

Molekulinė alergologija – ką reikia žinoti gydytojui praktikui?

MOLECULAR ALLERGOLOGY – WHAT A PRACTITIONER NEEDS TO KNOW?

EDITA GASIŪNIENĖ

LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinika

Santrauka. Šiuo metu beveik 40 proc. išsivysčiusių šalių gyventojų kenčia nuo alergijų. Pacientams simptomai pasireiškia įvairaus sunkumo alerginėmis reakcijomis: nuo pavienių simptomų iki anafilaksijos. Diagnozuojant alergines ligas, svarbu tinkamai surinkti paciento ligos anamnezę, išsiaiškinti simptomus, jų pasireiškimo laiką nuo alergeno patekimo į organizmą, atlikti fizinį paciento tyrimą bei patvirtinti įsijautrinimą. Dažniausiai atliekami odos dūrio mėginiai, specifiniai imunoglobulinai (Ig) E, tačiau kryžminėms reakcijoms patvirtinti arba paneigti atliekami tikslesni specifinių alergenų komponentų molekuliniai tyrimai, kuriais remiantis galima tiksliau parinkti gydymą bei numatyti galimas alergines reakcijas ateityje, sudaryti papildomą tyrimo planą.

Reikšminiai žodžiai: alergija, specifiniai IgE, molekulinė diagnostika.

Summary. Currently, almost 40% of the population in developed countries suffer from allergies. Patients experience various allergic reactions ranging from isolated symptoms to anaphylaxis. When diagnosing allergic diseases, it is crucial to collect properly patient's medical history, to document symptoms, to perform a physical examination of the patient, and confirm the sensitization. Skin prick tests, specific immunoglobulin (Ig) E are commonly used, but more accurate molecular tests for specific allergen components are performed to confirm or deny cross-reactions. These tests allow us to choose personalized treatment, anticipate possible allergic reactions in the future, or develop additional screening plan.

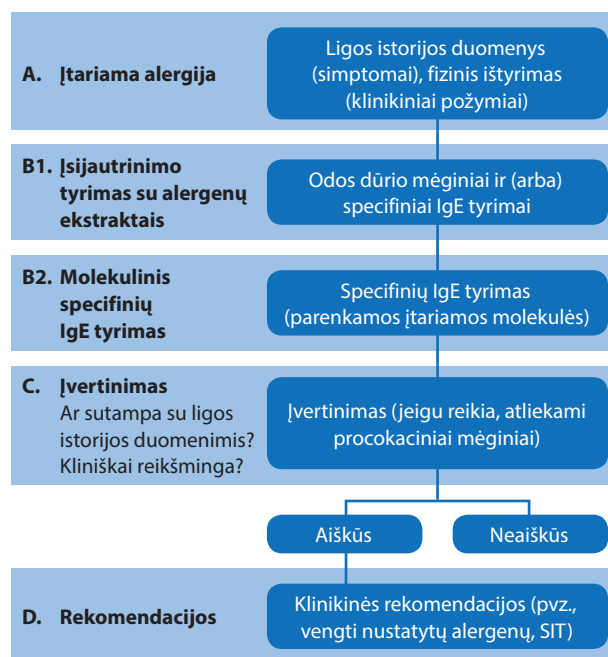
Keywords: allergy, specific IgE, molecular diagnostics.

ĮVADAS

Per pastaruosius 50 metų alerginės ligos dažnėja. Visame pasaulyje maždaug 40–50 proc. moksleivių nustatytas įsijautrinimas vienam arba daugiau alergenų [1]. Dažniausiai alergine liga, pvz., alerginiu rinitu serga apie 10–30 proc. populiacijos [2, 3]. Alerginių ligų diagnostika įprastai yra gana ilgas procesas. Diagnozuojant alergines ligas, svarbu tinkamai surinkti paciento ligos anamnezę, išsiaiškinti simptomus, jų pasireiškimo laiką nuo alergeno patekimo į organizmą, atlikti fizinį paciento tyrimą. Tačiau vienas svarbiausių alerginių ligų diagnostikos momentų yra sensibilizacijos patvirtinimas, kuris gali būti atliekamas keletu tyrimų. Dažniausiai atliekami odos dūrio mėginiai, dūrio-dūrio mėginiai, specifiniai imunoglobulinai (Ig) E, o neretai ir provokaciniai mėginiai [4]. Odos dūrio mėginiais netiesiogiai nustatomi antikūnai prieš specifinius alergenus. Kryžminėms reakcijoms patvirtinti arba paneigti atliekami tikslesni specifinių alergenų komponentų molekuliniai tyrimai [1, 2]. Taip galima tiksliau parinkti gydymą bei numatyti galimas alergines reakcijas ateityje, sudaryti papildomą tyrimo planą (1 pav.) [5].

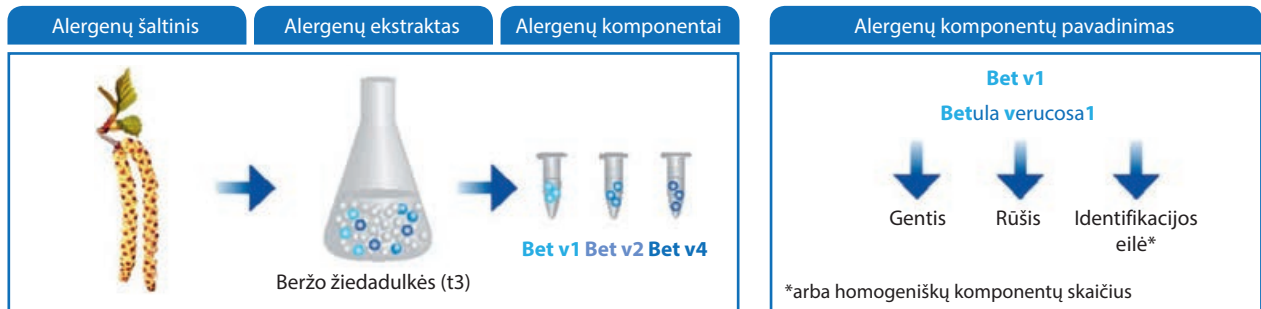
Alergenų gali būti beveik bet kuri medžiaga, kurios sudėtyje yra baltymų. Gydytojai šiuo metu gali naudotis keliais elektroniniais alergenų duomenų bankais (pvz., www.allergen.org arba www.allergome.org), į kuriuos įtraukta beveik 8000 skirtingų alergenų. Dažniausiai

alergeno sudėtyje būna daug skirtingų baltymų, tačiau ne visi sukelia vienodo stiprumo alergines reakcijas [5]. Iki šiol IgE antikūnai buvo nustatomi naudojant alergenų ekstraktus, kurių sudėtyje yra alergijas sukeliančių atitinkamo alergeno baltymų (komponentų) mišiniai.

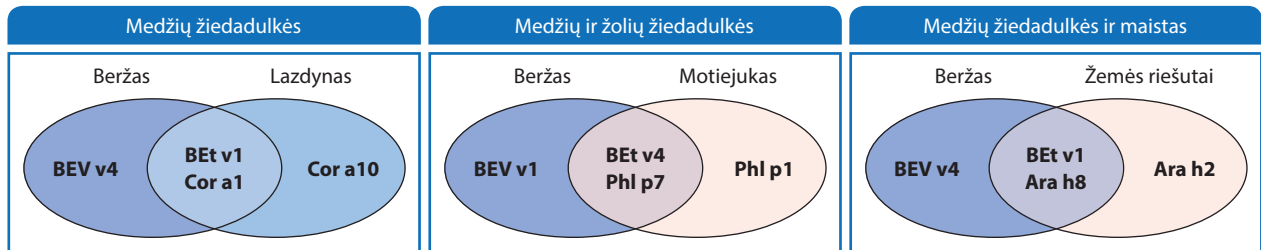


1 pav. Tyrimų planas su tiksline molekuline diagnostika [1]

IgE – imunoglobulinas E; SIT – specifinė imunoterapija.



2 pav. Alergenų sudėtinės dalys bei alergenu komponentų pavadinimo sudarymo schema



3 pav. Beržo alergenu kryžminių reakcijų su kitų medžių, žolių žiedadulkėmis arba maistu pavyzdžiai

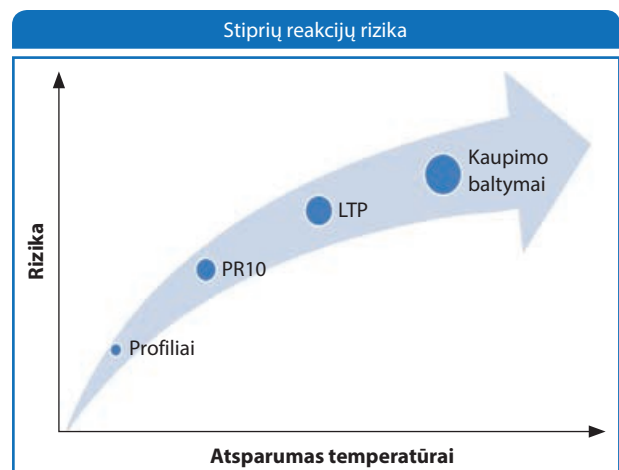
Bet v1, Bet v4 – beržo alergenu komponentai; Cor a1, Cor a 10 – lazdyno alergenu komponentai; Phl p1, Phl p7 – motiejuko alergenu komponentai; Ara h2, Ara h8 – lazdyno riešutu alergenu komponentai.

Deja, šie ekstraktai nėra standartizuoti, todėl skirtingų gamintojų tyrimo rezultatai negali būti lyginami. Tuo tarpu molekulinė alergijų diagnostika naudoja tiksliai apibrėžtus alergenu komponentus, kurie arba tiesiogiai išskirti iš alergenu šaltinio, arba sukurti rekombinantiskai [6]. Tai suteikia galimybę tyrimų standartizacijai ir diagnostikos diferenciacijai (2 pav.).

KOKIE MOLEKULINĖS ALERGIJŲ DIAGNOSTIKOS PRIVALUMAI?

Kryžminių reakcijų identifikavimas

Alergenų komponentai yra unikalūs konkrečiam alergenu šaltiniui ir rūšiai, tačiau jie gali būti struktūriškai labai panašūs į kitų alergenu komponentus. Kiekvienas alergenu komponentas sudarytas iš keleto skirtingų sudėtinių dalių, vadinamų epitopais. Epitopas – erdvinė specifinio IgE prisijungimo vieta. Skirtingų alergenu epitopai gali būti panašūs savo erdvine struktūra. Dėl šio panašumo IgE antikūnai gali reaguoti su keletu alergenu komponentų, sukeldami kryžmines reakcijas [2]. Pavyzdžiui, žiedadulkėms alergiškas pacientas, turintis patvirtintą Bet v1 jautrumą beržų žiedadulkėms, greičiausiai reaguos ir į komponentą Cor a1 iš lazdyno žiedadulkių. Tačiau Bet v1 sukeltos kryžminės reakcijos su žolėmis mažai tikėtinos, nes žolių žiedadulkėse nėra Bet v1 komponento. Jei beržo žiedadulkėms alergiškas pacientas vis dėlto reaguoja ir į žolės, to priežastis gali būti bendri beržo ir žolių žiedadulkių alergenai, kurie gali sukelti kryžmines reakcijas. Komponentas Bet v1 randamas ne tik medžių žiedadulkėse, bet ir maisto produktuose. Bet v1



4 pav. Baltymų šeimų atsparumas temperatūrai ir stiprių alerginių reakcijų rizika

Bet v1 homologai; LTP – nespecifiniai riebalų pernešimo baltymai (angl. non-specific Lipid Transfer Protein); PR-10 – pathogenesis-related proteins.

specifiniai antikūnai gali reaguoti su Ara h8 iš riešutu. Jei tai sukelia simptomus, daroma išvada, kad tai su beržo žiedadulkėmis susijusi maisto alergija (3 pav.).

Rizikos nustatymas ir valdymas

Alergenų komponentai priklauso įvairioms baltymų šeimoms. Per pastaruosius kelis dešimtmečius sukaupta daug žinių apie baltymų struktūrą, priklausymą vienai arba kitai alergenu šeimai, atsparumą fiziniams (pvz., karščiui) ir fiziologiniams (pvz., virškinimui) veiksniams, leidžia racionaliai naudoti alergenu komponentus tiksliai alergenu diagnostikai. Pagrindiniai baltymų

Pulmonologija ir alergologija

Lentelė. Pagrindinės kryžmiškai reaguojančių baltymų šeimų savybės [1, lietuviška adaptacija 5].

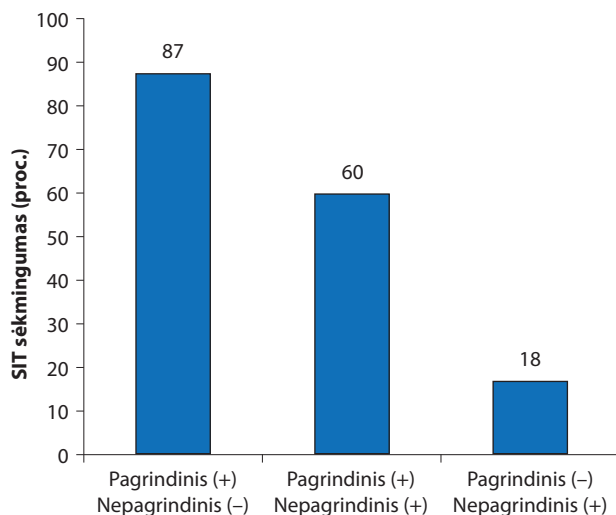
| |
|--|
| Saugojimo / kaupimo baltymai (angl. Storage proteins) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Alergenas, esantis riešutuose ir sėklose (pvz., Ara h2) • Atsparus karščiui ir virškinimui (reakcijos į termiškai apdorotą maistą) • Susiję su sunkiomis, sisteminėmis alerginėmis reakcijomis kartu arba be burnos alergijos sindromu (BAS) • Retos kryžminės reakcijos tarp šios šeimos skirtingų alergenų rūšių |
| Nespecifiniai riebalų pernašos baltymai (angl. non-specific Lipid Transfer Protein, nSLTP) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Alergenai, esantys vaisiuose, daržovėse, riešutuose ir žiedadulkėse (pvz., persiko – Pru p3) • Atsparūs karščiui ir virškinimui • Kaip maisto alergenai, dažnai susiję su sunkiomis, sisteminėmis alerginėmis reakcijomis kartu arba be BAS • Kryžminių reakcijų dažnis tarp šios alergenų šeimos rūšių yra įvairus. |
| Tropomiozinas (angl. Tropomyosin) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Alergenas, esantis vėžiagyviuose (pvz., krevetėse, krabuose), namų dulkių erkėse, tarakonuose ir apvaliosiose kirmėlėse (nematoduose) • Atsparus karščiui ir virškinimui • Kaip maisto alergenai dažnai susiję su sunkiomis, sisteminėmis alerginėmis reakcijomis kartu arba be BAS • Labai dažnos kryžminės reakcijos tarp šios alergenų šeimos rūšių |
| Lipokalinai (angl. Lipocalins) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Alergenų komponentas, esantis plaukuotuose gyvūnuose (pvz., šuns – Can f1) • Kryžminių reakcijų dažnis tarp šios alergenų šeimos rūšių yra įvairus |
| Parvalbuminai (angl. Parvalbumins) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Žuvyse ir varliagyviuose esantys alergenų komponentai (pvz., menkės – Gad c1) • Atsparūs karščiui ir virškinimui • Kaip maisto alergenai dažnai susiję su sunkiomis, sisteminėmis alerginėmis reakcijomis kartu arba be BAS • Labai dažnos kryžminės reakcijos tarp šios alergenų šeimos rūšių |
| Serumo albuminai (angl. Serum albumins) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Gyvūnuose esantys alergenų komponentai (pvz., karvės piene, kraujyje, jautienoje arba epitelyje; katės – Fel d2) • Kaitinant ir virškinant ne visuomet suyra • Įsijautrinus serumo albuminui, retai galimos reakcijos į maistą (pvz., katės ir kiaulienos sindromas) • Dažnos serologinės kryžminės reakcijos tarp šios alergenų šeimos rūšių, tačiau klinikinis reikšmingumas nežinomas |
| PR-10 baltymai, Bet v1 homologai (angl. pathogenesis-related proteins) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Alergenų komponentai, esantys žiedadulkėse, vaisiuose, daržovėse ir riešutuose (pvz., beržų – Bet v1) • Daug PR-10 baltymų yra jautrūs karščiui ir virškinimui, termiškai apdorotas maistas dažniausiai toleruojamas gerai • Dažnai susiję su vietiniais simptomais, burnos alerginiu sindromu • Kryžminių reakcijų dažnis tarp šios alergenų šeimos rūšių yra įvairus |
| Polkalcinai (kalcį sujungiantys baltymai) (angl. Polcalcins) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Alergenų komponentai, esantys grūdinių kultūrų, medžių ir žolių žiedadulkėse (ne maisto produktuose; pvz., beržų – Bet v4) • Dažnos kryžminės reakcijos tarp šios alergenų šeimos rūšių |
| Profilinai (angl. Profilin) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Alergenų komponentai, esantys augalinės kilmės alergenuose bei maisto produktuose (pvz., grūdai, žolės, lateksas ir medžių žiedadulkės), (pvz., motiejukų – Phl p12) • Neatsparūs karščiui ir virškinimui, termiškai apdorotas maistas dažniausiai gerai toleruojamas • Įsijautrinimas retai susijęs su klinikiniais simptomais, tačiau kai kuriems pacientams pasitaiko vietinių ar netgi sunkių reakcijų • Dažnos kryžminės reakcijos tarp šios alergenų šeimos rūšių |
| Kryžmiškai reaguojanti karbohidratinė determinantė (CCD) (angl. Cross-reactive Carbohydrate Determinant) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Karbohidratinės grandinės yra žiedadulkėse, augalinės kilmės maiste, vabzdžiuose ir plėviasparnių nuoduose • CCD yra kryžminio įsijautrinimo žymuo • Retos alerginės reakcijos, tačiau galimi klaidingai teigiami in vitro tyrimo rezultatai tarp CCD turinčių alergenų • Labai dažnos kryžminės reakcijos tarp šios alergenų šeimos rūšių |

Ara h2 – žemės riešutų alergenų komponentas; BAS – burnos alergijos sindromas; Bet v1, Bet v4 – beržo alergenų komponentai; Can f1 – šuns alergenų komponentas; CCD – kryžmiškai reaguojanti karbohidratinė determinantė; Fel d2 – katės alergenų komponentas; Phl p12 – motiejuko alergenų komponentai; Pru p3 – persiko alergenų komponentas; Gad c1 – menkės alergenų komponentas.

šeimų požymiai pateikiami lentelėje. Kai kurie baltymai gali sukelti stiprias alergines reakcijas, jei pacientas jautrus, pavyzdžiui, profilinų šeimos alergenams, galima tikėtis mažiau išreikštų simptomų (4 pav.). Tuo tarpu pacientai, kurie jautrūs kaupimo baltymų šeimai, turi didelę sisteminių reakcijų riziką ir su savimi turėtų nešiotis pirmosios pagalbos rinkinį. Be to, baltymų šeimos skiriasi savo atsparumu temperatūrai, dėl to šis veiksnys turi didelę reikšmę maisto reakcijoms. Temperatūrai neatsparūs alergenų komponentai (profilinai, PR10 baltymai), ruošiant maistą, dažniausiai denatūruojasi ir alerginės reakcijos rizika sumažėja [7].

Tinkamo gydymo parinkimas

Priklausomai nuo to, kuris alergenai sukelia reakciją, alergijos gali būti gydomos vengiant atitinkamų alergenų arba taikant specifinę imunoterapiją (SIT). SIT dažniausiai būna sėkminga, jei pacientas pirmiausia jautrus pagrindiniams alergenų ekstraktų komponentams, kitaip dar vadinamiems pagrindiniams alergenais



5 pav. Specifinės imunoterapijos (SIT) veiksmingumas priklauso nuo to, kokiems alergeno komponentams yra įsijautrinęs pacientas. SIT dažniausiai būna sėkmingiausia, jei pacientas pirmiausia jautrus pagrindiniams alergenams ir nėra įsijautrinęs nepagrindiniams

SIT – specifinė imunoterapija.

(5 pav.) [1]. Tik molekulinė alergijų diagnostika gali suteikti šią informaciją. Tuomet gydytojas gali skirti optimalų gydymą. Tuo tarpu pacientas gauna labai tikslų planą, kaip ir kokių alergenų vengti bei nepatiria nuostolių vartojant SIT, kuri yra mažai veiksminga.

KLINIKINIAI PAVYZDŽIAI

Tomas ir Lina tą pačią dieną apsilankė pas gydytoją alergologą ir klinikinį imunologą pasireiškus nespecifiniams simptomams (jautrumas burnoje, egzema, šleikštulys, rinokonjuktyvitas). Po detalios anamnezės gydytojas nusprendžia atlikti atrankinį IgE antikūnų tyrimą prieš maisto alergenų. Abiem pacientams diagnozuotas jautrumas žemės riešutams. Norint nustatyti sisteminės reakcijos ir anafilaksinio šoko riziką, kitame etape atliekamas molekulinės alergijų diagnostikos tyrimas (6 pav.).

Tomo rezultatai

Nėra reakcijos specifiniams žemės riešutų alergenų komponentams Ara h1, Ara h2, Ara h3, Ara h9, tačiau yra jautrumas Bet v1 beržo žiedadulkėms. Išvados: pirminis jautrumas beržo Bet v1, Ara h8 komponentams ir su beržo žiedadulkėmis susijusia maisto alergija dėl kryžminės reakcijos [7].

Rekomenduojamas gydymas: SIT prieš beržo žiedadulkes turi didelę sėkmės tikimybę. Kadangi Tomas jautrus pagrindiniam alergenui Bet v1 su numanomu kryžminiu reaktyvumu Ara h8 (žemės riešutai), tikėtina, kad žiedadulkių sukelta maisto alergija bus taip pat sušvelninta taikant SIT.

Linos rezultatai

Teigiama reakcija specifiniams žemės riešutų alergenų komponentams Ara h1, Ara h2, Ara h3, tačiau neigiama reakcija Bet v1 beržo žiedadulkėms. Išvados: žemės riešutų alergija su didele sisteminių reakcijų tikimybe, nes Lina jautri keletui kaupimo baltymų (Ara h1, Ara h2, Ara h3) [8].

Rekomenduojamas gydymas: būtina griežtai vengti alergenų. Lina turėtų visada nešiotis skubiosios pagalbos rinkinį.

| | Alergenas | Koncentracija | Klasė | Linos rezultatai | | | | | |
|---------------------------|---------------------------------|--------------------------|--------|------------------------|---|---|---|---|---|
| | | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| PR-10 baltymas | rBet v1 (beržas) (t215) | 34 kU/l <0,35 kU/l | 4 0 | [Mėlyna spalva: 4, 0] | | | | | |
| Atsargų baltymas | rAra h1 (žemės riešutai) (f422) | <0,35 kU/l 55 kU/l | 0 5 | [Raudona spalva: 0, 5] | | | | | |
| Atsargų baltymas | rAra h2 (žemės riešutai) (f423) | <0,35 kU/l 27 kU/l | 0 4 | [Raudona spalva: 0, 4] | | | | | |
| Atsargų baltymas | rAra h3 (žemės riešutai) (f424) | <0,35 kU/l 69 kU/l | 0 5 | [Raudona spalva: 0, 5] | | | | | |
| Lipidų pernešimo baltymas | rAra h9 (žemės riešutai) (f427) | <0,35 kU/l <0,35 kU/l | 0 0 | [Mėlyna spalva: 0, 0] | | | | | |

6 pav. Molekulinės alergijos diagnostika. Tomo rezultatai pateikiami mėlyna spalva, o Linos – raudona

Pulmonologija ir alergologija

APIBENDRINIMAS

Remiantis tarptautinėmis rekomendacijomis, alerginių ligų diagnostika pradama odos dūrio mėginiais (pirmojo pasirinkimo tyrimas) arba specifiniais IgE (antrojo pasirinkimo tyrimas). Molekulinė alergijų diagnostika dažniausiai yra trečiojo pasirinkimo tyrimas, kuris skiriamas tuomet, kai nepavyko pirmojo ir antrojo pasirinkimo tyrimais nustatyti išsijautrinimo arba siekiama atskirti pirminį išsijautrinimą nuo kryžminių reakcijų, taip pat nuspėti alerginių reakcijų sunkumą, išvengti nereikalingų maisto produktų ribojimo, parenkant specifinę imunoterapiją [7].

LITERATŪRA

1. **Canonica GW, Ansotegui IJ, Pawankar R, Schmid-Grendelmeier P, van Hage M, Baena-Cagnani CE, et al.** A WAO - ARIA - GA(2)LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics. *World Allergy Organ J.* 2013; 6(1):17.
2. **Kleine-Tebbe J, Jappe U.** Molecular allergy diagnostic tests: development and relevance in clinical practice. *Allergol Select.* 2017; 1(2):169-89.
3. **Borges MS, Martin BL, Muraro AM, Wood RA, Agache IO, Ansotegui IJ, et al.** The importance of allergic disease in public health: an iCAALL statement. *World Allergy Organ J.* 2018; 11(1):8.
4. **Pawankar R, Canonica GW, Holgate ST, Lockey RE, editors.** WAO White book on Allergy 2011-2012 Executive Summary. World Allergy Organization; 2012. Available from: https://www.worldallergy.org/UserFiles/file/WAO-White-Book-on-Allergy_web.pdf
5. **Linauskiene K.** Molekulinė alergijos maistui diagnostika. *Alergija. Astma. Imunologija.* 2018; 1(9):17-22.
6. **Valenta R, Niederberger V.** Recombinant allergens for immunotherapy. *Clin Immunol.* 2007; 119(4):826-30.
7. **Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R, Hilger C, Hofmaier S, et al.** EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016; 27(S23):1-250.
8. **Mittag D, Akkerdaas J, Ballmer-Weber BK, Vogel L, Wensing M, Becker WM, et al.** Ara h 8, a Bet v 1-homologous allergen from peanut, is a major allergen in patients with combined birch pollen and peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; 114(6):1410-7.
9. **Astier C, Morisset M, Roitel O, Codreanu F, Jacquenet S, Franck P, et al.** Predictive value of skin prick tests using recombinant allergens for diagnosis of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2006; 118(1):250-6.