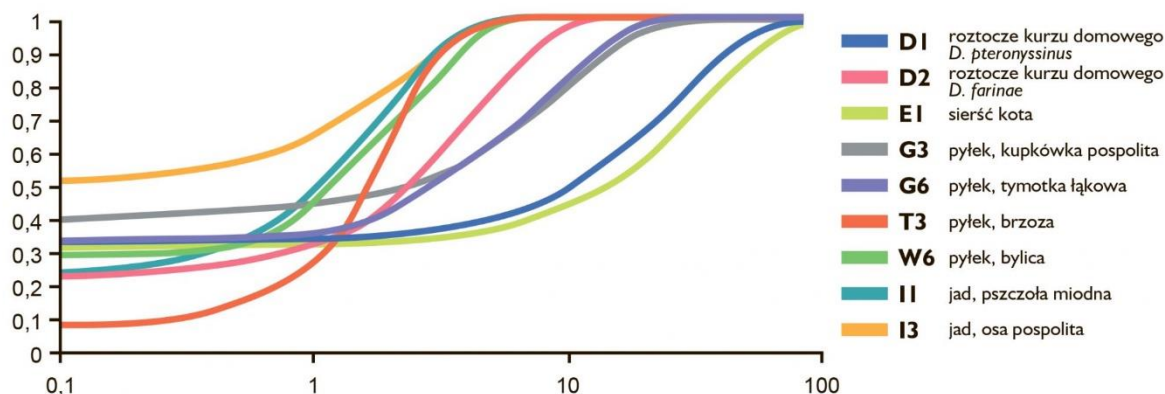


Implikacje kliniczne i diagnostyczne pomiarów sIgE

Obecność IgE swoistej (sIgE) dla danego alergenu we krwi stanowi dowód uczulenia na ten alergen o prawdopodobieństwie manifestacji klinicznej proporcjonalnym do stężenia sIgE. Krzywe ilustrujące tę zależność, tj. prawdopodobieństwo objawów w funkcji stężenia sIgE, mają postać simoidalnych krzywych logistycznych w układzie współrzędnych, w którym na osi Y zaznaczone jest prawdopodobieństwo objawów, a na osi X stężenie sIgE. W oparciu o pomiary sIgE wykonywane przy użyciu ekstraktów alergenowych wykazywano, niekiedy zaskakująco duże, wg ówczesnej wiedzy, różnice kształtu krzywych logistycznych dla alergenów z pokrewnych źródeł, przykładowo, roztoczy kurzu domowego: *D. pteronyssinus*, D1, vs. *D. farinae*, D2. Istotność różnic pomiędzy przebiegiem krzywych logistycznych szacowana jest za pomocą ilorazu szans – OR (ang. odds ratio), który ocenia, czy różnice są przypadkowe, czy też wskazują na istotny statystycznie trend. Różnice są zaniedbywalne, gdy OR oscyluje wokół 1, nieistotne statystycznie poniżej 2, a przekonujące gdy OR przekracza 5. Z krzywych logistycznych opublikowanych w technicznym, wstępnym, raporcie firmy DPC z początku wieku (obecnie właścicielem protokołów testów jest firma Siemens) wynika, że w przypadku *D. farinae* (d2 lub D2) 80% prawdopodobieństwo objawów klinicznych odpowiada stężeniu sIgE równemu 7,6 kU/l, podczas gdy w przypadku *D. pteronyssinus* (d1 lub D1) stężeniu 46 kU/ml. OR przypisane takiej różnicy przekracza znacznie 10.



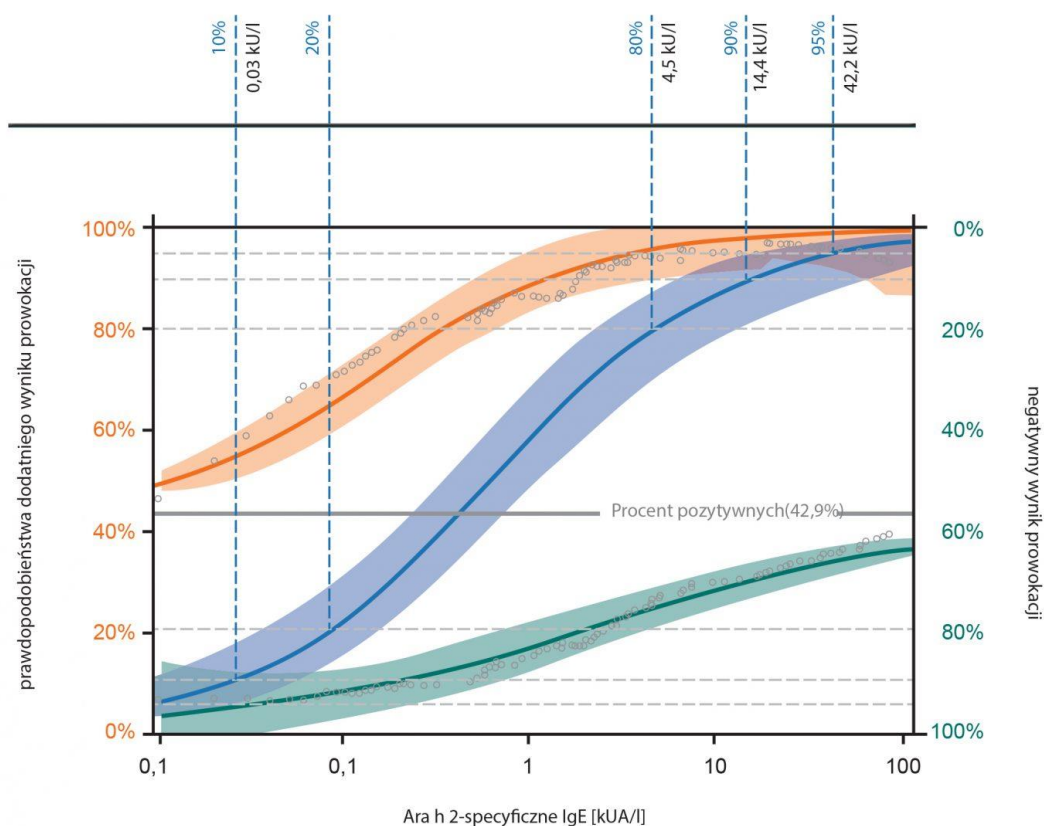
Krzywa logistyczna. Prawdopodobieństwo objawowej alergii w zależności od stężenia IgE swoistej dla ekstraktu alergenu diagnostycznego. Pomiary w systemie 3gAllergy® Siemens wykorzystującym ekstrakty alergenów diagnostycznych w formie rozpuszczalnej; wyniki raportowane w zakresie od 0,10 do 100 kU/l. Oś Y: prawdopodobieństwo (skala liniowa); oś X: stężenie IgE, kU/l (skala logarytmiczna).

Wykazanie niespodziewanych różnic krzywych logistycznych dla alergenów uważanych intuicyjnie za „bliskie” było jedną z przestanek skłaniających do analizowania

Diagnostyka+

uczulenia w oparciu o znajomość biochemicznych/fizycznych właściwości molekularnych składników alergenów. Pociągnięto to konieczność zdefiniowania pojęcia alergenu i legło u podstaw molekularnej diagnostyki alergii, określanej również skrótem CRD (ang. component resolved diagnostics), oznaczającym diagnostykę wskazującą uczulające komponenty molekularne. Funkcjonalnie, komponentami molekularnymi alergenów są te składniki natywnego źródła alergenów, które zawierają epitopy dla klonów przeciwciał IgE generowanych przez to źródło alergenów. Źródłami alergenów są, przykładowo: mleko krowie, pyłek roślinny, odchody roztoczy. IgE swoista dla źródła alergenu (wiązana przez ekstrakt źródła alergenu) jest więc koktajlem wielu sIgE rozpoznających jego poszczególne składniki molekularne.

Współczesną, zaawansowaną, wersję analizy krzywej logistycznej dla alergenu molekularnego orzeszka ziemnego Ara h 2 przedstawiono poniżej (Rysunek poniżej). Na ilustracji uwzględniono przedział ufności dla zbioru danych wykorzystanych dla wykreślenia krzywej logistycznej oraz krzywe dla dodatniej i ujemnej wartości predykcyjne pojedynczego wyniku pomiaru sIgE dla Ara h 2. Poza danymi odczytywanymi z wykresów, w oparciu o znajomość charakterystyki Ara h 2 należy wnosić, że pacjent uczulał się począwszy od wieku niemowlęcego oraz że grożą mu ciężkie systemowe reakcje alergiczne nawet w przypadku kontaktu z poddanymi obróbce cieplnej orzeszkami.



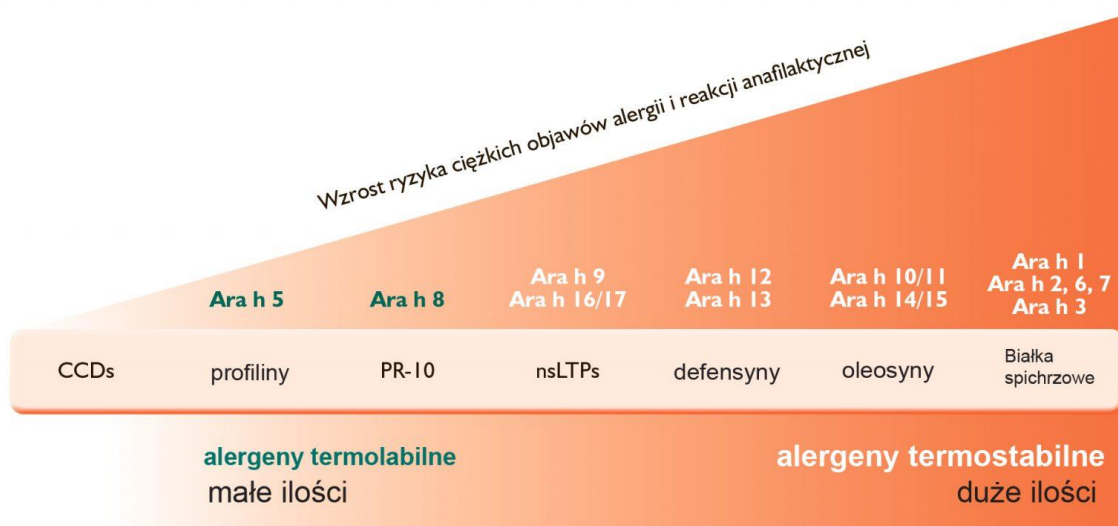
DIAGNOSTYKA S.A.

ul. prof. M. Życzkowskiego 16, 31-864 Kraków; tel. +48 12 29 50 100; fax: +48 12 29 50 108; www.grupadiagnostyka.pl
Spółka wpisana do Krajowego Rejestru Sądowego prowadzonego przez Sąd Rejonowy dla Krakowa-Śródmieścia w Krakowie,
XI Wydział Gospodarczy Krajowego Rejestru Sądowego pod numerem KRS 0000918455; NIP: 675-12-65-009; REGON: 356366975;
BDO 000002130; Kapitał zakładowy 33.756.500 zł

Ryzyko objawowej alergii na orzeszki ziemne przedstawione w funkcji stężenia sIgE dla Ara h 2 (białko zapasowe – albumina 2S). Stężenie sIgE na osi X. Zależność ma postać krzywej sigmoidalnej (granatowa krzywa przedstawiona na tle zaznaczonego na niebiesko przedziału ufności). Za punkt odniesienia dla stężenia sIgE przyjęto dodatni lub ujemny wynik prowokacji doustnej. U góry ilustracji podano odczytane z krzywej stężenia sIgE dla wybranych poziomów prawdopodobieństwa dodatniego wyniku prowokacji (ryzyko: 10%, 20%, 80%, 90%, 95%). Na lewej osi Y, za pomocą czerwonych cyfr, przedstawiono w procentach dodatnią wartość predykcyjną pojedynczego wyniku plasującego się w polu przedziału ufności czerwonej krzywej (prawdopodobieństwa dodatniej wielkości predykcyjnej w zależności od stężenia sIgE); na prawej osi Y, za pomocą zielonych cyfr, przedstawiono w procentach ujemną wartość predykcyjną pojedynczego wyniku plasującego się w polu przedziału ufności zielonej krzywej (prawdopodobieństwa ujemnej wielkości predykcyjnej w zależności od stężenia sIgE). Wg. Molecular allergology, User's guide, 2016, zmienione.

Osobie uczulonej na jajko kurze, u której wskazano ciepłochwiejną liwetynę żółtka (Gal d 5) jako cząsteczkę uczulającą, zalecić należy w oparciu o znajomość właściwości Gal d 5, ograniczenie spożywania jajek gotowanych lub pieczonych, równocześnie sygnalizując możliwość rozwinięcia alergii na ptasie pierze, powodowanej przez liwetynę obecną w ptasich piórach (zespół drób-jajko kurze).

Znajomość charakteru i struktury alergenu molekularnego pozwala na ocenę jego immunogenności oraz odporności na działanie czynników chemicznych i fizycznych mogących immunogenność modyfikować. Wiadomo, że alergeny molekularne z dominującymi epitopami liniowymi (tzn. określoną sekwencją aminokwasów) wykazują termostabilność i odporność na działanie enzymów proteolitycznych, podczas gdy epitopy przestrzenne (odcinki różnych łańcuchów peptydowych), łatwo ulegające denaturacji, są termolabilne i wrażliwe na proteolizę. Wykazano, że odporność alergenów molekularnych na działanie enzymów trawiennych i denaturację cieplną (ciepłostabilność) jest dodatnio skorelowana z ryzykiem ciężkich objawów alergii i reakcji anafilaktycznej (Rysunek poniżej).



Wzrost ryzyka ciężkich objawów alergii i reakcji anafilaktycznej (od lewej do prawej na rysunku) wraz ze wzrostem odporności alergenów molekularnych na działanie ciepła, na przykładzie istotnych diagnostycznie alergenów molekularnych orzeszka ziemnego. **Kolor zielony: alergeny termolabilne** o wysokiej reaktywności krzyżowej z alergenami pyłku roślin; **Kolor żółty: alergeny termostabilne** o wysokiej odporności na trawienie. Rodziny alergenów, do których przynależą uwzględnione na rysunku alergeny – **CCDs** (ang. Cross-reactive carbohydrate determinants) – reagujące krzyżowo determinanty cukrowe; **Profiliny** – panalergen roślinny; **PR-10** – białka związane z patogenezą klasy 10 (ang. pathogenesis-related class 10); **nsLTP** – niespecyficzne białka transportujące lipidy (ang. non-specific lipid transfer proteins); **Defensyny** – białka obronne o działaniu przeciwwgrzybiczym, przeciwbakteryjnym i hamującym działanie enzymów owadzich; **Oleosyny** – obecne w ciątkach tłuszczowych (oleosomach) nasion; **Białka spichrzowe**. Wg. Molecular allergology, User's guide, 2016, zmienione.

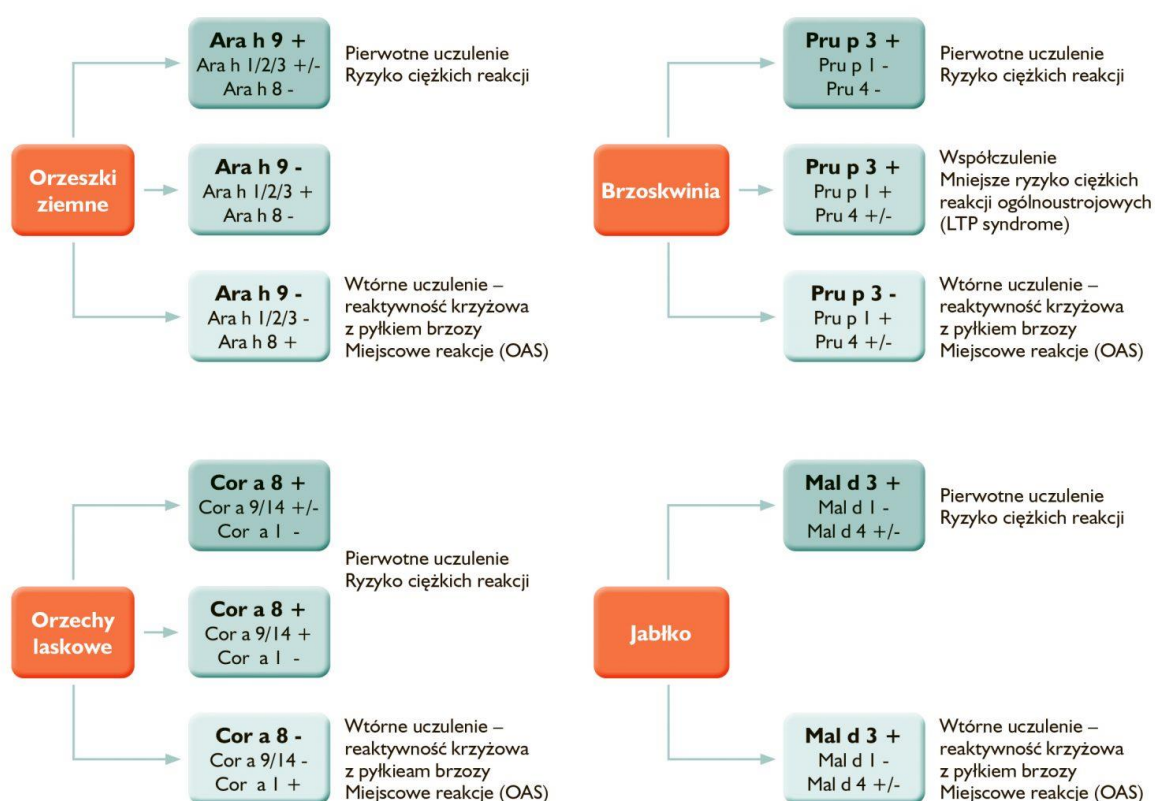
Różnicowanie charakteru uczulenia w oparciu o identyfikację sIgE dla alergenów molekularnych

Dodatkowo wyniki testów skórnych oraz testy in vitro wykonywane przy użyciu ekstraktów alergenowych potwierdzają wynikające z wywiadu podejrzenie uczulenia, ale charakter uczulenia i związane z nim ryzyko mogą zostać sprecyzowane jedynie przez wykonanie testów in vitro z zastosowaniem odpowiednio dobranych alergenów molekularnych obecnych w zastosowanym ekstrakcie źródła alergenu.

Przykładowo, w przypadku alergii na pokarm roślinny, przeciwciężka IgE swoiste dla nsLTP są ważnym markerem prawdziwej alergii pokarmowej z wysokim ryzykiem ciężkich reakcji ogólnoustrojowych, podczas gdy objawy alergii pokarmowej związanej

Diagnostyka+

z uczuleniem na homologi Bet v 1 i Bet v 2 u osób uczulonych na brzozę są łagodne (zespół alergii jamy ustnej). Idąc dalej, w przypadku brzoskwini Pru p 3 jest markerem ryzyka ciężkiej reakcji, podczas gdy jednoczesna obecność przeciwciał IgE swoistych dla Pru p 3 i Pru p 1 ryzyko takich reakcji obniża. Sugeruje się, że określenie korelacji stężenia sIgE dla nsLTP z nasileniem objawów (porównaj Rysunek powyżej) poprawi skuteczność diagnozy. Wybrane przykłady różnicowania charakteru uczulenia w oparciu o identyfikację sIgE dla nsLTP jako alergenów krytycznych przedstawiono na rysunku poniżej. Nieznajomość charakteru uczulenia na ogół skutkuje koniecznością rozszerzania zakresu eliminacji pokarmu pochodzenia roślinnego.



Różnicowanie charakteru uczulenia w oparciu o identyfikację sIgE dla alergenów molekularnych. Rozpoznanie wstępne oparte na testach in vitro z ekstraktami źródła alergenów lub na testach skórnych. Diagnostyka w kierunku alergii na: (a) orzeszek ziemny, (b) brzoskwinię, (c) orzech laskowy i (d) jabłko. Wytłuszczono różnicujące alergeny molekularne z rodziny nsLTP. Przynależność alergenów uwzględnionych w powyższych schematach diagnostycznych do rodzin. **Orzeszek ziemny**: Ara h 1,2,3 – białka spichrzowe; Ara h 8 – PR-10. **Orzech laskowy**: Cor a 1 – PR-10; Cor a 8 – nsLTP. **Brzoskwinia**: Pru p 1 – PR-10; Pru p 3 – nsLTP; Pru p 4 – profilina. **Jabłko**: Mal d 1 – PR-10; Mal d 3 – nsLTP; Mal d 4 – profilina. Wg. Molecular allergology, User's guide, 2016.

Autor: dr Tomasz Ochątek, Laboratoria Medyczne Diagnostyka

DIAGNOSTYKA S.A.

ul. prof. M. Życzkowskiego 16, 31-864 Kraków; tel. +48 12 29 50 100; fax: +48 12 29 50 108; www.grupadiagnostyka.pl

Spółka wpisana do Krajowego Rejestru Sądowego prowadzonego przez Sąd Rejonowy dla Krakowa-Śródmieścia w Krakowie, XI Wydział Gospodarczy Krajowego Rejestru Sądowego pod numerem KRS 0000918455; NIP: 675-12-65-009; REGON: 356366975; BDO 000002130; Kapitał zakładowy 33.756.500 zł