

Przydatność zestawu Polychcek plus zawierającego alergeny rBet v1 i rBet v2 przed immunoterapią pyłkowicy brzozonej

Usefulness of the kit Polychcek plus kit containing rBet v1 and rBet v2 allergens before birch pollen immunotherapy

Krzysztof Buczyłko, Aneta Wagner

Zakład Alergologii i Rehabilitacji Oddechowej Katedry Klinicznych Podstaw Rehabilitacji Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik Zakładu i Katedry: prof. dr hab. n. med. Krzysztof Buczyłko

Post Dermatol Alergol 2011; XXVIII, 1: 75–82

Streszczenie

Cel: Sprawdzenie przydatności oznaczenia sIgE za pomocą panelu Polychcek plus w odniesieniu do fenotypu alergii i składu szczepionek alergenowych. Zestaw sIgE zawierał pyłek brzozy t3, epitopy rekombinowane rBet v1 i rBet v2, pyłek olszy, leszczyny, tymotki i bylicy. Ponadto w składzie znajdował się lateks, roztocze Dp i alergeny pokarmowe.

Materiał i metody: Zbadano 36 osób, u których wykryto sIgE (t3) – powyżej 0,35 kU/l (20 mężczyzn w wieku 11–59 lat, średnio 17,8 roku, oraz 16 kobiet w wieku 18–52 lat, średnio 26,8 roku).

Wyniki: Fenotyp A = t3 (+), rBet v1 (+), rBet v2 (–) – u większości badanych (24 osoby – 72,2%) wystąpił fenotyp zgodności sIgE t3 wyłącznie z alergenem głównym pyłku brzozy sIgE rBet v1. Fenotyp B = t3 (+), rBet v1 (+), rBet v2 (+) – dwóch (5,5%) badanych miało oba alergeny: Bet v1 i Bet v2. Fenotyp C = t3 (+), rBet v1 (–), rBet v2 (–) – zaskakująco u 6 (16,6%) osób, pomimo (+) sIgE t3, alergeny rBet v1 i rBet v2 nie były wykrywalne. Fenotyp D = t3 (+), rBet v1 (–), rBet v2 (+) objął 2 osoby. Mimo obecności sIgE t3, rBet v1 nie został wykryty, dodatni był wynik dla profiliny. Na podstawie badań 36 chorych z alergią na pyłek brzozy wykazano odmienny profil alergenowy oznaczeń sIgE t3 wobec oznaczeń IgE dla epitopów rBet v1 i rBet v2 w surowicy.

Wnioski: Wskazano na większą kompatybilność kompleksowych oznaczeń sIgE za pomocą panelu Polychcek plus niż sIgE t3 z obecnie stosowanymi szczepionkami alergenowymi, które są powszechnie standaryzowane wobec alergenu Bet v1. Badania wskazują na uzasadnioną potrzebę wykonywania poszerzonych oznaczeń sIgE, zwłaszcza przed immunoterapią.

Słowa kluczowe: fenotypy alergii brzozonej, epitopy, panel swoistych IgE.

Abstract

Aim: To evaluate the usefulness of specific IgE measurements by the Polychcek plus panel referred to allergy phenotype and the composition of specific immunotherapy preparations. The specific IgE set was composed of birch pollen, recombinant allergens Bet v1 and Bet v2, alder, hazel, timothy and mugwort pollen. Furthermore the kit was composed of latex, mite Dp and food allergens.

Material and methods: In the study 36 persons with high level of specific IgE to birch pollen (over 0.35 kU/l) were examined, (20 men aged 11-59, mean age was 17.8 year and 16 women aged 18-52, mean age was 26.8).

Results: Most of the group represented phenotype A = t3 (+), rBet v1 (+), rBet v2 (–) only with positive rBet v1 allergen (24/36, 72.2%). Patient with positive both allergens rBet v1 (+) and rBet v2 (+) represented phenotype B (2/36, 5.5%). Surprisingly 6 of 36 patients (16.6%) with positive sIgE t3 represented phenotype c with negative both measured epitopes. Phenotype D = t3 (+), rBet v1 (–), rBet v2 (+) involved 2/36 patients with allergy to profilin. Differ-

Adres do korespondencji: prof. dr hab. n. med. Krzysztof Buczyłko, Zakład Alergologii i Rehabilitacji Oddechowej Katedry Klinicznych Podstaw Rehabilitacji Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, pl. Hallera 1, 90-647 Łódź, tel. +48 42 639 33 57, e-mail: krzysztof.buczytko@umed.lodz.pl

ent condition of allergic specific IgE (birch, epitopes rBet v1 and rBet v2) was demonstrated among 36 patients with allergy to birch pollen.

Conclusions: The investigation showed the need of expanded IgE measurements especially if the patients is potentially qualified to specific immunotherapy, widely standardized by Bet v1 allergen concentration measurements.

Key words: birch allergy phenotypes, epitopes, specific IgE panel.

Wprowadzenie

W aktualnych, oficjalnych zaleceniach *Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma* (ARIA) i *Global Initiative for Asthma* (GINA) oraz zaleceniach Polskiego Towarzystwa Alergologicznego (PTA) za podstawowe narzędzie rozpoznawania przyczyn choroby alergicznej uznaje się punktowe testy skórne (PTS). We wspomnianych dokumentach są one określane przymiotnikiem „standaryzowane”, dla odróżnienia od naturalnych prób ze świeżymi produktami – „natywnych”. Doniesienia w literaturze o odpowiedniej randze dotyczące składu alergenowego roztworów do wykonywania PTS są jednak nieliczne. Do chwili obecnej nie ma wzorcowych ekstraktów, które stanowiłyby standard międzynarodowy, stąd brak odpowiednich porównań dla poszczególnych wytwórców. W programie CREATE wypracowano zestawy przeciwciał monoklonalnych do oznaczeń kilku alergenów głównych, wykorzystano je m.in. w pracy Sander i wsp. [1]. W ten sposób, bardzo powoli, tworzą się podwaliny jawnej, powszechnej standaryzacji międzynarodowej alergenów używanych do PTS. Poszczególni producenci nadal skrupulatnie przestrzegają swoich poufnych wzorców służących do standaryzacji wewnątrz pracowni (*inter home standardization* – IHS). W zakresie sIgE odpowiednie procesy są znacznie bardziej zaawansowane [2]. Mogłoby się wydawać, że za niewiele lat, po powszechnej, pełnej standaryzacji zarówno PTS, jak i sIgE nastąpi zrównoważenie przydatności klinicznej obu testów. Nie należy jednak zapominać, że pula przeciwciał E będzie zawsze inna w skórze niż w surowicy czy płynach tkankowych, a ilość alergenu pozostanie różna w surowym źródle, standaryzowanym wyciągu fabrycznym czy wysoce oczyszczonym antygenie lub rekombinowanym epitopie, wiążącym (coraz częściej monoklonalne) przeciwciałem w badanej surowicy. Nadal więc potrzebne będzie porównanie PTS, natywnych PTS i sIgE [3]. Z klinicznego punktu widzenia należy przypomnieć powszechnie uznaną przewagę oznaczeń surowicznych nad testami skórnymi w sytuacjach szczególnych, takich jak: stosowanie leków hamujących reakcje skóry, rozległe zmiany skórne, zaostrzenia choroby alergicznej, ciąża itp. Niezależnie od tych oczywistych kanonów istnieje potrzeba dokładniejszego zrozumienia wiarygodności RAST wobec PTS. Nadal dyskutowana jest kwestia, czy wykonywanie oznaczeń sIgE ma sens kliniczny i ekonomiczny, jeśli wcześniejsze PTS wskazały źródło alergii. Pojawiają się także pytania, jakim zestawem należy się ewentualnie posłużyć [4].

Obecnie w standardowej praktyce alergologicznej do oznaczeń swoistych IgE zdecydowanie najczęściej wyko-

rzystywane są metody immunoenzymatyczne (ELISA), dzięki którym oznaczane są stężenia IgE dla pojedynczych, wybranych alergenów w jednostkach masy. Równie popularne są metody radioimmunologiczne (RAST), np. UniCAP (Phadia). Nieco mniej popularne są techniki wykorzystujące chemiluminescencję, a w ostatnich latach do użytku został wprowadzony test ImmunoCAP ISAC (Phadia) wykorzystujący technikę *microarray*, dzięki któremu istnieje możliwość oznaczenia sIgE jednorazowo dla kilkudziesięciu alergenów. W teście ISAC alergeny w triplecie połączone są z powierzchnią nośną i po reakcji ze swoistym przeciwciałem obecnym w badanej surowicy tworzą kompleks immunologiczny, który poddaje się następnie inkubacji z fluorescencyjnie znakowanymi antyludzkimi przeciwciałami IgE. Niestety jego przydatność ogranicza wysoki koszt badania oraz często trudności interpretacyjne wyników. Dość powszechnie stosowane są także testy wieloalergenowe IgE, np. Biocheck, Polycheck, Euroimmun, które również są metodami immunoenzymatycznymi [5].

Wprowadzony niedawno do codziennego użytku, przesiewowy, niedrogi zestaw panelowy Polycheck plus, po raz pierwszy w rutynowej diagnostyce uzupełniony o determinanty antygenowe głównych alergenów pyłku brzozy, pozwala specjalistom lepiej ocenić faktyczną obecność przeciwciał w surowicy chorego. Oprócz informacji o reakcji wobec klasycznego antygeny t3 – pyłek brzozy (natywna mieszanina o nieznanach proporcjach antygenów), otrzymujemy bowiem automatycznie poziom zawartości sIgE dla rBet v1 (główny antygen brzozy z rodziny PR-10, rybonukleaza) oraz rBet v2 (dodatkowy antygen pyłku brzozy, profilina, odpowiedzialna za wiele pyłkowopokarmowych reakcji krzyżowych). Ponieważ – niezależnie od producenta – szczepionki do immunoterapii swoistej zawierają głównie Bet v1 [2], informacja o faktycznym fenotypie alergii „brzozowej” staje się kluczowa dla bezpiecznej i skutecznej immunoterapii. Informacji takiej nie daje żaden z dotychczas dostępnych zestawów PTS [6].

Cel pracy

Celem podjętych badań było sprawdzenie:

- 1) czy są różnice w wynikach oznaczeń sIgE t3 (pyłek brzozy) wobec panelowych swoistych oznaczeń IgE dla epitopów rekombinowanych Bet v1 i Bet v2 u poszczególnych chorych;
- 2) czy na podstawie wyników panelu Polycheck plus można wyróżnić odmienne fenotypy alergii na pyłek brzozy;

3) czy zachodzi uzasadniona klinicznie potrzeba wykonywania zarówno skórnych testów punktowych, jak i surowiczych oznaczeń panelem Polycheck plus Bet v1/Bet v2 u chorych uczulonych na pyłek brzozy, czy też wystarczające jest oznaczenie jedynie sIgE dla pyłku brzozy t3.

Materiał i metody

U pacjentów przeprowadzono PTS zgodnie z wywiadem chorobowym, w tym dla mieszaniny standaryzowanej o nazwie pyłek brzozy Allergopharma. Test skórny wykonywano zgodnie z zaleceniami PTA. W badaniach oceny stężenia swoistych IgE zastosowano 20-alergenyowy panel Polycheck plus, służący do szybkiej diagnostyki laboratoryjnej. Zestaw alergenowy obejmował pyłek brzozy, epitopy rekombinowane Bet v1 i Bet v2, pyłek olszy, leszczyny, tymotki i bylicy. Ponadto w składzie znajdował się lateks, roztocze Dp i szereg alergenów pokarmowych znaczących pod kątem występowania objawów reakcji krzyżowych z alergenami brzozy: orzech ziemny, orzech laskowy, seler, marchew, pomidor, brzoskwinia, jabłko, mąka pszenna, soja, papryka i owoce cytrusowe. Metodologia badania była oparta na reakcji immunoenzymatycznej ELISA, jednak z modyfikacją w postaci uproszczonego odczytu wyników badania za pomocą skanera. Wyniki przedstawiono ilościowo, na podstawie krzywej wzorcowej zamieszczonej na każdej płytce badania, w kU/l oraz klasach (0–6). Wybór zestawu wieloalergenowego, a nie oznaczeń sIgE dla pojedynczych epitopów początkowo był podyktowany próbą zmniejszenia kosztów diagnostyki.

Na potrzeby pracy utworzono grupę badaną złożoną z 36 osób z rozpoznaniem alergicznego nieżytu nosa, niekiedy z towarzyszącą astmą oskrzelową (22,8%) lub atopowym zapaleniem skóry (11,4%). Kwalifikacja pacjentów

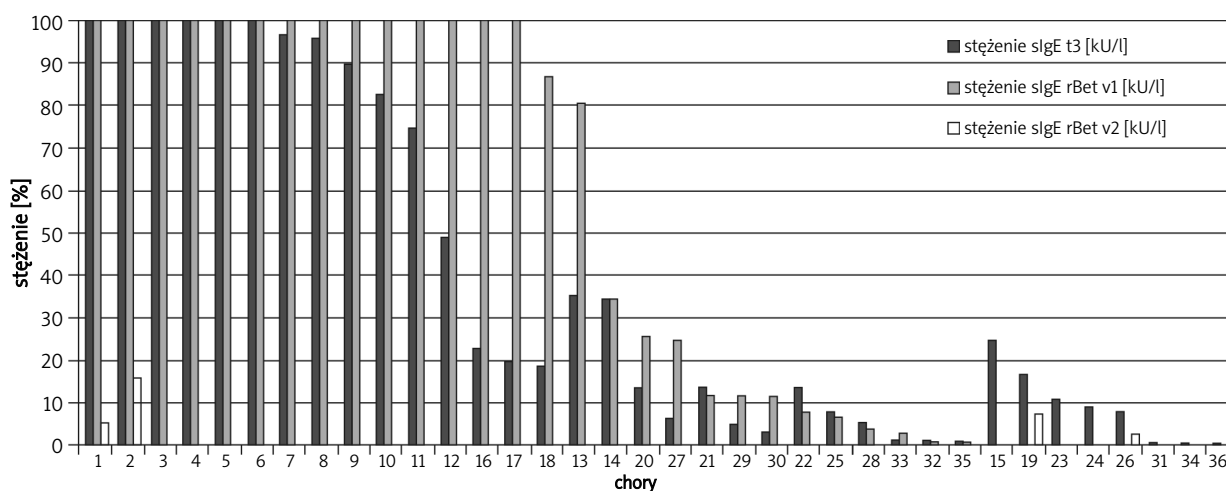
do grupy badanej opierała się na wywiadzie wskazującym na alergię pyłkową, wynikach PTS oraz wykryciu na podstawie badania Polycheck plus podwyższonego stężenia sIgE dla brzozy (t3) – powyżej 0,35 kU/l. W skład grupy docelowej weszło 20 mężczyzn w wieku 11–59 lat, średnia 17,8 roku, oraz 16 kobiet w wieku 18–52 lat, średnia 26,8 roku. Na badania uzyskano zgodę Komisji Bioetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Wyniki

Mimo przyjętych jako kryteria włączenia dodatnich wyników PTS z pyłkiem brzozy oraz pozytywnych rezultatów pomiaru surowiczego stężenia sIgE t3, w zasadzie nie było dwu identycznych przypadków. U części chorych (np. nr 3, 5, 7, 9, 11, 14, 16, 18) stwierdzano różne wysokie miana sIgE t3 oraz Bet v1, pacjenci nr 22, 27, 28, 29 mieli niejednocie niskie miana obu oznaczeń, a u chorych nr 15, 23, 24 mimo dodatnich wyników dla t3 niemal nie ujawniano badanych dodatkowo epitopów. Trudno zauważalne na rycinie 1. podwyższone stężenia sIgE dla Bet v2 odnotowano u chorych nr 1, 2, 19 i 26.

Analiza danych odnośnie do drugiego celu pracy ujawniła 4 odmienne immunologicznie fenotypy alergii na pyłek brzozy ustalonej klinicznie na podstawie charakterystycznych objawów, pory ich występowania (kwiecień do połowy maja), zgodnej z lokalnymi pomiarami palinologicznymi, potwierdzonej dodatnim wynikiem PTS pyłek brzozy i – co rozstrzygało o włączeniu do analizy – dodatnim wynikiem oznaczeń sIgE dla pyłku brzozy t3.

Fenotyp A = t3 (+), rBet v1 (+), rBet v2 (–). U większości (24/36) badanych wystąpił fenotyp zgodności sIgE t3 wyłącznie z alergenem głównym pyłku brzozy sIgE rBet v1, co stanowiło 72,2%. Przykład wyniku na rycinie 2. A. Oznacza to, że niecałe 3/4 badanych to idealni kandyda-



Ryc. 1. Graficzne zestawienie wyników oznaczeń. Wysycione sIgE profile po lewej stronie diagramu są zupełnie różne od ubogo zaznaczających się po stronie prawej

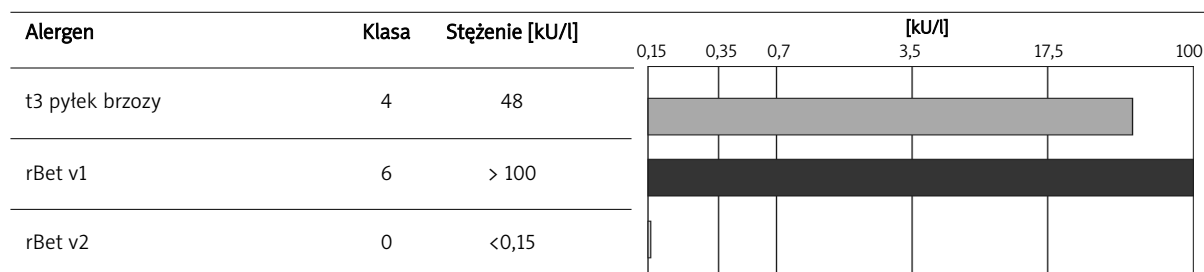
ci do immunoterapii szczepionką standaryzowaną opartą na Bet v1.

Fenotyp B = t3 (+), rBet v1 (+), rBet v2 (+). Tylko niewielka grupa badanych miała przeciwciała dla alergenów rBet v1 oraz rBet v2. Objęta 2 spośród 36 osób (5,5%). Uzyskany rezultat nie stanowił przeciwwskazania do immunoterapii, lecz informował o ewentualnym zwiększonym ryzyku powikłań w trakcie szczepień z jednej strony (gdy poziom Bet v1 był niski) oraz mniejszej skuteczności (gdy jednocześnie poziom Bet v2 był wysoki) – z drugiej. Przykład wyniku podano na rycinie 2. B.

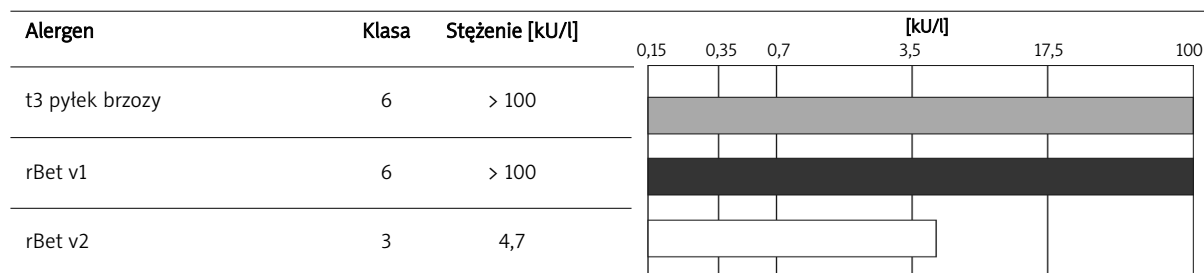
Fenotyp C = t3 (+), rBet v1 (-), rBet v2 (-). Zaskakujące okazały się rezultaty 6 spośród 36 chorych, u których pomimo dodatniego wyniku sIgE dla pyłku brzozy t3 przeciwciała dla żadnego z badanych alergenów brzozy rBet v1 i rBet v2 nie były wykrywalne. Stanowiło to 16,6% ocenianej grupy. Prawdopodobnie za dodatni wynik odpowiadały inne epitopy brzozy. Przykład pokazano na rycinie 2. C. W tej podgrupie nie podjęto immunoterapii z obawy przed poważnymi reakcjami ubocznymi albo powstaniem nowych uczuleń, głównie na Bet v1. Wobec dość częstego występowania tej postaci uczulenia brzożowego, a także wobec teoretycznego ryzyka potencjalnych reakcji ubocznych podczas immunoterapii osób o fenotypie C, poszerzono obserwację. Wśród osób odczulanych zanim stały się dostępne oznaczenia epitopów metodą Polycheck plus Bet v1/Bet v2, wyszukano chorych o powikłanym przebiegu SIT. Okazało się, że wśród pacjentów odczulanych szczepionkami złożonymi (olsza, leszczyna, brzoza), u których po 3 latach terapii nie uzyska-

no poprawy tolerancji alergenów brzozy (przy ustąpieniu objawów wywołanych pyłkiem drzew wczesnych), byli pacjenci, u których sIgE dla Bet v1 oraz Bet v2 było ujemne, a t3 dodatnie. Przykład wyniku przedstawiono na rycinie 2. C.

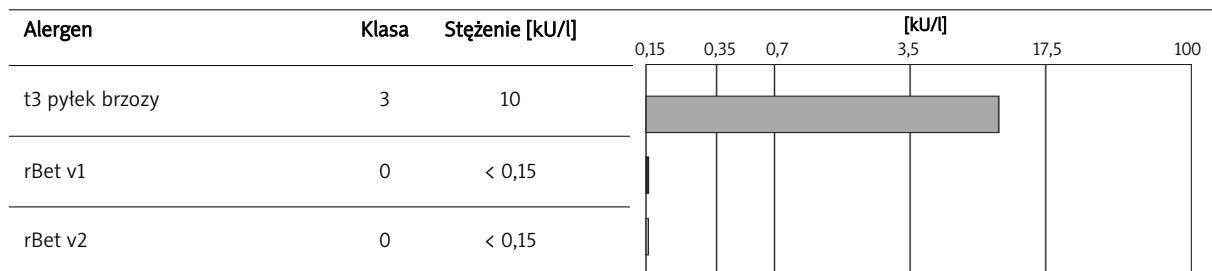
Fenotyp D = t3 (+), rBet v1 (-), rBet v2 (+) stwierdzono w dwóch charakterystycznych przypadkach. Jeden z nich dotyczył chorego w wieku lat 15: wynik dla pyłku brzozy t3 – 7,2 kU/l, klasa 3, jednak IgE dla rBet v1 (rekombinowany alergen główny pyłku brzozy pierwszy) nie zostały wykryte – stężenie wynosiło 0,18 kU/l, klasa 0. Jednocześnie odnotowano dodatni wynik dla profiliny (rBet v2) 2,0 kU/l, klasa 2, oraz dla wielu innych rodzajów pyłków roślin (olszyna szara – klasa 2, leszczyna – klasa 4, tymotka – klasa 6, bylica – klasa 4), lateksu i pokarmów (orzech laskowy, orzech ziemny, mąka pszenna – wszystkie klasa 1). Ta pozornie mnoga lista alergenów może w istocie oznaczać uczulenie wyłącznie na profilinę brzożową, której homologii występują we wszystkich wymienionych źródłach alergenowych. Wyniki PTS w opisanym przypadku sugerowały potrzebę immunoterapii mniej na pyłek brzozy (4/6, histamina 5/25) niż innych roślin (tymotka 12/25, bylica 10/30, żyto 12/30). Można sądzić, że wynik PTS słabo dodatni dla brzozy mógł wynikać ze składu preparatu, gdzie być może była większa ilość Bet v1 i nieznaczna Bet v2, a pozostałe PTS ujawniały albo profilinę jako panalergen, albo inne wysoce swoiste białka pyłku wymienionych roślin. Przykład fenotypu D przedstawia rycina 2. D.



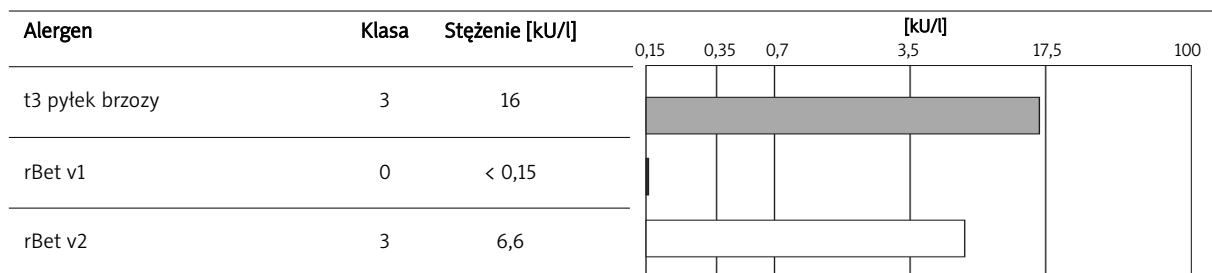
Ryc. 2. A. Wynik badania Polycheck plus: fenotyp A = t3 (+), rBet v1 (+), rBet v2 (-). PTS pyłek brzozy (+++)



Ryc. 2. B. Wynik badania Polycheck plus: fenotyp B = t3 (+), rBet v1 (+), rBet v2 (+). PTS pyłek brzozy (+++)



Ryc. 2. C. Wynik badania Polycheck plus: fenotyp C = t3 (+), rBet v1 (-), rBet v2 (-). PTS pyłek brzozy (+++)



Ryc. 2. D. Wynik badania Polycheck plus: fenotyp D = t3 (+), rBet v1 (-), rBet v2 (+). PTS pyłek brzozy (+++)

Wyniki badania tezy 3, czy zachodzi uzasadniona klinicznie potrzeba wykonywania zarówno PTS, jak i surowicznych oznaczeń Polycheck plus sIgE Bet v1/Bet v2 u chorych uczulonych na pyłek brzozy, czy też wystarczające jest oznaczenie jedynie sIgE dla pyłku brzozy t3, ujawniły, że 4 z 36 osób, czyli 11,1% badanych, całkowicie nie kwalifikuje się do SIT, a 8 (ponad 22%) może mieć gorsze wyniki leczenia i większe ryzyko powikłań. Wiąże się to z odmiennym profilem indywidualnym alergii u wymienionych 12 badanych. Wyniki odnośnie do celu 3 przedstawiono w tabeli 1.

W badanej grupie średnie stężenie IgE dla alergenu brzozy (t3) wynosiło 36,2 kU/l, średnie stężenie sIgE dla rBet v1 wynosiło 46,7 kU/l, a dla rBet v2 0,4 kU/l. Aż 11 pacjentów miało stężenie swoistego IgE dla brzozy powyżej 50 kU/l (30,5%).

Omówienie wyników

Puła przeciwciał E może być odmienna w skórze i w surowicy czy płynach tkankowych, a ilość alergenu pozostanie różna w surowym źródle, standaryzowanym wyciągu fabrycznym czy wysoce oczyszczonym antygenie lub rekombinowanym epitopie wiążącym przeciwciała w surowicy badanej. Ciągłe istnieje potrzeba dokładniejszego zrozumienia wiarygodności RAST wobec PTS. Nadal dyskutowana jest kwestia, czy wykonywanie oznaczeń sIgE ma sens kliniczny i ekonomiczny, jeśli wcześniejsze PTS wskazały źródło alergii. Pojawiają się także pytania, jakim zestawem należy się ewentualnie posłużyć [4].

Zgodnie z definicją alergenu głównego wystąpił on u większości badanych. I tylko ta „większość” to idealni

kandydaci do SIT. Należy dodać, że kolejne 2 osoby miały przeciwciała także dla rBet v1 (oprócz Bet v2 – fenotyp B), co po dodaniu daje 77,8% chorych z dominującym lub wyłącznym uczuleniem na Bet v1. Ostatecznie brak w surowicy oznaczalnych stężeń rBet v1 dotyczył 8 (22,2%) badanych. Oznacza to, że „mniejszość”, czyli co piąty badany, „nie nadawała się” do immunoterapii. Wyniki badań własnych oznaczają, że w Polsce zaledwie ok. 3/4 uczulonych to idealni kandydaci do immunoterapii, bo reprezentują fenotyp A lub B. Świadczy to o istotnej potrzebie pogłębionej analizy immunologicznej przed wieloletnią immunoterapią swoistą. Owa swoistość bowiem jest już coraz częściej określana na podstawie zawartości w szczepionce antygeny głównego Bet v1, a ostatnio nawet jego hipoalergicznym podjednostek, a nie mieszaniny epitopów naturalnych o niejawnym dla lekarza klinicysty składzie. Intensywnie prowadzone w wielu kra-

Tab. 1. Zestawienie wyników sIgE dla t3 wobec Bet v1 oraz Bet v2 w badanej grupie

Rodzaj oznaczenia	Wynik dodatni, n (%)	Wynik ujemny, n (%)	Uwagi
PTS	36 (100)	0	*
t3	36 (100)	0	*
Bet v1	28 (77,8)	8 (22,2)	Δ
Bet v2	4 (11,1)	32 (88,9)	#

* wyniki całkowicie zgodne są związane z celowym doбором chorych w badanej grupie, Δ 8 na 28 osób gorzej kwalifikuje się do SIT, # 4 osoby nie kwalifikują się do SIT

jach badania sugerują, że oznaczanie poszczególnych determinant antygenowych w niedalekiej przyszłości stanie się podstawą skutecznego i bezpiecznego odczulania [1], a także trafnej, zindywidualizowanej eliminacji alergenów homologicznych, odpowiedzialnych za reakcje krzyżowe pyłkowo-pokarmowe [2]. Osoby z fenotypem B (znacząca obecność IgE dla Bet v1 oraz jakakolwiek Bet v2), których liczba była niewielka w odróżnieniu od zbliżonych badań zagranicznych [2], kwalifikują się do odczulania, choć można się spodziewać nieco gorszych rezultatów tej metody leczenia. Jednocześnie występują u nich inne reakcje krzyżowe zależne zarówno od PR10, jak i profiliny. W przypadku alergii na pyłek brzozy trudno jest za pomocą dotychczasowych wyciągów do PTS określić zawartość determinant antygenowych – Bet v1 czy Bet v2. Zakłada się przy tym, na podstawie badań sIgE w populacjach północnoeuropejskich, że obecność Bet v1 towarzyszy niemal zawsze (ok. 95%) pyłkowicy brzozowej. Tymczasem w analizie Wensing i wsp. [7] oceniono, że tylko 85% chorych było uczulonych na Bet v1, ok. 71% na profilinę. Występowanie Bet v2 było związane z wyższą liczbą dodatnich testów RAST dla pokarmów roślinnych w porównaniu z Bet v1. Uczuleni na Bet v1 towarzyszyło występowanie większego nasilenia odpowiedzi w postaci dodatnich PTS, a także więcej objawów związanych ze spożywanymi pokarmami. Alergia na Bet v1 łączyła się z obecnością sIgE wobec jabłka, orzecha laskowego i brzoskwini. Z kolei uczuleni na profilinę w badanej grupie towarzyszyły dodatnie RAST dla wszystkich zbadanych pokarmów pochodzenia roślinnego z wyjątkiem jabłka, brzoskwini oraz melona. W naszych poprzednich pracach wykazano, że mieszkańcy środkowej Polski z objawami alergicznego nieżytu nosa i astmy, uczuleni na pyłek brzozy, wykazywali zaledwie w 62% obecność sIgE dla Bet v1, przy czym wówczas oznaczeń dokonywano nieco droższą metodą (CAP).

Okazuje się, że informacja uzyskana na podstawie oznaczeń sIgE wobec rekombinowanych epitopów znacznie pogłębia charakterystykę badanego przypadku, niekiedy wręcz określa odmienny fenotyp pyłkowicy i ma znaczenie dla ciężkości przebiegu czy reakcji krzyżowych. Najciekawsze jest jednak sygnalizowane na wstępie spostrzeżenie, że szczepionka „pyłkiem brzozy” jest w wielu firmach standaryzowana głównie na podstawie zawartości Bet v1. Tak więc pacjenci uczuleni „na brzozę”, ale o dominującym lub wyłącznym profilu Bet v2 faktycznie nie będą poprawnie leczeni [7].

W minionej dekadzie wykazano, że profilina i krzyżowo reagujące determinanty węglowodanowe (*cross-reactive carbohydrate determinants* – CCD) są zdolne do indukowania krzyżowo reagujących IgE o niewielkim znaczeniu klinicznym. Zbadano 100 osób z alergią wziewną, 17 chorych z alergią na lateks (*natural rubber latex* – NRL) i 40 uczulonych na jad owadów błonkoskrzydłych. Rozpoznanie ustalano na podstawie wywiadu, sIgE oraz SPT. Chorych uczulonych na CCD zidentyfikowano na podsta-

wie ujemnych wyników SPT, lecz dodatnich rezultatów sIgE wobec glikoproteiny – bromelainy [6]. Powyższy przykład dobrze ilustruje mało znaną możliwość diagnozowania z niezgodności omawianych testów w miejsce upartego poszukiwania ich nie zawsze istniejącej zgodności.

Opisany typ uczulenia może być przyczyną fałszywie dodatnich sIgE wobec lateksu czy jabłka wśród chorych z pyłkowicą i anafilaksją na jady [6]. Z przedstawionej pracy wynika ponadto, że mono- lub polialergia to nie tylko odmienność w zakresie zbadanych źródeł alergenowych, ale także istotna różnica molekularna, zapewne nie tylko w zakresie wymienionych panalergenów [9]. Odnosząc cytowane doniesienie do własnych doświadczeń kazuistycznych, można dodać kwestię wadliwej decyzji o immunoterapii skutkującej „niemożnością” uzyskania dawki podtrzymującej u osoby z klinicznie jawną alergią brzozową wyłącznie wobec rBet v2, przy dodatnich PTS dla pyłku brzozy, lecz ujemnym sIgE dla rBet v1 [10]. W badaniach Carnes i wsp. oceniono skład alergoidów do immunoterapii brzozą. W skład preparatu wchodziło 5 izoform Bet v1 oraz Bet v2, Bet v6 i Bet v7. Znaczącą ilościowo zawartość stanowiły jednak Bet v1.0101 i rBet v2 [11].

Fenotyp C = t3 (+), rBet v1 (-), rBet v2 (-), obrazowo określany przez autorów jako pusty, był największym zaskoczeniem podczas analizy wyników. Stosowane obecnie preparaty do immunoterapii pyłkiem brzozy są standaryzowane na podstawie zawartości Bet v1, z nieznaną ilością Bet v2, a szczepionki przyszłości, obecnie w fazie końcowych prób klinicznych, zawierają niemal wyłącznie rBet v1, bez rBet v2 [2]. Zastosowanie takich preparatów u chorego nie tylko nie przyniesie poprawy, ale może wywołać silne odczyny poszczepienne i doprowadzić do wytworzenia alergii na Bet v1, której dotychczas nie było. Uważne odczytanie omawianego fenotypu D pozwala więc uznać projektowaną szczepionkę z pyłkiem brzozy (główny składnik szczepionki to Bet v1) za nieadekwatną dla pacjenta. Nie odpowiada to uporczywym skargom chorego na objawy pojawiające się w kwietniu i maju, a nie tylko w czerwcu i lipcu. Dla pełnego zrozumienia istoty uczulenia w tym i podobnych przypadkach należałoby dodatkowo oznaczyć Phl p 1, 5 lub inne dostępne epitopy. W pracy Focke i wsp. [2] zidentyfikowano ponad 10 różnych kombinacji składu białkowego szczepionek (23,1–314 µg/ml) i zawartości alergenu Bet v1 (1,62–19,6 µg/ml). Alergen Bet v4 był obecny w 3 ekstraktach. To konkretny przykład przydatności oceny sIgE dla rBet v2 i rBet v1 obecnych w panelu Polycheck plus niezależnie, a nawet wbrew SPT. Jak podkreśla Chinoy [4], po doskonałe narzędzia diagnostyczne, jakimi są oznaczenia surowicze IgE, sięgają obecnie znacznie częściej specjaliści innych dziedzin niż alergologia. Sytuacja taka jest z wielu powodów nienaturalna.

Koszty diagnostyki „podwójnej” SPT oraz sIgE wydają się znacznie wyższe w stosunku do każdej z metod oddzielnie. Ewentualna niedokładność w doborze składu szczepionki alergenowej może jednak skutkować brakiem

oczekiwanej skuteczności przy kilkuletnich wysokich kosztach bezpośrednich i pośrednich immunoterapii, a nawet wptynąć na wartość bezcenną, jaką jest życie chorego. Oczywiście nie chodzi o niepotrzebne wykonywanie wszystkich oznaczeń obydwojma metodami, lecz wykonanie sIgE dla 2–3 pojedynczych antygenów przewidywanych do odczulania lub panelu typu Polycheck plus Bet v1/Bet v2 zawierającego wszystkie planowane alergeny. Korzyść polega na dodatkowej informacji ułatwiającej precyzyjny wybór alergenów najbardziej istotnych z punktu widzenia interesów chorego z jednej strony oraz na wyeliminowaniu składowych mogących wywołać reakcje poszczepienne – to jest tych antygenów, którym mimo dodatniej próby skórnej nie towarzyszy żaden lub minimalny odczyn IgE. Domniemana zgodność PTS i sIgE okazuje się w świetle nowych faktów pozorna, ponieważ kwalifikacja do immunoterapii oparta na PTS, a nawet na „zwykłych” sIgE dla t3 nie wyklucza ryzyka anafilaksji albo co najmniej braku skuteczności odczulania wśród chorych uczulonych wyłącznie na profilinę – Bet v2 lub dalszych, „mniejszych” epitopów pyłku brzoży. Badania własne wskazują na uzasadnioną potrzebę wykonywania zarówno skórnych testów punktowych, jak i panelowych surowiczych oznaczeń sIgE u chorych uczulonych, zwłaszcza że postulowana diagnostyka zestawem Polycheck plus nie przekracza kosztów jednego opakowania szczepionki odczulającej.

Na podstawie badań własnych 36 chorych z ustaloną klinicznie alergią na pyłek brzoży wyodrębniono 4 odmienne profile alergenowe określone jako fenotypy A, B, C, D. Wskazano na większą kompatybilność kompleksowych oznaczeń sIgE za pomocą panelu Polycheck plus niż SPT, a nawet sIgE t3, wobec składu obecnie stosowanych szczepionek alergenowych i możliwych reakcji niepożądanych, w tym rozwoju nowych uczuleń. Podniesione zagadnienia znajdują odpowiednik w doniesieniu dotyczącym innego ważnego alergenu. W badaniu Graifa [8] u 35 chorych oceniano PTS oraz sIgE po 1–168 miesięcy po użądleniu. Powtarzalność PTS wyniosła 23/35 (66%), a powtarzalność oznaczeń sIgE 16/27 (59%) osób, u których udało się pobrać krew dwukrotnie. Analiza zgodności PTS z sIgE wyniosła zaledwie 51% i dotyczyła 30 z 59 próbek. Autorzy cytowanej pracy oceniają, że powtarzalność PTS i sIgE jest raczej uboga (*relatively poor*). Zauważają też, że powszechną praktyką jest wykonywanie jednorazowej diagnostyki przed immunoterapią jadami błonkoskrzydłych. Konkludują, że może to prowadzić zarówno do niedostatecznego, jak i nadmiernego leczenia. Wydaje się, że przywołany problem w podobnym stopniu dotyczy innych alergoz oraz że wykonanie jednorazowo „podwójnej” diagnostyki PTS plus sIgE może poprawić szanse chorych na trafniejszy wybór odczulania, także w astmie czy alergicznym nieżycie nosa. Założenie takie jest z powodzeniem realizowane we własnej praktyce alergologicznej autorów.

Oznaczanie sIgE dla t3 u chorych z dodatnim wywiadem oraz pozytywnym wynikiem PTS dla pyłku brzoży nie

ma uzasadnienia w badanym materiale. Wzbogacenie panelu o epitopy Bet v1 i Bet v2 u ok. 1/4 chorych pozwoliło jednak ustalić ryzyko SIT. Biorąc pod uwagę ewaluację kosztów, lekarz specjalista powinien każdorazowo rozważyć wybór odpowiedniej metody oznaczania sIgE, a mianowicie szybkie, porównywalne cenowo z kosztem testu skórniego pomiary panelowe (w tym dostępny już w Polsce Polycheck plus wzbogacony o wybrane kluczowe cząstki uczulające Bet v1 i Bet v2), znacznie droższe i dłuższe w realizacji pomiary stężeń pojedynczych sIgE albo porównywalne z nimi kosztowo analizy pojedynczych wybranych białek brzoży (Bet v1, Bet v2). Warto dodać, że pozornie duży (rzędu 100–180 PLN) realny koszt takich oznaczeń odpowiada wydatkom ponoszonym przez chorego na zakup jednego (*sic!*) opakowania szczepionki odczulającej. Przeciętna kuracja obejmuje ok. 7–10 opakowań szczepionki. W odniesieniu do bezpośrednich i pośrednich kosztów wieloletniej immunoterapii wydatek poniesiony wstępnie na trafniejsze dostosowanie składu szczepionki do danego pacjenta optaca się więc dziesięciokrotnie.

Wnioski

1. W badanym materiale wykryto znaczne różnice w wynikach oznaczeń sIgE t3 (pyłek brzoży) wobec panelowych oznaczeń sIgE dla epitopów rekombinowanych Bet v1 i Bet v2 u poszczególnych chorych z pyłkowicą brzożową.
2. Na podstawie wyników panelu Polycheck plus można wyróżnić cztery odmienne immunologicznie fenotypy alergii na pyłek brzoży, z których dwa dyskwalifikują chorych jako kandydatów do immunoterapii.
3. Istnieje uzasadniona klinicznie i ekonomicznie potrzeba wykonywania zarówno skórnych testów punktowych, jak i surowiczych oznaczeń panelem Polycheck plus Bet v1/Bet v2 u chorych uczulonych na pyłek brzoży, bowiem oznaczenie jedynie PTS, a nawet sIgE dla pyłku brzoży t3 nie jest wystarczające u co najmniej 1 na 10 kandydatów do immunoterapii.

Piśmiennictwo

1. Sander I, Fleischer C, Meurer U, et al. Allergen content of grass pollen preparations for skin prick testing and sublingual immunotherapy. *Allergy* 2009; 64: 1486-92
2. Focke M, Marth K, Valenta R. Molecular composition and biological activity of commercial birch pollen allergen extracts. *Eur J Clin Invest* 2009; 39: 429-36.
3. Akkerdaas JH, Wensing M, Knulst AC, et al. How accurate and safe is the diagnosis of hazelnut allergy by means of commercial skin prick test reagents? *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 132: 132-40.
4. Chinoy B, Yee E, Bahna SL. Skin testing versus radioallergen sorbent testing for indoor allergens. *Clin Mol Allergy* 2005; 3: 4.

5. Yunginger JW, Ahlstedt S, Eggleston PA. Quantitative IgE antibody assays in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 1077-84.
6. Ebo DG, Hagendorens MM, Bridts CH, et al. Sensitization to cross-reactive carbohydrate determinants and the ubiquitous protein profilin: mimickers of allergy. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 137-44.
7. Wensing M, Akkerdaas JH, van Leeuwen WA, et al. IgE to Bet v 1 and profilin: cross-reactivity patterns and clinical relevance. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 435-42.
8. Graif Y, Confino-Cohen R, Goldberg A. Reproducibility of skin testing and serum venom specific IgE in Hymenoptera venom allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006; 96: 24-9.
9. Carnés J, Himly M, Gallego M, et al. Detection of allergen composition and in vivo immunogenicity of depigmented allergoids of *Betula alba*. *Clin Exp Allergy* 2009; 39: 426-34.
10. Rossi RE, Monasterolo G, Monasterolo S. Detection of specific IgE antibodies in the sera of patients allergic to birch pollen using recombinant allergens Bet v 1, Bet v 2, Bet v 4: evaluation of different IgE reactivity profiles. *Allergy* 2004; 59: 888-94.
11. Movérare R, Westritschnig K, Svensson M, et al. Different IgE reactivity profiles in birch pollen-sensitive patients from six European populations revealed by recombinant allergens: an imprint of local sensitization. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 128: 325-35.