

# Diagnostyka Molekularna Alergii (MA)

MA pozwala na ustalenie profilu uczuleniowego badanego, odpowiadającego profilowi reaktywności IgE z alergenami molekularnymi, czyli immunogennymi cząsteczkami, naturalnymi składnikami substancji pokarmowych lub struktur wywołujących alergię IgE-zależną: np. owoców, pyłku roślin, mięsa i mleka, łupieżu zwierząt domowych, roztoczy itp. Cząsteczki alergenów molekularnych zachowane są w niezmienionej formie w diagnostycznych ekstraktach uczulających substancji. Do niedawna w diagnostyce alergii in vivo i in vitro posługiwano się wyłącznie pełnymi ekstraktami alergenowymi. Wiedząc, że stanowią one mieszaninę ogromnej ilości cząsteczek o różnej sile alergizującej (alergenności), traktowano je, z przyczyn technicznych jak alergeny pojedyncze. Przykładowo, ekstrakt alergenów jabłka, oznaczano jako: jabłko (F49), a pyłku brzozy: brzoza (T3), mleka krowiego - F2 (Ryc.1).

MA dotyczy alergenów identyfikowanych na poziomie cząsteczkowym (molekularnym), faktycznie alergizujących, istotnych dla patogenezы i przydatnych diagnostycznie. Alergeny molekularne dzieli się na główne (alergenne u >50% uczulonych) i słabe. Poznanie sekwencji aminokwasów i trójwymiarowej struktury cząsteczki, pozwala na stwierdzenie homologii cząsteczek o odległym pochodzeniu i, tym samym, na określenie ryzyka ich wiązanie przez przeciwciała IgE indukowane przez jedną z nich (współreagowanie, reaktywność krzyżowa). MA prócz znaczenia diagnostycznego i patogenetycznego, ma również znaczenie prognostyczne.

## ALERGEN Mleko krowie F2

...zawiera różnorodne cząsteczki, ale tylko nieliczne powodują reakcje alergiczne



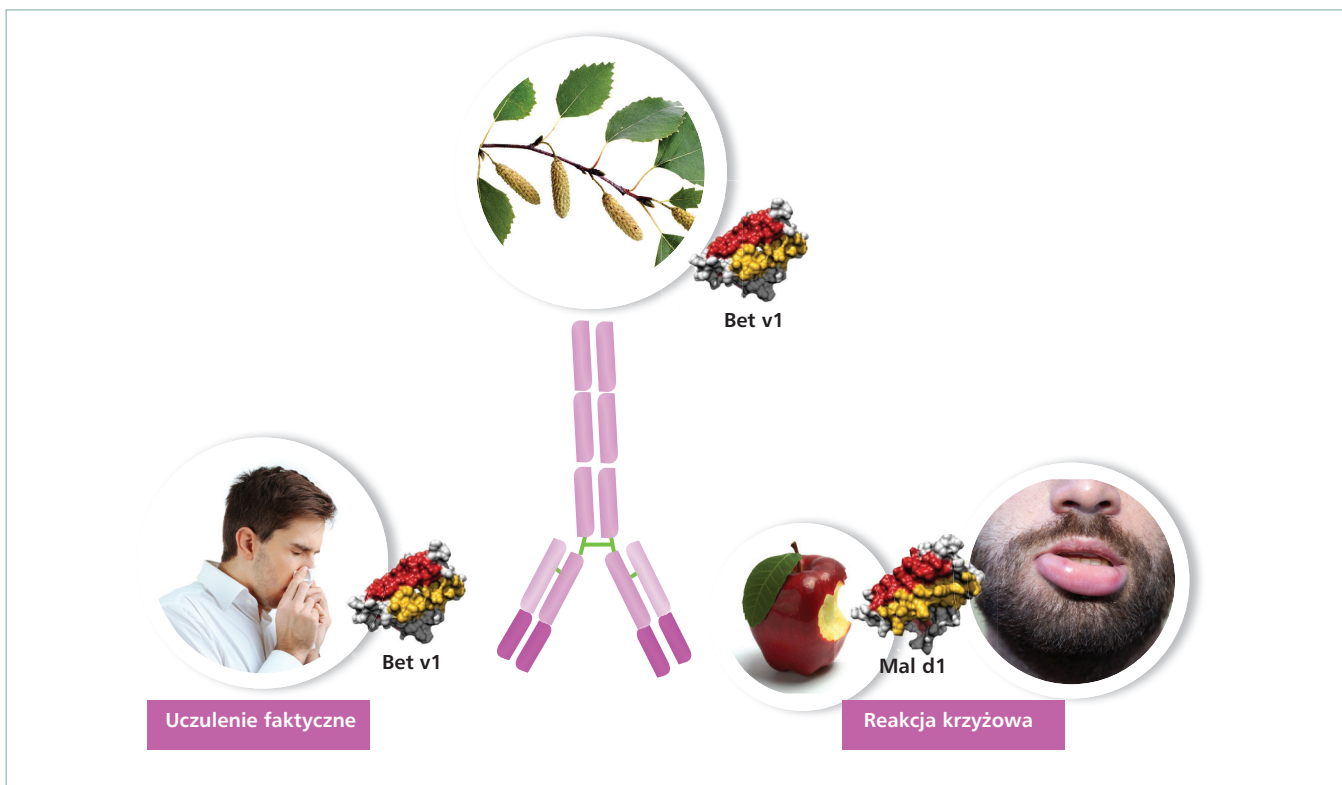
Ryc. 1

Precyzję notacji alergenów molekularnych pochodzenia roślinnego i zwierzęcego zilustrowano na przykładzie głównego alergenu pyłku brzozy brodawkowatej. 3 litery łacińskiej nazwy: **Betula** wskazują rodzaj, kolejna litera gatunek: **v**errucosa), cyfra/liczba: kolejność odkrycia. Stąd cyfry najniższe na ogół odpowiadają alergenom o największej sile alergizującej. Uzyskany kod, w tym wypadku: **Bet v1**, poprzedzany jest małą literą **r** w przypadku alergenu uzyskanego na drodze rekombinacji lub **n** w przypadku preparatu wysokooczyszczzonego. Równolegle stosowany podział alergenów opiera się na funkcji fizjologicznej/biochemicznej alergenów. I tak, **Bet v1** należy do roślinnych białek obronnych (białek stresu, PR), rodziny PR-10, a jego homologiem w obrębie rodziny PR jest alergen jabłka Mal d1. Rys. 2. Trójwymiarowe antygeny molekularne wiążą się przez fragmenty wiążące specyficznych IgE (paratopy), w miejscach zwanych **epitopami**. Epitopy alergenu: na ogół zewnętrzne i często ruchome, fragmenty cząsteczki, mogą być odcinkami kilku reszt aminokwasów na odrębnych łańcuchach peptydowych. Niewielkie rozmiary epitopów powodują, że w pewnych przypadkach dochodzi do reaktywności krzyżowej IgE z istotnie odległymi cząsteczkami alergenów, posiadającymi jednakże małe, wspólne fragmenty.

Źródłem najbardziej istotnych klinicznie alergenów są: pyłki roślin, owoce, zboża i ziarna, mięso, mleko, naskórki i łupież zwierząt, jad i odchody owadów i innych stawonogów (roztoczy), lateks itd.

U chorych multi-uczuleniowych diagnostyka molekularna pozwala na ustalenie gatunkowo specyficznego alergenu (lub alergenów), będącego przyczyną pierwotnego (rzeczywistego) uczulenia i na odróżnienie uczulenia pierwotnego od objawów indukowanych przez alergeny innych gatunków, o dużej homologii cząsteczki (na ogół > 70%). Dzięki reaktywności krzyżowej z IgE dla alergenów faktycznie uczulających, homologi wywołują niespodziewane i różne objawy po pierwszym kontakcie ze źródłem homologu. Rys 2. Analogiczna sytuacja zachodzi w przypadku alergii wieloważnych indukowanych przez panalergeny (np. profiliny), czyli stabilne i konserwatywne białka roślinne występujące w odległych źródłach, np. pyłkach i owocach różnych roślin. Szczególną formą alergenów molekularnych są anteny węglowodanowe (CCD) antygenów glikoproteinowych, posiadające pewien potencjał immunogeny, lecz głównie wiążące krzyżowo IgE swoistą dla innych alergenów glikoproteinowych, co może skutkować wynikami fałszywie dodatnimi.

Klinicznie istotna jest wrażliwość alergenów molekularnych na gotowanie (termostabilność) i podatność na działanie enzymów trawiennych. Alergeny odporne na oba czynniki wywołują reakcje uogólnione o gwałtownym, często niebezpiecznym dla życia przebiegu. Alergeny wrażliwe powodują reakcje słabsze i na ogół miejscowe. Objawy będące skutkiem reakcji krzyżowych są słabe i miejscowe, słabsze od objawów wywoływanych alergenem faktycznie uczulającym.

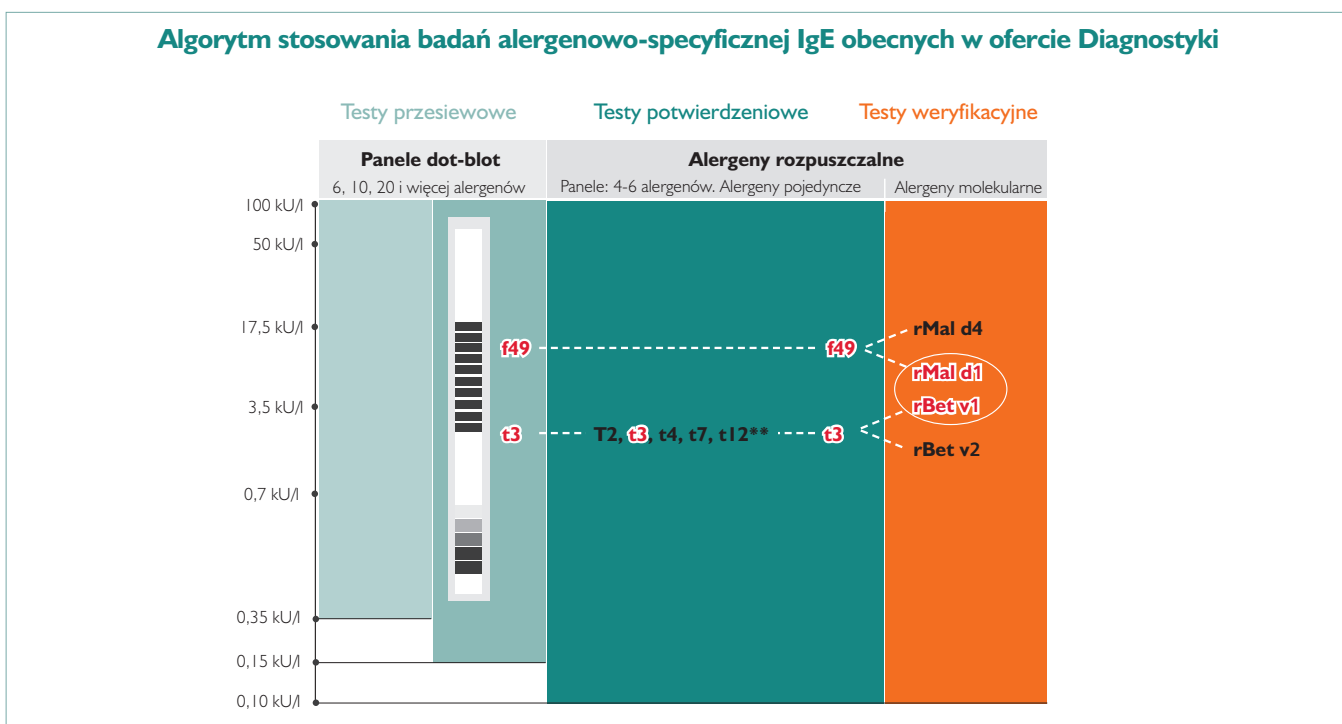


Ryc.2. Zespół alergii jamy ustnej OAS (ang. oral allergy syndrome) u mężczyzny uczulonego pierwotnie na pyłek brzozy, manifestujący się po zjedzeniu jabłka.

Molekularna diagnostyka alergii jest szczególnie przydatna:

- u chorych multiuczuleniowych, w przypadku trudności w zdefiniowaniu rzeczywistych alergenów lub u osób nie odpowiadających na leczenie
- w celu określenia ryzyka ciężkich, uogólnionych reakcji przez odróżnienie alergenów rzeczywiści uczulających od alergenów współreagujących krzyżowo z IgE
- w celu kwalifikacji pacjenta do immunoterapii swoistej i określenia alergenu terapeutycznego
- w celu oceny ryzyka reakcji na alergeny o odległym pochodzeniu, lecz wysokiej homologii i na panalergeny<sup>1</sup>.

W ofercie Diagnostyki Sp. z o.o. Diagnostyka Molekularna stanowi trzeci etap diagnostyki alergologicznej in vitro, po wywiadzie klinicznym oraz testach przesiewowych in vitro, opartych na panelach ekstraktów alergenowych i ekstraktach pojedynczych alergenów. Ryc. 3.



Ryc. 3 Badanie reaktywności IgE w stosunku do pełnego ekstraktu substancji wskazuje źródło alergenów. MA precyzuje, które składniki molekularne ekstraktu stanowią faktyczną przyczynę uczulenia.