

Új korszak az allergia diagnosztikájában: molekuláris alapú allergiadiagnosztika

SIPKA SÁNDOR

DEBRECENI EGYETEM, ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR, KLINIKAI IMMUNOLÓGIAI TANSZÉK

A molekuláris (komponens) alapú (MA) allergiadiagnosztika molekuláris szinten, tisztított természetes vagy rekombináns technikával előállított allergének, és nem a korábról ismert allergénkivonatok alkalmazásán alapszik. Az MA diagnosztika pontosabb allergiadiagnózis és -prognózis felállítását teszi lehetővé a következő három kulcsfontosságú módon: (1) elkülöníti a valódi és a keresztreakción alapuló többszörös érzékenységet (szenitizáltságot); (2) ételallergiákban csökkenti a szükséges provokációs tesztek számát; (3) specifikus immunterápia esetén lehetővé teszi a páciens számára megfelelő, hatékony allergén alkalmazását.

Kulcsszavak: komponens alapú allergiadiagnosztika; molekuláris alapú allergiadiagnosztika

NEW ERA IN ALLERGY DIAGNOSTICS: MOLECULAR BASED ALLERGY DIAGNOSTICS

Molecular (component) based allergy (MA) diagnostics is an approach used to map the allergen sensitization of a patient at a molecular level, using purified natural or recombinant allergenic molecules (allergen components) instead of earlier known allergen extracts. MA diagnostics allows for an increasing accuracy in allergy diagnosis and prognosis and plays an important role in three key aspects of allergy diagnosis: (1) resolving genuine versus cross-reactive sensitization in poly-sensitized patients; (2) reduces the needs for food challenge testing; (3) identifying patients and triggering allergens for specific immunotherapy.

Key words: component based allergy diagnostics, molecular based allergy diagnostics

Bevezetés

Az allergia laboratóriumi diagnosztikájában 1993-tól, a bázis-finanszírozás („németpont-rendszer”) bevezetése óta komoly eredmény Magyarországon, hogy az immunassay- (RAST, ELISA stb.) alapú allergénspecifikus IgE-vizsgálatok országos szinten elérhetővé váltak. A legutóbbi, 2013-ból származó adat szerint 74 laboratórium végez rendszeresen ilyen vizsgálatokat nálunk. Az már más kérdés, hogy ezekből csupán 17 vesz rész a QualiCont külső minőség-ellenőrző körvizsgálataiban, továbbá a vizsgálatok finanszírozása nagyban veszteséges jelenleg. Ezekről részletesen az Orvosi Hetilapban a közelmúltban megjelent cikkben számolok be [1].

Ebben az írásban az allergének kémiai szerkezetének pontos megismerésével kapcsolatos új elméleti és gyakorlati eredményeket mutatom be röviden, melyek egy új korszak kezdetét jelentik. Mára ugyanis a legtöbb, leggyakoribb allergénmolekula (több, mint 130) tisztított vagy klóntechnológiával előállított formában, ismert háromdimenziós szerkezettel áll rendelkezésre a molekuláris (komponens) alapú allergia- (MA) vizsgálat gyakorlati kivitelezésére. Ez a lehetőség

minőségileg fejlettebb, új korszak kezdetét teremti meg mind az allergia diagnosztikája, mind kezelése számára.

A WHO és az IUIS (International Union of Immunological Societies) rendszerezte az eddig részletesen megismert allergén fehérjéket. Ezek az adatok elérhetők az interneten (<http://allergen.org>). Az elnevezés alapját az allergén latin neve (törzs és faj) adja, például a komócsinfű, *Phlenu pra-tense* (Phl p) esetében a különböző allergénmolekula-formák elnevezése Phl p 1, Phl p 2 stb.

Ezek alapján derült fény arra, hogy sok allergénnek lehet közös epitópja (IgE-t kötő helye). Ezek a keresztreaktív allergének, melyek esetében a különböző allergéntípusok ugyanazzal a specifikus IgE-vel reagálva váltanak ki allergiás reakciót. Ezzel szemben bizonyos molekulatípusok kizárólag egyetlen allergénformában fordulnak elő, mint elsődleges, primer szenzibilizáló tényezők. Az allergénmolekulák pontos szerkezetének megismerése lehetővé teszi a működésükben, kémiai stabilitásukban, klinikai hatásukban meglévő komoly különbségek gyakorlati figyelembevételét, aminek döntő jelentősége van az allergénspecifikus immunterápia (SIT) megtervezésében és kivitelezésében.

A World Allergy Organization (WAO) és ARIA-GA²LEN nevével, 35 fős nemzetközi munkacsoport 2013-ban közös dokumentumot és ajánlást készített a molekuláris alapú allergiadiagnosztika alapfogalmainak korszerű, egységes értelmezéséről, továbbá gyakorlati alkalmazásának lehetőségeiről. Ezek lényegi bemutatására kerül sor ebben az írásban [2].

Alapfogalmak az allergiában és értelmezésük

Allergénforrás: allergiát kiváltó szövet, részecske, élelmiszer vagy szervezet, pl. macska hám, D. pteronyssinus, tej, Aspergillus fumigatus, Phleum pratense pollenje.

Allergénkivonat: különböző, allergiát okozó és nem okozó fehérjék, poliszacharidok és lipidmolekulák különböző allergénforrásokból (pl. pollenekből) kivont nyers, tisztítatlan keveréke.

Allergénmolekula (allergénkomponens): olyan molekula (fehérje vagy glükoprotein), amely egy adott allergénforrásból származik, és ami egy adott specifikus ellenanyaghoz kötődik, miáltal „allergénnek” tekinthető. Ilyenek előállíthatók természetes allergénforrásokból, mint „tisztított, természetes allergének” vagy előállíthatók rekombináns-DNS-technológiával, mint „rekombináns allergének”.

Az allergének stabilitása:

- pH. Az allergének legtöbbször a gyomornedv pepszinje teljesen megemészteti, kivételes helyzetet csak a savcsökkentők szedése jelenthet.
- Hő- (főzés- vagy forralás-) érzékenység. Azt jelenti, hogy a beavatkozások hatására megváltozik az allergén immunválaszt elindító képessége.
- Proteázemészhetőség vagy -rezisztencia. A gyomor- és pancreasproteázok emésztő hatásának mértéke.

Allergéntípusok:

- Valódi allergén. A tényleges immunválaszt indítja el egy allergénkeveréken belül.
- Fő allergén. Egy allergénfajtából a betegek több mint felénél ez okozza az allergiát.
- Elsődleges, primer allergén. Az eredeti, érzékenyítő allergén.
- Másodlagos allergén. A másodlagos érzékenyítést, a keresztreakciót okozó allergén.

Allergénmennyiség: a valódi allergénmolekula mennyisége egy bővebb allergénforráson belül, ami befolyásolja annak immunválaszt indukáló hatását.

Keresztreakálás: egy specifikus IgE immunválaszt produkál olyan azonos, „homológ” struktúrákat tartalmazó allergénmolekulákkal reagálva, amelyek – bár különböző mennyiségben, de – előfordulnak más és más allergénforrásokban is. Például a nyírpollenben lévő „Bet v 1” struktúrája 50–70%-ban azonos a mogyoró „Cor a 1” molekulájának szerkezetével, így a bármelyikük ellen képződött specifikus IgE-molekula reagál mindkét allergénnel. A molekuláris rokonság származhat:

- a) a fajok közötti genetikai rokonságból (fű- és atkaallitípusok között),
- b) egy bizonyos molekula több fajban történő előfordulása miatt, pl. a tropomiozin a poratkában és a tengeri rákban is megtalálható.

Komponensalapú diagnosztika (KAD) (component resolved diagnostics, CRD): ugyanaz, mint a „molekuláris alapú allergiadiagnosztika (MA)”, szinonimák. Mégis, a diagnosztikában inkább az MA, a specifikus immunterápiában a KAD a gyakrabban használt kifejezés.

Koszzenzibilizáció: valódi szenzibilizáció egyszerre egynél több allergénnel, amikor keresztreakálás egyébként kizárható.

CCD (cross-reactive carbohydrate determinant): a glükoproteinek szénhidrátreszeinek közös neve. Leggyakoribb típusuk a MUXF3.

Epitóp: egy antigén/allergén fehérje ellenanyagot kötő része.

Molekuláris alapú allergiadiagnosztika (MA): olyan diagnosztikai megközelítés, amiben az allergia kimutatása molekuláris szinten történik, tisztított vagy rekombináns allergének felhasználásával szimplex (egy allergénes) vagy multiplex (több allergénes) mérési program szerint.

Pánallergén: egy fehérjecsalcához tartozó, keresztreakáló allergén, ami széles körben elterjedt, különböző fajokban jelen van, pl. a profilinek családja vagy a szérumalbumin.

Rekombináns allergén: DNS-klónozási technikával vagy fehérjetisztítással előállított fehérjeantigén. A rekombináns allergének nagy mennyiségben, CCD-struktúráktól mentesen állíthatók elő. Allergénkivonatok nem készíthetők rekombináns módszerrel.

sIgE- (specifikus IgE) koncentráció/szint:

- a) magas szint: magas sIgE-koncentráció, általában arányos a klinikai képpel. Kivétel: súlyos klinikai kép és alacsony sIgE-szint: tárolási és lipidtranszfer-molekula allergének esetén; magas sIgE-szint klinikai reakció nélkül: anti-CCD.
- b) alacsony szint: alacsony sIgE-koncentráció egy adott allergénkivonattal vagy molekulával szemben.

sIgE-érzékenyítettség (szenzitivitátság): a vérben van allergénspecifikus IgE klinikai tünettől függetlenül.

- a) monoszzenzitivitátság: egyetlen allergéntípussal szembeni érzékenyítettség, pl. Dermatophagoides pteronyssinus vagy a hozzá nagyon hasonló egyéb atkák ellen,
- b) poli- (vagy multi-) szenzitivitátság: három vagy több allergéntípus ellen, pl. atkák, nyír- vagy fűpollen.

sIgE-kimutatók allergénkivonatokkal szemben: a radioallergosorbent-teszt (RIA-), ELISA-, CAP-technikák, stb. Ezek a legelterjedtebb in vitro sIgE-kimutatói módszerek. Hátrányuk, hogy keresztreakáló allergénmolekulákat nem különítenek el. A számos, különböző kit ki/I értékben megadott eredményeinek értékelése és összehasonlítása csak a minden egyes

kihöz megadott, 6 csoportot képező sIgE RAST osztály értékeinek felhasználásával lehetséges.

A molekuláris (komponens) alapú allergiadiagnosztika legfontosabb, újdonságot jelentő értékei

1. Elkülöníthető egymástól a valódi allergiás érzékenyítettség és a keresztreakció.
2. Ez alapján pontosan megítélhető, hogy egyetlen, néhány hasonló jellegű vagy több, egymástól eltérő szerkezetű allergén okozza a tüneteket.
3. Elkülöníthetők a súlyos és nem súlyos klinikai kockázatot jelentő ételallergén-molekulák típusai.
4. Ezáltal csökken szükséges ételprovokációs vizsgálatok száma, és hatékonyabbá válik az allergénelkerülési javaslat.
5. Az MA-diagnosztika megnöveli az általános igényt a specifikus-IgE-vizsgálatok iránt, beleértve a hagyományos immunoassay-vizsgálatokat is.
6. A leglényegesebb klinikai előny az allergénspecifikus immunterápia (SIT) pontos és hatékony formájának megteremtése azáltal, hogy a valódi allergénmolekulával történhet a kezelés, és ettől valódi javulás, sőt gyógyulás várható. Az 1. táblázat (1) példája alapján látható, hogy a földimogyoró Ara h 1, 2, 3 és 9 molekulájával véghezvitt SIT javulást hozhat, míg az Ara h 8 kezelés eredménytelen lesz.

1. táblázat. Magas és alacsony anaphylaxiakockázatot jelentő ételallergénmolekula-típusok a molekuláris allergiadiagnosztika alapján

Forrás	Magas kockázat	Alacsony kockázat
Földimogyoró	Ara h 1, 2, 3, 9	Ara h 8, profilin, CCD
Mogyoró	Cor a 8, 9, 14	Profilin, CCD
Dió	Jug r 1, 2, 3	Profilin, CCD
Szója	Gly m 5, 6, (4)	Profilin, CCD
Rosaceák (pl. alma)	Pru p 3, Mal d 3	Pru p 1, Mal d 1, profilin, CCD
Búza	Tri a 14, Tri a 19	Profilin, CCD

CCD: keresztreakáló szénhidrátszerkezet

A legfontosabb allergéncsoportok, amelyek molekulatípusait a gyakorlat már használja

Ételallergének: földimogyoró (Ara h 1, 2, 3, 9), szója (Gly m 6), mogyoró (Cor a1, 9, 14), dió (Jug r 1, 2, 3), búza (Tri a 19), Rosacea fajok (alma, barack stb., Mal d 1, Pru p 1, 3, 4),

tyúktójsz (ovomucoid Gal d 1), tehéntej (kazein Bos d 8, béta-laktoglobulin Bos d 5, bovin szérumalbumin Bos d 6), hal (parvalbumin Gad c1, Cyp c1), kagylók (argininkináza) stb.

Légúti allergének: kedvenként tartott háziállatok hámja (macska: Fel d 1, 4; kutya: Can f 1, 2, 5; ló: Equ c1), virágpollenek (Ole e 7, 9), atkák (Der p 2, 10), penészgombák (Aspergillus: Asp f 1, 2, 4, 6), svábbogár (Per a 2/Bla g2) stb.

Egyéb allergének: latex (Hev b 5, 6, 11), méh, darázs stb.

Záró gondolatok

Az MA diagnosztika jelenleg még a nagyon költséges, „molecular multiplex platform” típusú vizsgálatok közé tartozik, bár a műveléséhez szükséges kitek és eszközök a már a piacon vannak. Magyarországon is – de még egyéni finanszírozási alapon – elérhetővé válik a közeli jövőben.

A nemzetközi ajánlások az allergia elsődleges diagnosztikus eszközének, „első lépcsőjének” a gondos anamnéziszelfeltelt tartják, aminek a hatásfoka 50–70% lehet. A „második lépcsőt” a bőrtesztek és a hagyományos, immunoassay-alapú specifikus-IgE-meghatározások adják. A molekuláris (komponens) alapú allergiadiagnosztika a „harmadik lépcsőt” jelenti azok számára, kiknél az első két lépcső vizsgálati nem hoztak megfelelő eredményt, vagy akiknél a hatékony immunterápia formáját szükséges megtalálni. Ezért lenne fontos 4-5 regionális laboratórium kialakítása az országban, ahol a megfelelően indikált vizsgálatok kivitelezése államilag finanszírozott formában történne minden rászoruló számára.

Jelenleg azonban még nem alakultak ki nemzetközi szinten sem azok a finanszírozási formák, melyek által az MA diagnosztika a klinikai gyakorlat széles körben elérhető részévé vált volna. Ugyanakkor nyilvánvaló, hogy új korszakot nyitó, megkerülhetetlen szemléletet, továbbá nélkülözhetetlen, új ismeretanyagot jelent. Magyarországon is minél előbb szükség lesz arra, hogy mind az allergiával foglalkozó klinikusok, mind a laboratóriumi szakemberek befogadják és alkalmazzák az allergiás betegek gyógyítása érdekében, akik száma jelenleg már több lehet, mint három millió. Ez már így szinte társadalmi igény!

IRODALOM

- [1] Sipka S: Az allergia laboratóriumi diagnosztikájának rövid hazai története, jelenlegi helyzete és a jövő perspektívái. Orv Hetil 2015; 156: 1275-1280.
- [2] Canonica GW, Ansotegui IJ, Pawankar R, et al: A WAO-ARIA-GA²LEN consensus document on molecular based allergy diagnostics. World Allergy Organ J 2013; 6: 17. 2013.doi: 10.1186/1939-4551-6-17.

(Dr. Sipka Sándor, Debreceni Egyetem, Klinikai Immunológiai Tanszék, 4032 Debrecen, Nagyerdei krt. 98. Tel/Fax: 52, 255-218; e-mail: sipka@iibel.dote.hu)