Allergia molekulaarne diagnostika
Osakond: kliiniline immunoloogia, tel 617 1140

Üldiseloomustus
Siiani kasutuses olev traditsiooniline allergia diagnostika põhineb natiivallergeeenide ekstraktidel. Lisandunud molekulaarne allergoloogia võimaldab määrata spetsiifilisi IgE antikehi ka erinevate allergeenide molekulaarsete **komponentide** vastu. Meetodi aluseks on biotehnoloogia arengu uus tase- oskus toota rekombinantseid või allergeeni ekstraktidest hästi puhastatud allergeeni molekule.

Näidustused ja tõlgendamine
Molekulaarse uuringumeetodi väärtus seisneb selles, et tuvastada saab spetsiifilisi ja ristreaktiivseid allergeenide komponente ja seeläbi on võimalik eristada spetsiifilist ehk primaarset ja ristreaktiivset ülitundlikkust. Ristreaktiivse ülitundlikkuse põhjuseks on homoloogsed allergeensed molekulaarsed komponendid nn panallergeenid, mis on ühised sugulasliikidel või ka väga kaugetel liikidel. Meetod võimaldab kvantifitseerida allergeen spetsiifilist IgE- d üksiku väga spetsiifilise allergeeni molekuli suhtes.
Uuringutulemused võimaldavad arstil:

- hinnata süsteemse või lokaalse allergilise reaktsiooni tekke riski
- teha kindlaks, kas ülitundlikkus patsiendil on primaarse allergeenikomponendi suhtes või ristreaktiivsuse tulemus
- võimaldab patsienti nõustada allergeenidest hoidumise suhtes, korrigeerida toitumist
- tõeste allergeeni komponentide tuvastamine ja nende standardiseeritus võimaldab patsiendi raviks kasutada spetsiifilist immuunteraapiat (SIT)
- võimaldab tuvastada ja täpsustada allergiat, kui allergeeni ekstraktile on saadud nõrk või negatiivne tulemus

Ülitundlikkuse kliiniline pilt on sõltuv:

1.Proteiinide stabiilsusest. Toiduallergeenide komponentide ülitundlikkusreaktsioonide tekke tugevus patsiendil on sõltuv allergeeni komponentide stabiilsusest (nt termostabiilsus/-tundlikkus). Osad komponendid on tundlikud ja osad on stabiilsed.

Stabiilsus suureneb suunas *Profilin- PR-10- CCD- LTP- Storage proteins*

Tundlikud proteiinid kaotavad oma allergeensuse nt toidu termilisel töötlemisel ja seedetrakti ensümaatilise lõhustamise tõttu.
Tundlike allergeenide esinemisel on allergiline reaktsioon lokaalne ja ei ole süsteemne. Stabiilsete proteiinide- allergeenide olemasolul tekkiv allergiline reaktsioon on tavaliselt süsteemne aga võib olla ka lokaalne (nt *OAS, oral allergy syndrom).*

2. Allergeeni spetsiifilise komponendi hulgast (söödud või sissehingatud)- tavaliselt väiksem hulk allergeeni põhjustab ka ainult lokaalse sümptomaatika ja suurem kogus süsteemse reaktsiooni, kuid oluline on, et ka suure koguse **tundliku proteiini sissehingamisel või söömisel võib allergiline reaktsioon olla süsteemne.**

Allergeeni molekulaarsete komponentide üldiseloomustus

Molekulaarne komponent, panallergeen	Tundlikkus kuumutamise ja seedetrakti proteaaside suhtes	Laboris määratav allergeeni komponent	Allergeeni allikad	Kliiniline väljendus
PR-10 proteiinid puuvilja viljalihas patogeneesiga seotud proteiinide perekonda kuuluv proteiin 10 (pathogenesis- related protein)	Tundlikud Kergesti lagunevad	Bet v 1 ja Bet v 1-ga homo-loogsed Cor a 1, Gly m 4, Ara h 8	Kaseliste sugukond: sarapuupähkel Roosiõelised: õun, kirss, virsik, vaarikas, maasikas, aprikoos Sarikalised: porgand, seller, apteegitill, petersell Oalaadsed: sojaoad mungoad, maapähkel	Peamiselt OAS. Sarapuupähkli, selleri, maapähkli ja sojaubade PR-10 proteiinil osaline resistentsus kuumuse suhtes võib põhjustada raskeid allergilisi reaktsioone Olulise regionaalse tähendusega allergeeni komponent Põhja-Euroopas kase kasvupiirkonnas Keetmisega ja töödelduna sageli talutavad.
nsLTP puu- ja juurviljade koores mittespetsiifiline lipiidi transportiv valk (non- specific lipid transfer proteins)	Stabiilsed Kõrge resistentsus	Cor a 8	Kaseliste sugukond: sarapuupähkel Roosiõelised: virsik, õun, kirss, vaarikas, maasikas, aprikoos, ploom, mandel, pirn Muud: mais, maapähkel, oder, greip, kapsas, kaalikas, tomat, riis, nisu, sidrun,	OAS, raskemad süsteemsed reaktsioonid (anafülaksia, urikaaria, angioödeem, astma). Olulise regionaalse tähendusega allergeeni komponent Lõuna-Euroopas virsiku kasvupiirkonnas. Toidu töötlemine ei aita allergilist reaktsiooni vältida.

Profiliinid aktiin- seonduvad proteiinid (*Profilins)*	Tundlikud	Phl p 12 koos Phl p 7 (prokaltsiin)	Erinevad taimed, tsitrusviljad, melon banaan, tomat, virsik, heintaimed, umbrohtud ja teised taimsed viljad	Kliinilisi sümptomeid põhjustavad harva, peamiselt OAS. Üksikutel juhtudel võivad põhjustada raskeid reaktsioone (tsitrusviljad, melon, banaan, tomat). Väga sageli ristreaktiivne ka kaugelt seotud liikide vahel. Kliiniliselt väiksema tähtsusega allergeen. Keetmisega ja töödelduna sageli talutavad.
Säilitusproteiinid, sisalduvad pähklites, seemnetes ja luuviljaliste seemnetes (*Storage proteins)* Kupiinid (globuliinid 7/8S ja 11S) ja prolamiinid (albumiin 2S), viimane on kliiniliselt olulisem	Stabiilsed proteiinid Kõrge resistentsusega	2S globuliinid: Ara h 2, 7S globuliinid: Ara h 1, Gly m 5 11S globuliinid: Ara h 3, Gly m 6	Maapähkel, sojaoad mandel, sarapuupähkel, päevalilleseemned seesamiseemned	Lisaks OAS-le ka raskemad süsteemsed allergilised reaktsioonid. Sagedased ristreaktsioonid pähklite ja seemnete erinevate liikide vahel. Ristreaktsioonide sagedus tõuseb vanusega. Toidu töötlemine ei aita allergilist reaktsiooni vältida.
CCD-d ristreaktiivne karbohüdraadi determinant (*Cross- reactive Carbohydrate Determinant*)	Stabiilsed proteiinid	MUXF3 CCD, bromeliin	Laialt esindatud taimedel ja selgrootutel loomadel	Kliinilisi sümptomeid põhjustavad harva, sage ristreaktsiooni põhjustaja, üksikutel patsientidel võib tekkida raske allergiline reaktsioon nt. selleri, tomati, suvikõrvitsa suhtes.

Kliinilise immunoloogia osakonnas alustasime spetsiifilise IgE määramist järgmiste allergeenikomponentide suhtes:

1. Toiduallergeenide komponendid
   - Piim (f2), *Bos domesticus*
   f78 n Bos d 8 (kaseiin)

Enamus piimaallergikutest on allergilised mitmele piimaallergeeni komponendile korraga. 80% lastest kellel on piimaallergia kujuneb aja jooksul piimale tolerants. Enamus lapsi talub

kuumutatud piima. Kõrge kaseiini ja β- laktoglobuliini (Bos d 5) vastaste IgE antikehade tase viitab jäävale allergiale ja suuremale süsteemse reaktsiooni riskile.

- Nisu (f4), *Triticum aestivum*

f416 rTri a 19 omega-5 gliadiin

Mittelahustuvatest nisu valkudest on omega- 5 gliadiin ja suure molekulkaaluga gluteniin põhilised allergeenid, mis on seotud koormusest indutseeritud anafülaktiliste ja kiiret tüüpi allergiliste reaktsioonidega.
ca 80 % WDEIA *(wheat-dependent, exercise induced anaphylaxis*) patsientidest on omega-5 gliadiini vastased IgE antikehad positiivsed.
ca 20 % WDEIA patsientidest on IgE tüüpi antikehad gluteniinile.
30-50 % WDEIA patsientidest on nisu vastased antikehad negatiivsed, kuid suur osa nendest on positiivsed omega-5 gliadiini suhtes.

- Maapähkel (f13), *Arachis hypogaea*

f422 rAra h 1 (säilitusproteiin, 7S)
f423 rAra h 2 (säilitusproteiin, 2S)
f424 rAra h 3 (säilitusproteiin, 11S)
f352 rAra h 8 (PR-10 proteiin, Bet v 1 homoloog)

rAra h 2 on sagedaseim primaarse maapähkli allergia põhjustaja. rAra h 1, rAra h 2 ja rAra h 3 kuuluvad säilitusproteiinide hulka ja põhjustavad tugevaid süsteemseid allergilisi reaktsioone. Proteiinide allergeensus ei vähene termilisel töötlemisel ega seedeprotsessis.
rAra h 8 (Bet v 1 homoloog) positiivsuse korral on primaarne ülitundlikkus patsiendil lepa ja kasetolmu suhtes (maapähkli suhtes ristreaktiivsus). Kliiniline sümptomaatika on peamiselt lokaalne.

- Sarapuupähkel (f17), *Corylos avellana*

f428 Cor a 1- (Bet v 1 homoloog, PR-10)
f425 Cor a 8- (lipiidi transportiv proteiin)

Cor a 1 on ristreaktiivne labiilne marker primaarse kaseallergia korral. PR-10 molekulaarse homoloogia tõttu põhjustab allergiat Põhja- Euroopas ja annab enamasti kerget OAS. Cor a 1 on ristreaktiivne ka teiste õietolmude ja toidutaimedega, kus esineb PR-10 valk.
Cor a 8 on stabiilne komponent, ristreaktiivne virsiku primaarallergikutel. Võimalikud nii kerged kui rasked allergilised reaktsioonid. Annab ristreaktsiooni kõigi toidutaimedega, mis sisaldavad nt LTPs.

- Munavalge (f1), *Gallus domesticus*

f233 nGal d 1 (ovomukoid, stabiilne kuumutamisel)

See komponent on üks neljast põhiallergeenist munaallergia korral. Munavalge dominantne allergeen, kuumakindel, resistentne seedeensüümidele. Kõrge Gal d 1 IgE tase viitab süsteemse allergilise reaktsiooni riskile ja madal IgE tase või IgE puudumine tolerantsi kujunemisele munaallergia korral (võimalik tarvitada keedetud muna).

- Sojauba (f14), *Glycine max*

f353 rGly m 4 (PR-10 proteiin, Bet v homoloog)
f431 nGly m 5 (säilitusproteiin, 7S)
f432 nGly m 6 (säilitusproteiin, 11S)

Gly m 5 ja Gly m 6 on sojaallergia primaarse ülitundlikkusreaktsiooni näitajad, stabiilsed markerid, võimalik anafülaktiline reaktsioon (osalise molekulaarse sarnasuse tõttu võivad anda ristreaktsiooni maapähkliga (Gl ym 5/Ara h 1 ja Glym6/Arah3).Gly m 4 on ristreaktiivne labiilne marker kaseallergia korral, enamasti tekib kerge allergiline reaktsioon, harva raske

OAS. Gly m 4 on ristreaktiivne ka Ara h 8 ja kõigi PR-10 valku sisaldavate õietolmude ja taimsete viljadega. Uuringut on soovitav teha kõigil õietolmuallergikutel, kellel kahtlus soja- ja maapähkli allergiale.

2. Taimede ja puude tolmud

-Timut (g6), *Phleum pratense*

g213 rPhl p 1, rPhl p 5b (spetsiifiline timuti õietolmu allergeenikomponentide segu)

g214 rPhl p 7 prokaltsiin, rPhl p 12, (profiliin, segu)

IgE antikehade positiivsus g213 komponentide suhtes viitab primaarsele ülitundlikkusele timuti õietolmu suhtes. SIT kasutamine annab tulemusi.
g214 komponentide segu sisaldab rist-reaktiivsuse markereid ja kui patsiendil on g 214 vastased IgE antikehad positiivsed aga g213 vastased IgE antikehad negatiivsed, on tegemist ülitundlikkusega mõne teise taimetolmu suhtes.

- Kask (t3), *Betula verrucosa*

t215 rBet v 1 (PR-10 proteiin)

95% patsientidest, kellel on kasetolmu allergia, on Bet v 1 vastased IgE antikehad positiivsed. On spetsiifiline primaarse ülitundlikkusreaktsiooni marker kasetolmu allergia korral. Oluline regionaalse tähendusega panallergeen Põhja-Euroopas. PR-10 valk on tundlik kuumutamisele ja proteaasidele.
Põhjustab enamasti OAS. Annab ristreaktsiooni kõigi PR-10 valku sisaldavate õietolmude, puuviljade ja köögiviljadega (õun, kirss, virsik, porgand, petersell, apteegitill, köömned. Sarapuupähkli, maapähkli, selleri ja sojaoa PR-10 valk on osaliselt kuumuskindlam ja seetõttu pole siin välistatud ka süsteemne reaktsioon.

3. Putukamürgid

- Mesilase mürk (i1), *Apis mellifera*

i208 rApi m 1 (fosfolopaas A2)

Api m 1 on liigispetsiifiline põhiallergeen mesilasmürgi allergia korral ja oluline marker spetsiifilise immuunoteraapia planeerimisel. Molekulaarne struktuur on peaaegu identne kõigil maakera mesilaseliikidel. 70% inimestest, kellel on allergia mesilase mürgi vastu, on allergilised selle komponendi suhtes.
Võib esineda tõest topeltallergiat mesilase ja herilase mürgi vastu, kuid enamasti on tegu siiski CCD (MUXF3, bromeline) tingitud ristreaktiivsusega.

-Herilase mürk (i3), *Vespula spp.*

i211 rVes v 1 fosfolipaas A1

i209 rVes v 5 antigeen 5

Ves v 1 on liigispetsiifiline põhiallergeen herilasallergia korral ja Ves v 5 on põhiallergeen kõikide herilaseliikide mürgis. Oluline määrata spetsiifilise immuunoteraapia planeerimisel. Võimalik on ristreaktiivsus erinevate herilaseliikide vahel ja CCD tõttu ka mesilase mürgiga.

4. *Cross- reactive Carbohydrate Determinant* (CCD)

o214 MUXF3 (CCD, bromeliin)

Laialt levinud taimne allergeen, mida esineb ka putukate mürkides. Põhjustab harva kliinilist sümptomaatikat. Annab ristreaktsioone õietolmudega, köögiviljadega (nt seller, tomat, zukini), kiletiivalistega, lestadega, puukidega, prussakaga ja lateksiga.

Uuritav materjal: vereseerum (võtta eraldi kollase korgiga katsutisse)
Säilitamine: 2...8°C 7 päeva, -15...-25°C 2 kuud
Teostamine: 1-3 korda nädalas
Meetod: immuunofluoroensüüm
Referentsväärtus: <0,34 kU/L
HK kood: 66708

Soovitame lisaks lugeda järgmiseid linke:

http://www.phadia.com/Global/A%20Document%20Library/Allergy/Promotion%20Material/Molecular%20Allergology/Allergy_as_you_ve_never_seen_it_MOLALL.pdf

http://www.phadia.com/Health-Care-Providers/Allergy/Assessing-clinical-reactions/Soy-Allergy/

http://www.phadia.com/en/Health-Care-Providers/Allergy/Assessing-clinical-reactions/Venoms/

http://www.phadia.com/en/Health-Care-Providers/Allergy/Assessing-clinical-reactions/Peanut-Allergy/

Koostajad: Ilse Rinne, Meeli Glükmann, Irina Utenko,

Tel. 617 1140
Kliinilise immunoloogia osakond
Laboratoorium 14.03.2012