

A molekuláris allergiadiagnosztika új lehetőségei

Dr. Réthy Lajos Attila

**Nemzeti Egészségfejlesztési Intézet Gyermekegészségügyi Igazgatóság
Budapest**

Bevezetés

Az allergiadiagnosztika iránti igény egyre nagyobb, és ezzel párhuzamosan rohamosan bővülnek a diagnosztika lehetőségei is. Azonban a vakon végzett, a tünetekkel nem kellően alátámasztott panelszűrések, a diagnosztikai jártasság hiánya minden téren csak a bizonytalanságot fokozza. Az ártalmatlan szenzibilizáltság vagy álpozitivitás kiszűréséhez, a valódi allergiák igazolásához szakember segítségét kell igénybe venni. Ezáltal elkerülhető számos negatív következmény, a betegekre nézve gyakran fölösleges vagy éppen káros diéta, illetve egyéb életmódbeli megszorítás.

Az I. típusú (azonnali, IgE-alapú) allergiás reakciók diagnosztikájában a régóta alkalmazott prick-teszt és a validált specifikus IgE-tesztek megbízhatónak tarthatók, a szenzitivitásuk jó. Specifitásuk általában gyengébb, ennek oka leginkább álpozitivitás: ilyenkor a teszt akkor is bejelez, amikor nincs mögötte klinikailag igazolható allergiás tünet^{1,2}. A specifitási problémák, az álpozitív eredmények arányát lényegesen csökkenteni lehet a molekuláris vagy más néven komponens alapú diagnosztika (Component Resolved Diagnosis, CRD) alkalmazásával¹.

Komponens alapú diagnosztika

A komponens alapú diagnosztika egy teljesen új szemléletmódot és háttérismereteket igénylő, korszerű terület az allergológián belül³. Mi az alapvető különbség a hagyományos allergológiai diagnosztikához képest?

A klasszikus allergiatesztek – a bőrteszt és a vérvétellel járó specifikus IgE-vizsgálat – során

nem allergénkomponenseket vizsgálnak, hanem az allergiát kiváltó anyag (pl. valamilyen pollen vagy táplálékfajta, esetleg méh- vagy darázsmeleg) teljes kivonatát. Ezek a biológiai eredetű anyagok maguk is több komponensből állnak, amelyek egymástól eltérő mértékben, de az adott komponensre jellemzően okozhatnak enyhébb vagy súlyosabb allergiás tüneteket arra érzékenyekben.

Táplálékallergiák

Általánosságban elmondható, hogy a hőkezelésre bomló fehérjék (pl. egyes növényi keresztallergének, profilinek) enyhébb reakciókat, míg a hőnek ellenálló, stabilabb molekulák (pl. tárolási proteinek, lipidtranszfer proteinek) komolyabb szisztémás allergiás reakciókat – akár életveszélyes anafilaxiát is – okoznak⁴. Az utóbbira jellemző példa a földimogyoró leggyakrabban anafilaxiát okozó struktúrfehérjéje (Ara h2). Ha valaki erre a fehérjére allergiás, annak komolyabb reakciókra kell számítani, ezért komolyabban is kell vennie a diétát, illetve szakorvossal konzultálva meg kell tennie a szükséges megelőző lépéseket (pl. az anafilaxia esetén életmentő adrenalin auto-injektor beszerzését, életmódbeli változtatásokat). A legtöbb földimogyoró-allergiás betegnek szerencsére nem kell ilyen súlyos következményekkel számolnia, de a hagyományos tesztekkel ez eddig nem volt elkülöníthető. Éppen az egyedi kockázatbecsléshez nyújthat elengedhetetlen segítséget a komponens alapú diagnosztika ételallergiában szenvedőknek⁴. A táplálékallergiák molekuláris diagnosztikájával kapcsolatban 2017 elején jelent meg hazai összefoglaló cikk⁵.

Rovarméreg-allergiák

A másik, ugyancsak potenciálisan fatális allergiás reakcióhoz vezető allergiatípusban, a rovarméreg-allergiában is szerepe lehet a CRD vizsgálatnak^{6,7}. Az ilyen betegek közel felénél méhre és darázsra is pozitív lehet a hagyományos allergiateszt. Ilyenkor a komponens alapú diagnosztika a kockázatbecslés mellett segíthet annak eldöntésében is, hogy ténylegesen kettős allergiáról van-e szó, azaz kell-e mindkét rovar csípésétől félni, és indokolt lehet-e a hosszadalmas immunterápia valamelyik komponensre, vagy csupán keresztreakciók okozta (és legtöbbször ártalmatlan) álpozitivitást mutatott ki a hagyományos teszt.

Inhalatív allergének

Inhalatív allergiák esetén a molekuláris allergiadiagnosztika két szempontból szolgálhat hasznos információval: a keresztallergiák feltérképezésében, illetve a tervezett immunterápiák hatékonyságának becslésében. Légúti allergiákat kiváltó pollenszemek és egyéb inhalatív anyagok (poratkák, állati szőrök) esetében is igaz, hogy az adott kiváltó okra specifikus komponensek mellett általában több mellékkomponens is jelen lehet, melyek a keresztallergiákért felelősek⁸. Közös keresztkomponensek (pl. profilinek, polkalcinok) előfordulnak a hazánkban gyakran légúti allergiát okozó parlagfűben, a fekete ürömben és a fűfélékben, de jelen vannak a nyírfélékben és számos növényi eredetű táplálékban is, az arra érzékenyekben gyakran orális allergia szindrómát kiváltva⁹.

A keresztreaktív komponensekkel szembeni allergia jelentősen rontja az oki kezelésként szóba jövő immunterápia hatékonyságát¹⁰. Emiatt a legújabb nemzetközi ajánlások légúti allergiákban a szublingvális immunterápia megkezdése előtt a hatékonyság fokozása céljából ajánlják a komponens alapú allergiatesztelést¹¹. Az immunterápia a jelenleg rendelkezésre álló készítményekkel akkor lehet a leginkább hatékony, ha az allergia a specifikus komponensre igazolható. Ha csak az adott pollenre specifikus fehérjekomponens IgE-je emelkedett, akkor az immunterápia hatékonysága kétéves kezelést követően közel 90%-os. Ha egyidejűleg emelkedett a specifikus komponens IgE-je és a keresztkomponensek IgE-je is, akkor az immunte-

rápia hatékonysága kétéves kezelés után csak 60% körüli. Amennyiben csak a keresztkomponensek IgE-je emelkedett, akkor a kétéves kezelés hatékonysága 20% alatti. Immunterápia előtt ezért mindenképpen ajánlott a molekuláris allergológiai diagnosztika elvégzése.

A komponens alapú diagnosztika a légúti allergéneknél egyrészt hozzásegíthet a meglévő pollen-étel keresztallergiák, valamint az orális allergia szindróma molekuláris hátterének tisztázásához, másrészt pedig felmérhető vele a tervezett immunterápia várható hatékonysága. Ebben a témában is 2017-ben jelent meg részletes hazai összefoglaló¹².

Multiplex tesztelés

A pollen-étel keresztallergiák és az idiopátiás anafilaxia diagnosztikája során felmerül a kérdés, hogy külön-külön teszteljük az allergénkomponenseket vagy többet vizsgáljunk egyszerre, azaz singleplex vagy multiplex tesztet végezzünk.

Keresztallergiák kockázatbecslése

Az inhalatív allergének, de néha egyes táplálékallergének is gyakran indukálnak tüneteket más ételek fogyasztásához kapcsolódva (pollen-étel, illetve étel-étel keresztallergiák). Felmerül ilyenkor az igény a keresztallergénként szereplő táplálék fogyasztásához köthető reakciók várható súlyosságának becslésére. Ebben lényeges segítséget nyújt a molekuláris allergiadiagnosztika, ami a komolyabb veszélyt jelentő keresztallergéneket képes megkülönböztetni az enyhébb orális allergia szindrómát okozó allergénektől. Előfordulhat azonban, hogy a nagyszámú keresztallergia miatt eleve sok allergénkomponenst kell meghatározni. Ilyenkor az egyedi (singleplex) molekuláris tesztek kivitelezése bonyolult¹³.

Hasonlóan problémás lehet az anafilaxia kiváltó okának tisztázása olyan esetekben, amikor az előzmények nem egyértelműek. Az anafilaxián átesett betegek közel felénél eddig nem lehetett a kiváltó okot tisztázni (idiopátiás anafilaxiák). A veszélyes, anafilaxiát okozó ételkomponensek listája nagyrészt ismert, mégis a korszerű molekuláris tesztekkel is csupán néhány gyanúba fogható komponens vizsgálatára volt lehetőség eddig az egyedi (singleplex) molekuláris

teszteléssel¹³. Ezekre a komoly hiányosságokra adhat megoldást az allergén-chip technológián alapuló új vizsgálati módszer, a multiplex tesztelés. Ilyenkor a molekuláris allergén-reagenseket nanotechnológiával sorozatban, nagy számban miniatürizált chipekre viszik fel¹⁴.

Az idiopátiás anafilaxiák kiváltó okai

Multiplex teszteléssel az eddig idiopátiásnak gondolt anafilaxia esetek jelentős részében azonosítani lehetett a kiváltó ágenszt. Olyan, eddig ritkának számító kórképek váltak ismertté, mint pl. a vöröshús, az omega-5 gliadin vagy a szója okozta anafilaxia.

A vörös húsok okozta anafilaxia oka egy – az emberi vörösvértesteken nem megtalálható – galaktóz- α -galaktóz szénhidrát oldallánc, amivel legtöbbször kérődzőkön is vért szívó kullancsok csípése szenzibilizálhatja az emberi immunrendszert. Ez a fajta anafilaxia általában 3-5 órával a vörös hús elfogyasztása után jelentkezhet¹⁵.

Tipikusan a szója, illetve a búza egy-egy kis-molekuláris komponense (a Bet v1 rokon Gly m4, illetve az omega-5 gliadin) felelhet az úgynevezett kofaktor-provokálta, táplálék-indukálta anafilaxiák (Cofactor Enhanced Food-induced Anaphylaxis, CEFA) jelentős részéért⁴. Ilyenkor a táplálékallergén elfogyasztása mellett valamilyen külső kofaktor – gyakran fizikai terhelés, máskor alkoholfogyasztás, láz vagy éppen menstruáció – allergiás ingerküszöböt módosító szerepe is szükséges az anafilaxia kiváltásához¹⁶. Eddig megnehezítette mindezeknek a diagnózisát, hogy a hagyományos szója, illetve búza IgE-tesztek általában negatívak voltak, csak a molekuláris tesztekkel lehetett az IgE-emelkedést kimutatni az adott komponensre. Anafilaxiában lényeges lehet még az ún. lipid-transzfer proteinek bizonyos keresztallergénjeinek szerepe, itt a barack egyik ilyen molekulája (Pru p3) a primer allergizáló faktor.

Multiplex allergén-chip rendszerek

A mikrotechnológiás chip 112 allergént tud vizsgálni, ennyi proteint tudnak felvinni a tárgylemezre a hagyományos chip-technológiával (ImmunoCap ISAC)¹⁷. A jelenleg világszerte legfejlettebb, nanobead-technológiás allergén-chipek több száz allergént tudnak egyszerre megvizsgálni (FABER 244, ALEX)¹⁸. A multiplex

allergén-chipek egy lépésben, parallel méréssel ki tudják mutatni szinte az összes, potenciálisan anafilaxiát okozó veszélyes anyagot, illetve a keresztallergiák molekuláris hátterét is. A singleplex molekuláris tesztek mellett a világon jelenleg egyik legkorszerűbbnek számító multiplex allergén-chip, a FABER 244 teszt elérhető már Magyarországon is.

A multiplex allergén-chipek komplex molekuláris biomarkereivel szinte a teljes egyéni allergénspecifikus IgE-repertoár meghatározható, lehetővé téve a személyre szabott diagnosztikát és kezelést¹⁹, különös tekintettel a keresztallergiákra és az anafilaxia diagnosztikájára.

Hazai lehetőségek

Bár jelenleg a molekuláris tesztek jelentős része csak térítés ellenében végezhető el, fontos tudni, hogy immár az alapvető molekuláris allergének térítésmentes hozzáférhetőségére is lehetőség mutatkozik. A nagyobb kórházi laboratóriumok közül egyre több centrumban végzik a klasszikus IgE-alapú allergiadiagnosztikát olyan műszeren, amelyhez rendelkezésre állnak molekuláris poratka (Der p1, p2; Der f1, f2), tej, tojás, macskaszőr, kutyaszőr, méh- és darázs-méreg (Api m1, m2, Ves v5), illetve a klinikailag leginkább releváns pollen-étel keresztallergének (Bet v1, Bet v2, Pru p3). Ezek tehát igény esetén beilleszthetők lennének a térítésmentesen végzendő vizsgálatok közé. ■

Irodalom

1. Eigenmann PA, Alessandri C, Giangrieco I, et al. Testing children for allergies: why, how, who and when: an updated statement of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) Section on Pediatrics and the EAACI-Clemens von Pirquet Foundation. *Pediatr Allergy Immunol* 2013; 24(2): 195-209.
2. Réthy L. A korszerű allergiadiagnosztika általános elvei gyermekkorban az Európai Allergológiai és Klinikai Immunológiai Akadémia Gyermekgyógyászati Szekciójának ajánlásai alapján. *Amege* 2016; 23(2): 15-21.
3. Nagy Adrienne. A molekuláris allergiadiagnosztika elve és alkalmazási területei. *Gyermekgyógy Továbbk Szle* 2017; 22(2): 51-54.
4. Wolthers OD. Component-resolved diagnosis in pediatrics. *ISRN Pediatrics* 2012; 2012: e806920. doi: 10.5402/2012/806920.

5. Csáki Csilla. A molekuláris allergiavizsgálat jelentősége táplálékallergiákban. *Gyermekgyógy Továbbk Szle* 2017; 22(2): 59-62.
6. Ollert M, Blank S. Anaphylaxis to insect venom allergens: role of molecular diagnostics. *Curr Allergy Asthma Rep* 2015; 15(5): 26. doi:10.1007/s11882-015-0527-z.
7. Mezei Györgyi. Komponens alapú diagnosztika rovarméreg-allergiában. *Gyermekgyógy Továbbk Szle* 2017; 22(2): 63-66.
8. Popescu FD. Cross-reactivity between aeroallergens and food allergens. *World J Methodol* 2015; 5(2): 31–50. doi: 10.5662/wjm.v5.i2.31
9. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, et al. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy* 2014; 69(8): 1008-1025. doi:10.1111/all.12429.
10. Schmid-Grendelmeier P. Recombinant allergens. For routine use or still only science? *Hautarzt Z Dermatol Venerol Verwandte Geb* 2010; 61(11): 946-953. doi:10.1007/s00105-010-1967-y.
11. Pfaar O, Bachert C, Bufe A, et al. Guideline on allergen-specific immunotherapy in IgE-mediated allergic diseases. *Allergo J Int* 2014; 23(8): 282-319. doi:10.1007/s40629-014-0032-2.
12. Réthy Lajos Attila. Inhalatív allergének molekuláris (komponens alapú) diagnosztikája. *Gyermekgyógy Továbbk Szle* 2017; 22(2): 56-58.
13. Kleine-Tebbe J, Jakob T. Molecular allergy diagnostics using IgE singleplex determinations: methodological and practical considerations for use in clinical routine. *Allergo J Int* 2015; 24: 185-197. doi:10.1007/s40629-015-0067-z.
14. Jakob T, Forstenlechner P, Matricardi P, Kleine-Tebbe J. Molecular allergy diagnostics using multiplex assays: methodological and practical considerations for use in research and clinical routine. *Allergo J Int* 2015; 24: 320-332. doi:10.1007/s40629-015-0087-8.
15. Apostolovic D, Tran TAT, Starkhammar M, et al. The red meat allergy syndrome in Sweden. *Allergo J Int* 2016; 25(2): 49-54. doi:10.1007/s40629-016-0098-0.
16. Versluis A, van Os-Medendorp H, Kruizinga AG, Blom WM, Houben GF, Knulst AC. Cofactors in allergic reactions to food: physical exercise and alcohol are the most important. *Immun Inflamm Dis* 2016; 4(4): 392-400. doi: 10.1002/iid3.120.
17. ImmunoCAP ISAC Multiplexing-Phadia-Setting the Standard-Phadia.com. <http://www.phadia.com/en-GB/5/Products/ImmunoCAP-ISAC/>. Accessed March 18, 2017.
18. Mari A, Alessandri C, Giangrieco I, et al. Introducing FABER test for allergy diagnosis: food molecule- and extract-based allergenic preparations in the newest and broadest nanotechnology IgE test. October 2016. http://www.eaaci.org/meetings/FAAM2016-Abstracts/abstracts/FAAM_2016_OP11.pdf. Accessed February 28, 2017.
19. Sipka S. Precision and personalized medicine. *Orv Hetil* 2016; 157(44): 1739-1741. doi:10.1556/650.2016.30564.