S., Skypala, I., Bures, P., Ballmer-Weber, B. K., Hoffmann-Sommergruber, K., Zauli, D., Ricci, G., Dubois, A. E. (2013). Additional indications for the low allergenic properties of the apple cultivars Santana and Elise. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 68, 4, 391–395.
- Yang, X. T., Song, J., Campbell-Palmer, L., Walker, B., Zhang, Z. (2012). Allergen related gene expression in apple fruit is differentially controlled by ethylene during ripening. *Postharvest Biol. Technol.*, 63, 1, 40–49.

## ALLERGENIC PROPERTIES OF APPLES – MOLECULAR BASIS, FACTORS DETERMINING LEVEL OF ALLERGENS

**Summary.** Approximately 2% of the northern and central European population is allergic to apples. This explains why there is a lot of interest in allergenic properties of apples. This study presents four major identified allergens. Three of them – Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3 – are pathogenesis-related proteins. The fourth – Mal d 4 – is categorized as a profilin. This paper describes the influence of different factors such as apple variety, cultivation method and long term storage on the allergen content and synthesis of allergens in apples. The article describes attempts at growing hypoallergenic apples, safe for consumers with mild allergy.

**Key words:** apple allergens, cross-reactivity, hypoallergenic cultivars

*Adres do korespondencji – Corresponding address:*

*Maria Trzcińska, Katedra Inżynierii Bioprocusowej, Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu, ul. Komandorska 118/120, 53-345 Wrocław, Poland, e-mail: maria.trzcinska@ue.wroc.pl*

*Zaakceptowano do opublikowania – Accepted for publication:*

*16.04.2015*

*Do cytowania – For citation:*

*Trzcińska, M., Wilk, M. (2015). Alergizujące właściwości jabłek – podstawy molekularne, czynniki wpływające na poziom alergenów. Nauka Przyr. Technol., 9, 3, #45. DOI: 10.17306/J.NPT.2015.3.45*