

Sesja plenarna nauk podstawowych III

Diagnostyka alergii poza rutyną

Od wyciągu alergenowego do cząsteczki

WYKŁADOWCA: ADRIANO MARI (WŁOCHY)

Adriano Mari przedstawił możliwości i korzyści płynące z zastąpienia wyciągów alergenowych alergenami rekombinowanymi. Obecnie w rutynowej diagnostyce alergologicznej (np. w testach skórnych) na szeroką skalę stosowane są wyciągi alergenowe. Ich wprowadzenie ok. 100 lat temu stanowiło przełom w diagnostyce, jednak do chwili obecnej kontrowersje budzi problem standaryzacji alergenów uzyskiwanych w ten sposób. Wiele prac pokazało, że wyciągi pochodzące od rozmaitych producentów, a także wyprodukowane w różnorodnych seriach, mogą wykazywać różnice. Współczesna wiedza na temat budowy molekularnej alergenów i znajomość ich charakterystyki umożliwia dziś chemiczną syntezę i produkcję alergenów drogą inżynierii genetycznej poprzez klonowanie i ekspresję genów kodujących konkretne epitopy. Cząsteczki alergenów uzyskiwane w ten sposób w przyszłości będą mogły stanowić alternatywę dla stosowanych obecnie wyciągów alergenowych, ponieważ są wysoko oczyszczone i zawierają wyłącznie pożądane epitopy. Ze względu na wysoką swoistość mogą być również wykorzystywane w badaniach eksperymentalnych reakcji alergicznej. Obecnie alergeny rekombinowane są już testowane w badaniach klinicznych dotyczących immunoterapii oraz w diagnostyce. Adriano Mari wskazał nowe kierunki w diagnostyce oraz zwrócił uwagę na przydatność rekombinowanych alergenów w przyszłości. Podkreślił znaczenie cząsteczek alergenów rekombinowanych dla lepszego zrozumienia mechanizmów chorób alergicznych, możliwości ich użyteczności w diagnostyce i szerokiego zastosowania terapeutycznego.

Testy komórkowe w diagnostyce alergii

WYKŁADOWCA: EDWARD KNOL (HOLANDIA)

Profesor Edward Knol z Uniwersytetu w Utrechcie przedstawił zastosowanie i perspektywy badań wykorzystujących aktywację bazofilów w diagnostyce alergologicznej. Badania *in vitro* służą zwykle do wykrycia w surowicy pacjenta swoistych przeciwciał IgE. Rutynowo wykonywane badania, takie jak: CAP czy Immulite, są bardzo czułe w wykrywaniu IgE, jednak nie uwzględniają powinowactwa IgE z alergenem, obecności w surowicy przeciwciał blokujących, ani reaktywności krzyżowej przeciwciał. Badania *in vitro*, w których oceniana jest aktywacja bazofilów, odzwierciedlają procesy zachodzące w organizmie w czasie reakcji alergicznej, takie jak wiązanie alergenu z dwiema cząsteczkami IgE na powierzchni bazofila i w konsekwencji tego oddziaływania – degranulację komórki. W opracowanym przez ekspertów stanowisku EAACI, dotyczącym biologicznych testów alergicznych, omawiano czułość i swoistość testu uwalniania histaminy z bazofilów, badania CAST-ELISA, test aktywacji bazofilów i test proliferacji i transformacji limfocytów indukowanego antygenem. Spośród wymienionych badań – czułość i swoistość testów aktywacji bazofilów jest porównywalna do punktowych testów skórnych i oznaczenia swoistych IgE. Badania te mogą być również użyteczne w diagnozowaniu nadwrażliwości niealergicznej, na przykład nadwrażliwości na aspirynę i nadwrażliwości na leki. Jednak dla reakcji nadwrażliwości IgE-niezależnych i niealergicznych zostało opublikowanych zbyt mało prac, aby można było sformułować zalecenia. Knol szczegółowo omówił test aktywacji bazofilów. Badanie to opiera się na wykryciu aktywacji bazofilów, ocenionej metodą cystometrii przepływowej. W badaniu określa się ekspresję cząsteczki CD 63 na powierzchni komórki. Antygen CD 63 występuje w błonie komórkowej ziarnistości bazofilów, a podczas degranulacji komórki błona komórkowa ziaren ulega połączeniu z błoną komórkową bazofila, a CD 63 pojawia się na powierzchni komórki. Odsetek bazofilów, wykazujących ekspresję CD 63 na powierzchni, koreluje z uwolnieniem histaminy. Oprócz CD 63 ekspresji ulega również cząsteczka CD 203c, jednak konieczna jest wcześniejsza stymulacja IL-3, co uwzględniają protokoły. Wiele badań oceniało przydatność testu aktywacji bazofilów w diagnostyce alergii, jednak wciąż brakuje szeroko

zakrojonych badań na grupach dobrze scharakteryzowanych pacjentów. Jednym z problemów jest brak uniwersalnego protokołu wykonania testu. Badacze, posługujący się dostępnymi na rynku zestawami: Flow-CAST i Flow2-CAST (Bühlmann), BASOTEST (BD i Orpegen), czy Allergenicity Kit (Beckman Coulter), używają różnych kontroli dodatnich, stymulują je w odmiennych warunkach, a także stosują różne strategie brankowania. W celu ujednoczenia testu w 2007 podjęto inicjatywę (EuroBAT initiative) opracowania zaleceń dotyczących wykonywania testu (cf. www.allergyflow.org). Kolejnym ograniczeniem możliwości stosowania testu aktywacji bazofilów jest konieczność wykonania oznaczenia testu w czasie nie dłuższym niż 24 godziny od pobrania krwi. Ponadto, komórki u ok. 10% osób zarówno chorych, jak i zdrowych, nie degranulują pod wpływem wiązania IgE, co jest przyczyną wyników fałszywie ujemnych, i wiąże się z koniecznością

stosowania dodatkowych kontroli stymulacji (fMLP). W podsumowaniu wykładu podkreślono, że test aktywacji bazofilów charakteryzuje się bardzo wysoką czułością i wymaga pobrania niewielkiej próbki krwi. Ponadto, mimo wspomnianych wcześniej ograniczeń, może być z powodzeniem stosowany do testowania alergenów niedostępnych w systemie CAP, alergenów, których zastosowanie u pacjenta jest niebezpieczne, a także wydaje się użyteczny do monitorowania rozwoju tolerancji alergenów, na przykład podczas immunoterapii. Konieczne jest jednak przeprowadzenie dalszych badań w celu określenia wartości predykcyjnych testu, co umożliwi stosowanie go rutynowo w diagnostyce chorób z nadwrażliwością.

OPRACOWANIE: ANNA LEWANDOWSKA-POLAK
