

PROVING IMMUNOGLOBULIN E MEDIATED ALLERGY WITH ALLERGOTESTES AND INTERPRETATION OF RESULTS

Verica Jakjimoska

General City Hospital "8th September" Skopje, Central biochemical laboratory, N. Macedonia
verica_flash@yahoo.com

Biljana Gjorgjeska

University "Goce Delcev" Stip, Faculty of Medical Science, N.Macedonia, biljana.gorgeska@ugd.edu.mk

Abstract: Allergy is an altered, hypersensitive state of immunity of individuals, to substances in our environment that most people have no response because they do not pose a danger. Allergens are the antigens to which antibodies form in the immune response. The allergic reaction is measured by the level of endogenous circulating specific IgE and is described descriptively in the lowest level as a level that cannot be detected or is very low, up to a level that is high, very high and extremely high. IgE is synthesized in plasma cells, submucosa of the airways and gastrointestinal tracts, in the lymphoid tissue of the nose and throat, and also contains the secretions of the bronchi and the nose. In the blood it is bound to the cell surface, especially the basophilic granulocytes, and is free in trace serum. Antigen-bound causes hypersensitivity and allergic reactions, and therefore elevated serum IgE levels. IgE antibodies created after first contact with a particular allergen are fixed on the surface of mast cells in the skin and mucous membranes. If the allergen that caused the production of IgE antibodies is again found in the circulation it is bound to IgE antibodies fixed on the mast cell membrane. The result of the antigen-antibody reaction taking place on the surface of the mastocytes is their degradation whereby biologically active substances are released (histamine, leukotrienes and prostaglandins). The exact allergic diagnosis depends on the right choice of allergen for testing. Occasionally patients may develop symptoms caused by previously unidentified substances that may be new allergens, and patients should be screened to identify a new allergen. The most common allergens are pollen (from grass, weeds and trees), germs, domestic dust, animal fibers, mold, food, food additives and beverages, preservatives, insect poisons, UV rays. The most common form of allergy is pollen allergy, which is known as seasonal allergic rhinitis. Every tenth person has hay fever. Pollen allergy is a disease of the upper respiratory tract that occurs seasonally (from March to June) when pollen, grass and bark are found in the air. Typical symptoms are itching and tearing of the eyes, sneezing and secretion from the nose. Year-round rhinitis has the same symptoms as seasonal rhinitis and this allergy lasts a year. The most common causes of year-round rhinitis are: molds, animal fibers, germs. The aim of this survey is to show the importance of proving allergies by examining the specific circulating IgE antibodies that are generated as a response to the presence of antigens, to determine the categories of patients in whom the factors affecting an allergic reaction such as sex and age, to demonstrate which are the most common and which are the most intense allergic reactions that can be proven by measuring the specific IgE antibodies in the patient's serum.

Keywords: allergic reaction, allergens, specific IgE antibodies.

ДОКАЖУВАЊЕ НА ИМУНОГЛОБУЛИН Е ПОСРЕДУВАНА АЛЕРГИЈА СО АЛЕРГОТЕСТОВИ И ИНТЕРПРЕТАЦИЈА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Верица Јакјимоска

Градска општа болница "8ми Септември" Скопје, Централна биохемиска лабораторија, С.
Македонија, verica_flash@yahoo.com

Биљана Ѓорѓеска

Универзитет "Гоце Делчев" Штип, Факултет за медицински науки, С. Македонија,
biljana.gorgeska@ugd.edu.mk

Резиме: Алергијата претставува променета, преосетлива состојба на имунитетот на поедини личности, на супстанции од нашата околина на кои повеќето луѓе не реагираат, бидејќи всушност не претставуваат опасност. Алергените се антигените кон кои се формираат антителата во имунолошката реакција. Алергиската реакција се мери преку нивото на ендеген циркулирачки специфичен IgE и се изразува описно во ранг од најниско ниво како ниво кое не може да се детектира или е многу ниско, се до ниво кое е високо, многу високо и екстремно високо. IgE се синтетизира во плазма клетките, субмукозата на дишните и гастроинтестиналните патишта, во лимфоидното ткиво на носот и грлото, а го содржат и секретите на

бронхиите и носот. Во крвта е врзан за клеточната површина, особено за базофилните гранулоцити, а слободен го има во серумот во трагови. Врзан за антигени предизвикува преосетливост и алергиска реакција, и затоа во тие случаи е покачена концентрацијата на IgE во серумот. IgE антителата создадени по првиот контакт со одреден алерген се фиксираат на површината на мастоцитите во кожа и слузници. Доколку алергенот кој го предизвикал создавањето на IgE антителата повторно се најде во циркулацијата, тој е врзан од IgE антителата фиксирани за мембраната на мастоцитите. Резултат на реакцијата антиген-антитело која се одвива на површината мастоцитите е нивна дегранулација при што се ослободуваат биолошки активни супстанции (хистамин, леукотриени и простагландини). Точната алерголошка дијагноза зависи од вистинскиот избор на алерген за тестирање. Понекогаш кај пациентите може да се јават симптоми предизвикани од претходно неидентификувани супстанции кои може да бидат нови алергени, па пациентите треба да се испитуваат за да се идентификува новиот алерген. Најчести алергени се : поленот (од тревата, коровот и дрвата), микрокрлежите, домашната прашина, животинските влакна, мувлата, храната, адитивите од храната и пијалците, конзервансите, отровите од инсектите, УВ зраците. Најчест облик на алергија е поленската алергија која е позната како сезонски алергиски ринитис. Секој десети човек има поленска алергија. Поленската алергија е болест на горните дишни патишта која се јавува сезонски (од март до јуни) кога во воздухот се наоѓаат честичките од поленот на тревите, дрвата и коровите. Карактеристични симптоми се јадеж и солзење на очите, кивавица и секреција од носот. Целогодишниот ринитис е со симптомите исти како кај сезонскиот ринитис и оваа алергија трае цела година. Најчести предизвикувачи на целогодишниот ринитис се : мувлите, животинските влакна, микрокрлежите. Целта на овој труд е да се покаже важноста на докажувањето на алергиите преку испитување на специфичните циркулаторни IgE антитела кои се создаваат како одговор на присуство на антигени, да се утврдат категориите на пациенти кај кои се појавуваат и факторите кои влијаат на алергиската реакција како што се полот и возраста, да се покажат кои се најчестите а кои се најинтензивните алергиски реакции кои може да се докажат преку мерење на специфичните IgE антитела во серумот на пациентите.

Клучни зборови: алергиска реакција, алергени, специфични IgE антитела.

1. ВОВЕД

Алергијата е патолошка состојба на имуниот систем. Алергијата претставува променета, преосетлива состојба на имунитетот која се појавува кај поедини лица поради супстанции од околината на кои повеќето луѓе не реагираат, бидејќи всушност не претставуваат опасност. Алергиската реакција не се манифестира при првиот контакт со алергенот, туку при секој нареден контакт.

Алергените се антигените кон кои се формираат антителата во имунолошката реакција. Антигени се најчесто протеини или полисахариди со голема молекулска маса (поголема од 8000). Ги има во храната, растенијата и животните и може да бидат внесени со дишење, исхрана, увод и допир. Тие се препознаени од страна на рецепторите/антителата на Т и Б лимфоцитите и способни се да иницираат имун одговор.

Алергиска реакција (тип I) вклучува имуноглобулини (IgE антитела) во имунолошкиот одговор на антигенот од околината, како што се грините од домашната прашина или животинските влакна, епител на животни и друго. Ваквата реакција резултира со отпуштање на фармаколошки медијатори (хистамин, протеаза и друго) од IgE сензибилизираниот мастоцит, што предизвикува акутна инфламаторна реакција со симптоми на астма и риноконјуктивитис.

IgE се синтетизира во плазма клетките, субмукозата на дишните и гастроинтестиналните патишта, во лимфоидното ткиво на носот и грлото, а го содржат и секретите на бронхиите и носот. Во крвта е врзан за клеточната површина, особено за базофилните гранулоцити, а слободен го има во серумот во трагови. Врзан за антигени предизвикува преосетливост и алергиска реакција, и затоа во тие случаи е покачена концентрацијата на IgE во серумот.

IgE антителата создадени по првиот контакт со одреден алерген се фиксираат на површината на мастоцитите во кожа и слузници. Доколку алергенот кој го предизвикал создавањето на IgE антителата повторно се најде во циркулацијата, тој е врзан од IgE антителата фиксирани за мембраната на мастоцитите. Резултат на реакцијата антиген-антитело која се одвива на површината мастоцитите е нивна дегранулација при што се ослободуваат биолошки активни супстанции (хистамин, леукотриени и простагландини). Тие пак предизвикуваат вазодилатација и зголемување на пропусливоста на крвните садови и се одговорни за симптомите карактеристични за алергиската реакција (воспаление, уртикарија, скереција на слуз, чешање или кивање). Најсериозната, опасна по живот алергиска реакција е анафилактичен шок. Во оваа состојба моментното ослободување на различни биолошки медијатори доведува до отекување на грлото, бронхоконстрикција, намалување на крвниот притисок, губење на свеста, а некогаш дури и до смрт.

IgE посредуваната алергија е најчестата и најважната имунолошки посредувана хиперсензитивна болест која ја има кај околу 30% од популацијата на светско ниво^{6,7}.

2. ИНХАЛАТОРНИ АЛЕРГЕНИ

Аероалергените (инхалаторни алергени) кои се добро познати како предизвикувачи на IgE посредувана алергија вклучуваат полени, фунги, алги, животински отпадоци, инсекти, микрокрлежи, протеини од храна, додатоци на храна, антибиотици, други лекови и професионални алергени. Постојат и случаи кога не се идентификувани специфични алергени адекватни за дијагностичко тестирање.

Идентификација на алергените кои се предизвикувачи на болеста е особено важно за поставување на точна дијагноза за видот на алергија и формирање на основа за избор на третман на пациентите со симптоматска терапија, терапија со антихистаминици и кортикостероиди или со алерген-специфична имунотерапија⁸.

Екстрактите од домашна прашина содржат различни алергени. Различноста во составот и потентноста на алергените во комерцијалните екстракти од домашна прашина и достапноста на повеќе селективни алергенски екстракти за испитување на поединечни компоненти (на пример дерматофити, микрокрлежи, бубашваби, епидерми) од домашната прашина го намалува значењето на комерцијалниот екстракт од домашна прашина.

Фунгите (мувли) може да доведат до симптоми на респираторна алергија. Техничките потешкотии во изолирањето на специфични фунгални противгени од спорите или хифите го отежнуваат и карактеризирањето на клинички значајни алергени за некои од овие видови. За клинички цели, фунгите може да се класифицираат како надворешни (на пример *Alternaria* sp. и *Cladosporium* sp.) и/или внатрешни (на пример *Aspergillus* sp. и *Penicillium* sp.)

Постои значителна алергенска различност помеѓу полените од дрва. Исклучоци постојат кај некои иглолисни дрва и членови на фамилиите бреси и буки (даб, негундо и леска).

Постоенето на заеднички антигени е правило за голема подфамилија на треве, северни пастирски треве, сепак комплетна вкрстена реактивност ретко се јавува. Тревите мачкина опашка и метла имаат додатни единствени антигени кои може да се од клиничко значење. Обичниот троскот не реагира вкрстено со северните треве, но покажува мала вкрстена реактивност со западните прериски треве.

Коровите од сложената фамилија која го вклучува родот амброзија, се потентни сензибилизатори и екстензивно вкрстено реагираат. Пелините (род *Артемисија*) силно вкрстено реагираат помеѓу себе. Вкрстена реактивност постои и кај коровите дива лобода, штир и лобода. Кај некои корови постои само парцијална вкрстена реактивност.

3. ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СПЕЦИФИЧНИ ИМУНОГЛОБУЛИНИ Е

Принцип за определување на специфични IgE антители со алерготест Rida Allergy Screen е реакцијата антиген-антитело.

Кога се користи оваа метода потребно е да се земе 250µL од серум на пациент кој се аплицира на реакционите стрипови со алергени. После 45 минутна инкубација на собна температура и перење, се додава 250µL биотин обележани анти IgE. Има повторно инкубација од 45 минути на собна температура и перење, па потоа се додава 250µL стрептавидин конјугат. Следи 20 минутна инкубација и перење по што има додавање на луминисцентен реагенс. После повторна инкубација од 20 минути, резултатите се скенираат со CCD камера (Rida X-screen Reader). Резултатите се читаат како класи од 0 до 6, од кои класите поголеми од 1 се интерпретираат како позитивни

Користени беа алерготестови од Rida Allergy Screen Панел 2 (инхалаторен панел) кој содржи 20 инхалаторни алергени: Derm. Pteronyssinus, Derm. Farinae, евла, бреза, леска, даб, мешани треве, 'рж, пелин, тегавец, мачка, коњ, куче, морско прасе, хрчак, zajак, *Penicillium notatum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria alternata*.

⁶Anto JM, Bousquet J and associates, *Mechanisms of the Development of Allergy (MeDALL): Introducing novel concepts in allergy phenotypes*. J. Allergy Clin. Immunol. (2017)

⁷Valenta R, and associates, *Molecular Aspects of Allergens and Allergy*. Adv Immunol. (2018)

⁸Larche M, Akdis CA, Valenta R, *Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy*. Nat. Rev. Immunol. (2006)

4. МЕРНИ ЕДИНИЦИ И ИЗРАЗУВАЊЕ НА РЕЗУЛТАТИ

Одредувањето на алерген специфични IgE антитела од крв на пациент се добива во мерна единица IU/ml или како RAST класи (0-6), а секое ниво се изразува описно.

RAST класа 0 одговара на 0,00-0,34 IU/ml содржина на алерген специфични имуноглобулини, што значи дека нема или неможе да се детектира содржина на имуноглобулини.

RAST класа 1 одговара на 0,35-0,69 IU/ml содржина на алерген специфични имуноглобулини, што значи дека има ниска содржина на алерген специфични имуноглобулини.

RAST класа 2 одговара на 0,70-3,49 IU/ml содржина на алерген специфични имуноглобулини, што значи дека има покачена содржина на алерген специфични имуноглобулини.

RAST класа 3 одговара на 3,50-17,49 IU/ml содржина на алерген специфични имуноглобулини, што значи дека има значително покачена содржина на алерген специфични имуноглобулини.

RAST класа 4 одговара на 17,50-49,99 IU/ml содржина на алерген специфични имуноглобулини, што значи дека има висока содржина на алерген специфични имуноглобулини.

RAST класа 5 одговара на 50,00-99,99 IU/ml содржина на алерген специфични имуноглобулини, што значи дека има многу висока содржина на алерген специфични имуноглобулини.

RAST класа 6 одговара на содржина на алерген специфични имуноглобулини >100 IU/ml, што значи дека има екстремно висока содржина на алерген специфични имуноглобулини.

5. РЕЗУЛТАТИ

Испитувани се 134 пациентки кои се тествани со панелот на инхалаторни алергени RIDA qLine® Allergy Panel 2, од кои вкупно 71 се мажи, а 63 се жени.

Од сите 134 упатени пациенти на алерготестирање, само 24 пациенти, односно 18% имаа позитивни резултати за еден или повеќе алергени, додека повеќето, односно 110 пациенти имаа негативни резултати за испитуваните алергени.

Позитивните резултати се јавија кај 16 мажи и кај 8 жени, што оди во прилог на заклучокот дека мажите се ризична категорија на популација кај која почесто се јавува алергија, односно ризикот се зголемува двојно.

Опфатени се пациенти тествани во месец март, април и мај, и според добиените резултати најголемиот број на позитивни резултати се во месец април, една третина помалку позитивни резултати има во месец март, додека најмалку има во месец мај.

Алерготестот има 20 антигени за кои се пресметува содржина на алерген специфични имуноглобулини. Пациентите со позитивен наод покажаа вкупно 52 позитивни реакции на алергените, а се покажаа и вкупно 2618 негативни реакции на испитуваните алергени.

Водечки алергени по честота на позитивни реакции се алергените од: мешавина на треви (27%), *Dermatophagoides pteronyssinus* (19%), 'рж' (19%) и *Dermatophagoides farina* (13%).

Најголемата концентрација на специфични IgE беше измерена кај алергенот од *Dermatophagoides pteronyssinus*, концентрација која одговара за RAST класа 6.

Најчестите позитивни реакции беа во RAST класа 1 застапени 54%, RAST класа 2 имаше 25%, RAST класа 3 реакции беа 12%, RAST класа 4 се 8%, додека немаше ниту една реакција во RAST класа 5.

Важно е да се напомене дека огромен број, односно 72% од упатените пациентите на алерготестирање немаат воопшто реакција на било кој од испитуваните алергени.

6. ЗАКЛУЧОК

Алергијата е едно од најчестите заболувања во светот кое најчесто ја погодува адолесцентната и возрасната популација. Според истражувањето мажите спаѓаат во ризична категорија и двојно почесто заболуваат од оваа болест.

Инхалаторните алергени најмногу се застапени сезонски, на пролет, и тоа најголемиот број на болни пациенти е во месец април. Дерматофитите и тревите се особено потентни алергени кои во овој период од годината ги предизвикуваат алергиските реакции кај афектираното население.

Најчесто позитивни резултати има во рамките на 1, 2 и 3 RAST класа, тогаш најчесто има покачена и значително покачена содржина на циркулирачки имуноглобулини (IgE) во серумот на пациентите, а во тој опсег алергијата се лежи најчесто симптоматски. Додека, најинтензивните реакции се јавуваат поретко, но претставуваат поголеми ризици за здравјето на пациентот и потребна е стручна помош за да не предизвикаат компликации, и ординирањето на терапијата треба да ја прават специјалисти од соодветни области.

Исто така се согледува и проблемот со несоодветно и прекумерно користење на алерготестирањата поради големиот број на негативни резултати после направените тестови, што ги наметнува прашањата како до подобра организација во упатувањето на алерготестирање и како до подобар избор на алергени кои ќе го

доказат или исклучат постоењето на алергија и токму таму треба да бидат усмерени идните истражувања во оваа област.

ЛИТЕРАТУРА

- Corsico A. G., Amici D. M., Ronzoni V., Giunta V., Mennitti M.C., Viscardi A., Marsegli G.L. & Ciprandi G. (2017). Allergen-specific immunoglobulin E and allergic rhinitis severity. *Allergy Rhinol (Providence)*.
- Chruszcz M., Kapingidza A., Dolamore C. & Kowal K. (2018). A robust method for the estimation and visualization of IgE cross-reactivity likelihood between allergens belonging to the same protein family. *Journal Plos One*, 13(11):e0208276
- Gier S. & Verhoeckx K. (2018). Insect (food) allergy and allergens. *Molecular immunology*, 100:82-106.
- Han M., Shin S., Park H., Park K., Park M., & Young Song E. (2012). Comparison of Three Multiple Allergen Simultaneous Tests: RIDA Allergy Screen, MAST Optigen, and Polycheck Allergy, *BioMed research International*
- Kwong K., Eghrari-Sabet J., Mendoza G., Platts-Mills T. & Horn R. (2011). The Benefits of Specific Immunoglobulin E Testing in the Primary Care Setting. *American Journal of Managed Care*, 17:S447-S459.
- Khurana T., Bridgewater J. & Rabin R.L. (2017). Allergenic extracts to diagnose and treat sensitivity to insect venoms and inhaled allergens. *Ann Allergy Asthma Immunology journal*, 118(5):531-536.
- Lehmann S., Sprunken A., Wagner N., Tenbrock K. & Ott H. (2017). Clinical relevance of IgE-mediated sensitization against the mould *Alternaria alternata* in children with asthma. *Therapeutic advances in respiratory disease*, 11(1):30-39.
- Lee J., Kim S., Choi H., Jung C., Ban G., Shin Y., Nahm D.H., Park H. & Ye Y.M. (2018). A Retrospective Study of Clinical Response Predictors in Subcutaneous Allergen Immunotherapy With House Dust Mites for Allergic Rhinitis. *Allergy, asthma & immunology research*, 10(1):18-24.
- Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A. & Rodwell V. W. (2009) *Harper's Biochemistry*, Appleton & Lange, Norwalk, 25-397.
- Radauer C., & Breiteneder H. (2006). Pollen allergens are restricted to few protein families and show distinct patterns of species distribution. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117(1):141-7.
- Shamji M. & Durham S., (2017). Mechanisms of allergen immunotherapy for inhaled allergens and predictive biomarkers. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 140(6):1485-1498.