

VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETO
FIZIOLOGIJOS, BIOCHEMIJOS, MIKROBIOLOGIJOS IR
LABORATORINĖS MEDICINOS KATEDRA

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

**PADIDĖJUSIOS TRIPTAZĖS KONCENTRACIJOS IR ALERGENUI SPECIFINIŲ IgE
PAPLITIMO SĄSAJOS ANAFILAKSINIŲ REAKCIJŲ ATVEJU**

Magistrantė MEGĖ RUKŠAITĖ _____
(parašas)

Darbo vadovas
dr. L. Bagdonaitė _____
(parašas)

VU MF Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir
laboratorinės medicinos katedros vedėja
hab.dr., prof. Z. A. Kučinskienė leidžiama ginti _____
(parašas)

Darbo įteikimo data _____
Registracijos Nr. _____

2016 m., Vilnius

TURINYS

SANTRUMPOS.....	4
ĮVADAS	5
DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI	7
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	8
1.1. Anafilaksinių reakcijų istorija.....	8
1.2. I tipo greitos padidėjusio jautrumo reakcijos - nuo IgE priklausomos anafilaksinės reakcijos	9
1.2.1. IgE ir jo vaidmuo anafilaksinėse reakcijose.....	9
1.2.2. Anafilaksinių reakcijų išsivystymo mechanizmas ir patofiziologija.....	10
1.2.3. Rizikos veiksnių įtaka anafilaksinių reakcijų išsivystymui.....	14
1.2.4. Pagrindiniai alergenai, sukiantys imuninę anafilaksiją	15
1.3. Mastocitozė kaip rizikos veiksnys nuo IgE priklausomų anafilaksinių reakcijų išsivystymui.....	18
1.3.1. Mastocitozės etiopatogenezės ypatumai.....	19
1.3.2. Anafilaksinės reakcijos ir ją sukiantys alergenai mastocitozės atveju	20
1.3.3. Mastocitozės diagnostika.....	21
1.4. Serumo triptazės, kaip anafilaksijos ir mastocitozės žymens, interpretacija	22
1.4.1. <i>Delta</i> triptazė	23
1.5. Laboratoriniai nuo IgE priklausomų anafilaksinių reakcijų diagnostikos principai	25
1.5.1. Alergenų, sukeliančių anafilaksines reakcijas, diagnostika	25
1.5.1.1. Alergenui specifinių IgE nustatymas – <i>in vitro</i>	26
1.5.1.2. Alergenų komponentai – ateities tyrimai.....	27
2. EKSPERIMENTINĖ DALIS.....	31
2.1. Tyrimo medžiaga	31
2.1.1. Tiriamosios grupės	31
2.2. Tyrimo metodika.....	32
2.2.1. Diagnostinė sistema ir jos sudedamosios dalys.....	32
2.2.3. Imunobloto metodo principas.....	34
2.2.4. Rezultatų pateikimas ir interpretavimas	35
2.3. Statistinė analizė.....	36

3. DARBO REZULTATAI IR APTARIMAS	37
3.1. Triptazės, kaip anafilaksijos ir mastocitozės žymens, pokyčių palyginimas tiriamosiose grupėse	37
3.2. Alergeni specifinių IgE paplitimas tiriamosiose grupėse.....	39
3.3. Alergeni specifinių IgE paplitimo ir triptazės koncentracijos padidėjimo grupėse sąsajos	43
3.4. Praktinės rekomendacijos.....	51
IŠVADOS	52
SUMMARY	54
LITERATŪROS ŠALTINIAI	56
PRIEDAI.....	63

SANTRUMPOS

AAAAI	Amerikos alerginės astmos ir imunologijos akademija (angl. <i>American Academy of Allergy Asthma and Immunology</i>)
AK	antikūnai
APL	antigeną patiekiančios ląstelės (angl. <i>antigen presenting cells - APC</i>)
ECF-A	eozinofilų chemotaksio anafilaksijos faktorius (angl. <i>eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis</i>)
ELISA	imunofermentinis metodas (angl. <i>enzyme linked immuno sorbent assay</i>)
IgE	Imunoglobulinas E
IL	interleukinas
KČ	kaulų čiulpai
LU	liuminescenciniai vienetai
MHC/ŽLA	žmogaus pagrindinis audinių suderinamumo kompleksas (angl. <i>major histocompatibility complex</i>) / ŽLA - žmogaus leukocitų antigenas (angl. <i>human leukocyte antigen - HLA</i>)
PAF	trombocitus aktyvinantis faktorius (angl. <i>platelet-activating factor</i>)
PSO	Pasaulinė sveikatos organizacija
ŠKS	širdies ir kraujagyslių sistema
SM	sisteminė mastocitozė
T _h	T limfocitas pagalbininkas (angl. <i>T helper cell</i>)
WAO	Pasaulio alergologijos organizacija (angl. <i>World Allergy organization</i>)

ĮVADAS

Šiuolaikinėje visuomenėje alerginės ligos tapo įprastu ir dažnai pasitaikančiu reiškiniu, pasaulyje paveikiančiu daugiau nei milijardo žmonių gyvenimus. Alergija yra viena iš dažniausių lėtinių ligų Europoje. Nepaisant to, kad dar XX a. pr. alergija buvo laikoma kaip reta liga, šiandien alergija jau tapo pandemijos masto grėsme visuomenės sveikatai ir iššūkiu laboratorinei diagnostikai.

Remiantis 2014 m. duomenimis šiai dienai skaičiuojama iki 150 mln. nuo lėtinių alerginių ligų kenčiančių Europos gyventojų, o dabartinių skaičiavimų duomenimis iki 2025 m. daugiau nei pusė visos Europos sąjungos (ES) šalių populiacijos bus kam nors alergiški. Iki 20 proc. pacientų, sergančių alergija, pasireiškia sunki, sekinanti alergijos forma. Kasdieniniame gyvenime šie asmenys jaučia baimę dėl galimos staigios anafilaksinės reakcijos ar šoko, kuris gali baigtis mirtimi [79].

Pagrindinė imuninės sistemos funkcija yra svetimų antigenų atpažinimas, nukenksminimas ir pašalinimas [2]. Alergija išsivysto tuomet, kai žmogaus imuninė sistema aktyviai reaguoja į daugeliui nepavojingas medžiagas, vadinamas alergenais.

Anafilaksija yra viena iš labiausiai gyvybei pavojingų sisteminių būklių, apibrėžiama kaip ūmi, staigiai prasidedanti, rimta sisteminė hiperjautrumo reakcija [40]. Putliosios ląstelės (mastocitai) yra pagrindinės struktūrinės ir funkcinės uždegiminės imuninės sistemos komponentės. Jos yra pagrindinės efektorinės ląstelės, dalyvaujančios ūmių alerginių reakcijų, tokių kaip anafilaksija, patofiziologijoje. Antigenui specifinų IgE gamyba ir po to sekanti jų fikscija prie didelio afiniškumo FcεR receptorių mastocitų ir bazofilų membranose yra pagrindinė staigios padidėjusio jautrumo reakcijos iniciacija, po kurios seka visa kaskada reakcijų, todėl IgE vaidmuo yra esminis anafilaksinių reakcijų patogenezėje [6, 92].

Mastocitų aktyvacijos pasekmė - greitas uždegiminių mediatorių išsiskyrimas iš sekretinių granulių, tarp kurių viena iš pagrindinių yra triptazė. Anafilaksinių reakcijų metu šio fermento koncentracijos padidėjimas yra laikinas, o nuo reakcijos pradžios per 3-6 val. normalizuojasi. Po pakartotinių tyrimų, triptazės koncentracijai išlikus padidėjusiai, įtariama mastocitozė.

Mastocitozė, kaip anafilaksinių reakcijų rizikos veiksnys, yra heterogeninė liga, pasižyminti dideliu putliųjų ląstelių kaupimusi, proliferacija ir aktyvacija keliuose žmogaus organuose arba visuose audiniuose. Mastocitozė gali pasireikšti nuo besimptomės formos iki potencialiai pavojingos anafilaksinės reakcijos dėl gausaus mastocitų mediatorių išsiskyrimo. Mastocitozės metu triptazės koncentracija yra nuolatos padidėjusi. Dėl mastocitų gausumo mastocitoze sergantys pacientai turi didesnę riziką anafilaksinių reakcijų išsivystymui, o turint galvoje tai, kad

mastocitozė neretai yra ir besimptomė, šia liga sergantys asmenys to gali nežinoti. Tokiais atvejais anafilaksinių reakcijų valdymas yra labai sudėtingas, nes dažnai liga diagnozuojama tik įvykus anafilaksinei reakcijai, kuri yra ypatingai pavojinga.

Kvėpavimo ar širdies sustojimas po alergeno poveikio yra labai greitas: pavalgis maisto, kuriam asmuo alergiškas – po 30 min., o įgėlus vabzdžiams ypatingai greitai – per 15 min. [65].

Tam tikrų alergenų, sukeliančių anafilaksines reakcijas, identifikavimas gali padėti sudaryti individualų gydymo ir profilaktikos planą bei, kai kuriais atvejais, ir tikslingai paskirti imunoterapiją. Šiam tikslui pasiekti svarbu laiku, pasitelkus laboratorinius imunologinius metodus, nustatyti, kokiems alergenams asmuo yra sensibilizuotas, ir užkirsti kelią ūmiai reakcijai.

Alergiškų asmenų simptomų ir ūmių reakcijų valdymui yra skiriama daug dėmesio: pirmo pasirinkimo vaisto nuo anafilaksinės reakcijos – adrenalino (epinefrino) – rekomenduojama turėti su savimi visiems alergijos kankinamiems asmenims, tačiau pakankamai retai atsižvelgiama į gretimas pacientų ligas, kurios turi didelę įtaką anafilaksinių reakcijų išsivystymui.

Nepaisant to, kad Lietuvoje triptazės koncentracijos nustatymo tyrimas pradėtas taikyti 2013 m. [83], Lietuvoje nėra duomenų, kiek asmenų šiai dienai šalyje serga mastocitoze. To pasekoje labai sunku įvertinti ligos mastą ir problematiškumą, todėl vienas iš šio tyrimo uždavinių buvo kritiškai įvertinti šioje grupėje paplitusius alergenai specifinius IgE bei jų įvairovę po anafilaksinių reakcijų.

DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

DARBO TIKSLAS:

Įvertinti padidėjusios triptazės koncentracijos ir alergenui specifinių IgE paplitimo sąsajas anafilaksinių reakcijų atveju.

DARBO UŽDAVINIAI:

1. Įvertinti triptazės, kaip anafilaksijos ir mastocitozės žymens, pokyčius tiriamosiose grupėse.
2. Nustatyti alergenui specifinių IgE paplitimą tiriamosiose grupėse.
3. Įvertinti alergenui specifinių IgE paplitimo sąsajas su padidėjusia triptazės koncentracija tiriamosiose grupėse.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Anafilaksinių reakcijų istorija

Nepaisant to, kad anafilaksija, vienas iš labiausiai nerimą keliančių sutrikimų medicinoje, hieroglifais pirmą kartą aprašytas dar 2641 m. pr. Kr. Egipto faraono *Menes*, staiga mirusio po širšės įgėlimo, antkapyje [62], o kaip terminas pirmą sykį buvo pavartotas prieš 114 metų, iki šiol pasaulyje vis dar nėra vieno universalios jos apibrėžimo ir išskirtų kriterijų patikimai ir efektyviai jos diagnostikai. Remiantis Nacionalinio alergijos ir infekcinių ligų instituto (angl. *NIAID*) bei maisto alergijos ir anafilaksijos tinklo (angl. *FAAN*) simpoziumo (2005), kuriame dalyvavo 16-os skirtingų organizacijų ar vyriausybinių institucijų atstovai, bendru nutarimu ir Pasaulio alergologijos organizacija (angl. *WAO*) (2010), anafilaksija bendrai yra apibrėžiama kaip rimta, gyvybei pavojinga greitos pradžios sisteminė alerginė reakcija, kuri prasideda staiga, po kontakto su alergiją sukėlusiu agentu [34, 68, 69]. Šį terminą dar 1902 m. pirmą kartą pavartojo prancūzų fiziologas Charles Richet ir gydytojas Paul Portier. Ieškodami minimalaus nuodingos dozės kiekio, jie eksperimentiniams šunims suleido aktinijų nuodų (angl. *actinotoxin*). Šunys, kurie išgyveno po pirmos injekcijos, buvo injekuojami antrą kartą. Gydytojai, remdamiesi tuomet jau plačiai vyravusiu suvokimu apie imuninę sistemą, tikėjosi, kad po pirmos injekcijos šunys įgaus tam tikrą imunitetą taip pat, kaip žmogus įgyja imunitetą virusams, tačiau vietoj to po pirminio nuodų poveikio šunys tapo ypatingai jautrus (angl. *hypersensitive*), todėl antroji toksinių nuodų dozė šunis greitai pražudė dėl įvykusios ūminės mirtinos reakcijos. Remdamasis šių eksperimentinių tyrimų rezultatais, kurie buvo akivaizdi priešprieša apsauginei imuninei sistemai arba kitaip tariant profilaktikai, Charles Ricket, kuris vėliau, 1913 m., už minėtą atradimą gavo Nobelio premiją medicinos srityje, šią pasireiškusią padidėjusio jautrumo reakciją pavadino anafilaksija [29, 30]. Portier ir Richet pabrėžė, kad bandymai sukelti organizmo imuninės sistemos toleranciją tam tikram toksinui gali ir nepavykti dėl „nenormalaus“ imuninės sistemos veikimo – padidėjusio jautrumo – ir gali turėti patologinių pasekmių [2].

Nenurimstant tyrinėjimų bangai dar po žymaus imunologijos bei mikrobiologijos pradininku laikomo prancūzo Louis Pasteur, 1880 m. atradusio bendrą, daugeliui infekcinių ligų tinkantį, vakcinacijos metodą, Vienos vaikų gydytojas K. Pirkė (Clemens von Pirquet) 1906 m. pastebėjo, kad pacientams sušvirkštus arklių serumo ar raupų vakcinas, po antros injekcijos pasireikšdavo greitesnės ir sunkesnės formos reakcijos, panašiai kaip prieš tai aprašytuose Charles Richet ir Paul Portier išvadose. Gydytojo nuomone, tai buvo pakitusi reakcija - „allos ergon“ (išvertus iš graikų kalbos „ἄλλος“ - kitoks ir „ἔργον“ - veikimas), kurią jis pavadino skirtingai nei Charles Richet ir Paul Portier - sudurtiniu žodžiu „*allergie*“ ir apibrėžė šį terminą kaip perdėtą, nenormalų žmogaus

gynybinės sistemos atsaką į įprastai nepavojingas medžiagas. K. Pirkė įrodė imunologijos mokslui labai reikšmingą teoriją: kartu su savo kolegomis išsiaiškino, kad staigi ir stipri organizmo reakcija į tam tikrą medžiagą rodo, kad praeityje organizmas jau buvo sensibilizuotas ta svetimą medžiaga, o antroji reakcija būtent todėl ir yra tokia staigi ir greita.

Šių didžiųjų gydytojų - mokslininkų darbai buvo svarbus žingsnis imunologijos mokslo vystymuisi. Šiuolaikinių dienų supratimas apie padidėjusio jautrumo reakcijų mechanizmus (angl. *hypersensitivity reactions*) ir anafilaksijos, kaip nežinomos kilmės simptomų dėl išorinių priežasčių atsiradimą, būtent ir prasideda nuo įvykių ir atradimų 1902 m.

1.2. I tipo greitos padidėjusio jautrumo reakcijos - nuo IgE priklausomos anafilaksinės reakcijos

Padidėjusio jautrumo reakcijos – tai imuninio uždegimo sukelti pažeidimai ir autoimuninės reakcijos [2, 14]. Padidėjęs jautrumas susijęs su perdėtai stipriomis, nepageidaujamomis reakcijomis, sukeltomis normalios organizmo imuninės sistemos, dažnai į įprastus, nepavojingus aplinkos veiksnius - antigenus [38, 24]. Prieš daugiau nei 50 metų, 1968 m., Gell ir Coombs pasiūlė bendrą imuninių reakcijų klasifikacijos schemą, kuri buvo paremta imuninio atsako tipu bei efektorinių mechanizmų, sukeliančių ląstelių ir audinių pažeidimus, ypatumais [2]. Pagal pasiūlytą schemą, visos imuninės reakcijos yra suskirstytos į 4 tipus (I, II, III, IV).

I tipo reakcijose vyrauja IgE ir, skirtingai nuo kitų, šiam tipui priklauso visos greito padidėjusio jautrumo – alerginės reakcijos, kadangi poveikis organizmui pasireiškia praėjus keletui minučių po ekspozicijos antigenu [2, 14, 37].

Be to, kad šios reakcijos vadinamos greitomis ir ūmiomis padidėjusio jautrumo reakcijomis, jos dar apibrėžiamos kaip IgE sukeltos arba anafilaksinės – atopinės reakcijos. Šiose reakcijose svarbiausią patologinę reikšmę turi alerginė reakcija.

1.2.1. IgE ir jo vaidmuo anafilaksinėse reakcijose

IgE buvo atrastas daug vėliau nei kitos, IgG, IgM, IgA, IgD, Ig klasės. Pirmi įrodymai, kad egzistuoja medžiaga, atsakinga už hiperjautrumo reakcijas, buvo aprašyti Prausnitz ir Kustner 1921 m. ir tik po daugiau nei 4 dešimtmečių, 1967 m., ši medžiaga buvo identifikuota kaip viena iš Ig klasių Ishizako ir jo kolegų darbuose [36], o po vienerių metų Pasaulinės sveikatos organizacijos (PSO) Tarptautinis imunoglobulinų informacijos centras (angl. „*International Reference Centre for Immunoglobulins*“) paskelbė 5-ąją imunoglobulinų izotipą – IgE, kuris dar kitaip vadinamas reagentu [6, 15].

IgE yra Y formos monomeras, kurį sudaro 2 poros identiškų polipeptidinių grandinių - 2 sunkiosios – H (angl. *heavy chain*) - ε (epsilon) ir 2 lengvosios – L grandinės (angl. *light chain*).

Ig molekulėje kiekviena grandinė turi kintamąją dalį V (angl. *variable*) ir pastoviąją C (angl. *constant*). Sunkiosios ir lengvosios grandinės kintamosios dalys suformuoja antigeną surišančią sritį arba domeną – Fab fragmentą (angl. *fragment antigen binding*), o sunkiųjų grandinių pastoviosios dalys suformuoja Fc fragmentą (angl. *fragment crystallizable*). Šis fragmentas atsakingas už daugelį IgE efektorinių funkcijų, o pagrindinė – rišimasis prie Fc receptorių [2, 92].

IgE pagrindinė funkcija - ne antigeną sujungti savo Fab fragmentu, o fiksuotis ląstelių paviršiuje per FcεR receptorius. Įprastai, palyginus su visomis klasėmis, IgE koncentracija kraujyje yra mažiausia [75]. Sveikų asmenų kraujo plazmoje jo koncentracija neviršija 0,1 – 0,4 μg/mL ir net alerginių reakcijų metu retai viršija 1 μg/mL. IgE gyvavimo pusperiodis kraujyje - maždaug 2 dienos [6]. Bendra IgE koncentracija taip pat priklauso nuo genetikos, rasės, imuniteto ir aplinkos veiksnių [75].

IgE gamyba inicijuojama po to, kai alergenas yra pagaunamas antigeną pateikiančių ląstelių (APL), apdorojamas ir pateikiamas T limfocitui pagalbininkui (T_h), kuris aktyvuoja B limfocitą sintetinti IgE [6]. T_h ląstelių polinkis virsti Th₂ ląstelėmis ir B limfocitų IgE produkcija priklauso ne tik nuo citokinų, bet turi stiprų genetinį ryšį. B ląstelių klasių perjungimas gaminti tik IgE yra indukuojamas dviejų aktyvuotų Th₂ ląstelių signalų dėka: pirmiausia Th₂ išskiria IL-4, IL-13 ir CD154, kurie sąveikauja su ant B ląstelių paviršiaus esančiais receptoriais. Antras signalas yra kostimuliuojanti sąveika tarp ligando CD40 ant Th₂ ląstelių paviršiaus ir CD40 ant B ląstelių paviršiaus. Antras signalas yra būtinas visų Ak klasių perjungimui [75, 88, 23].

Antigenui specifinių IgE gamyba ir jų fiksacija prie didelio afiniškumo FcεR receptorių yra greitos padidėjusio jautrumo reakcijos pradžia, po kurios seka eilė įvairių reakcijų, todėl IgE vaidmuo yra esminis anafilaksinių reakcijų patogenezėje [92].

Taigi, pagrindiniai greitų padidėjusio jautrumo reakcijų komponentai yra IgE, putliosios ląstelės, bazofilai, eozinofilai ir jų išskiriami mediatoriai [2].

1.2.2. Anafilaksinių reakcijų išsivystymo mechanizmas ir patofiziologija

Anafilaksija yra ūmi sisteminė I tipo padidėjusio jautrumo reakcija, kuri įvyksta sensibilizuotuose individuose ir gali būti mirtina [73]. Tam, kad alerginė reakcija išsivystytų, organizmas su tuo pačiu alergenu turi būti susidūręs mažiausiai 2 kartus, todėl I tipo nuo IgE priklausomos padidėjusio jautrumo reakcijos alergenui yra skiriamos į dvi atsako fazes: 1) organizmo sensibilizacija ir 2) efektorinė fazė [14, 22, 92].

1) organizmo sensibilizacija:

Žmogaus organizmo ekspozicija alergenui gali įvykti per odą, akių gleivinės epitelį, kvėpavimo sistemą (nosį, viršutinius kvėpavimo takus, plaučius), virškinimo sistemą (burną,

stemplę, virškinamąjį traktą). Imunis atsakas prasideda, kai antigenas susiduria su specializuotomis APL – dendritinėmis ląstelėmis, makrogafais ar aktyvuotais B limfocitais. Kiekvienoje iš minėtų potencialių alergeno patekimo vietų APL gali surišti alergoną, jį apdoroti ir sujungti alergeno produktą, peptidą, su MHC II klasės molekulėmis. MHC – žmogaus pagrindinis audinių suderinamumo kompleksas, dar kitaip vadinamas žmogaus leukocitų antigenu – ŽLA [2, 92]. Pilnavertiškam signalo perdavimui APL membranoje labai svarbų kostimuliuojantį vaidmenį atlieka B7 molekulės, kurios yra ligandas CD28 – kostimuliuojančioms molekulėms T_h ląstelių membranose [74, 92]. Alergeno ir MHC II klasės molekulės kompleksas iškeliamas APL paviršiuje ir pateikiamas T limfocitams helperiams - T_h (CD4+) ląstelėms – per antigeną atpažįstantį TCR (angl. *T cell receptor*). Šios ląstelės specifiškai atpažįsta antigenines determinantes – epitopus, antigeno molekulės dalis (baltymus). T_h (CD4+) ląstelės genetiškai linkusiuose į alergijas (atopiškuose) pacientuose ir APL išskiriamo IL-4 poveikyje diferencijuojasi į Th₂ limfocitus. Th₂ ląstelės išskiriami interleukinai IL-4, IL-5 ir IL-13 skatina kitų Th₂ limfocitų diferenciaciją bei putliųjų ląstelių, bazofilų ir eozinofilų proliferaciją, o IL-4 ir IL-13 taip pat skatina ir B limfocitų proliferaciją ir diferenciaciją į plazmines ląsteles, sintetinančias IgE antikūnus. IgE antikūnai savo Fc dalimi fiksuojasi per didelio afiniškumo FcεRI receptorių specifinių IgE sunkiajai grandinei (Fc) putliųjų ląstelių ir bazofilų paviršiuje, taip padengdami efektorines ląsteles. Organizmas po šių reakcijų yra sensibilizuotas ir kartotinis alergeno poveikis ateityje paskatins kitų reakcijų seką, kuri vyksta efektorinėje fazėje [1, 2, 22].

2) efektorinė fazė:

Pakartotinai į organizmą patekus alergenui, jis jungiasi prie gausiai audiniuose, ribojančiuose žmogaus organizmą nuo aplinkos (odos, kvėpavimo takų ir urogenitalinės sistemos gleivinės) išsidėsčiusių putliųjų ląstelių ir bazofilų membranose fiksuotų IgE antikūnų Fab fragmentų. Kai Ag kryžmiškai sujungia ne mažiau kaip dvi IgE molekules, fiksuotas putliųjų ląstelių ir bazofilų membranose, t.y. sudaro “tiltą” tarp dviejų ar daugiau IgE Fab fragmentų, putliosios ląstelės ir bazofilai yra aktyvinami. Ši sąveika yra aktyvinimo signalas, ko pasekoje sukeliama du skirtingi, su mediatoriais susiję procesai: granulėse esančių mediatorių išskyrimas (pirminiai mediatoriai) ir naujų mediatorių sintezė (antriniai mediatoriai) [2, 80]. Pirmo proceso metu, po aktyvacijos per kelias minutes mastocitai ir bazofilai iš citoplazmos granuliu išskiria daugybę vazoaktyvių ir uždegimą skatinančių mediatorių, kurie jau buvo pagaminti iki sąlyčio su alergenu. Pagrindiniai granuliu produktai yra biogeninis aminas histaminas, chemotaksinės medžiagos neutrofilų ir eozinofilų chemotaksio faktorius, fermentai proteazės, tarp kurių pagrindinė yra triptazė, ir proteoglikanas heparinas bei eozinofilų chemotaksio anafilaksijos

faktorių (ECF-A) ir trombocitus aktyvinantis faktorius (PAF) [2, 32, 80, 92]. Antriniai mediatoriai - lipidiniai mediatoriai. Svarbiausi jų – prostaglandinas D₂ (PGD₂) ir leukotrienai (LT) B₄ (LTB₄), C₄ (LTC₄), D₄ (LTD₄) ir E₄ (LTE₄) bei trombocitus aktyvinantis faktorius [75, 92]. Išsiskyrę pirminiai uždegiminiai mediatoriai yra biologiškai aktyvios medžiagos ir organizme sukelia patofiziologines reakcijas, tuo tarpu antriniai mediatoriai – prostaglandinai, leukotrienai ir kiti citokinai – į imuninio konflikto vietą - alergeno patekimo lokalizaciją - sutelkia kitas uždegimines ląsteles: neutrofilus, eozinofilus ir T limfocitus, kurie sukelia lėtinę fazės reakciją.

Papildomai puliosios ląstelės ir bazofilai sintetina ir išskiria gausų polipeptidinių mediatorių citokinų kiekį – navikų nekrozės faktorių α (TNF- α), IL-1, IL-2, IL-3, IL-4 (ypač bazofilai), IL-5 (tik mastocitai), IL-6, IL-8, IL-9, IL-13 (ypač bazofilai), IL-16 ir granuliocitų makrofagų kolonijas stimuliuojantį faktorių (GM-CSF) bei kraujagyslių endotelio augimo faktorių (VEGF), kuris sintezuojamas *de novo* ir išskiriamas praėjus keletui valandų po aktyvacijos. Citokinai reakcijose dalyvauja kaip uždegiminio atsako inicijuotojai – sužadintojai, koordinatoriai ar slopintojai [2, 4, 75, 80, 92]. Kai kurių mechanizmų atvejais greita nespecifinių IgE sukelta IL-4 produkcija bazofilų granulėse ir vėlesnė sekrecija paskatina Th ląsteles diferencijuotis į Th₂, kurie vėliau ims sekretuoti IgE [77].

Apibendrinant didelę gausą po aktyvacijos šių efektorinių ląstelių išskiriamų mediatorių galima suskirstyti į tris grupes: prieš aktyvaciją susintetinti mediatoriai, naujai sintetinami mediatoriai ir citokinai [92]. Minėti mediatoriai patologiškai veikia kraujagyslių endotelį ir lygiuosius raumenis, kvėpavimo takų ir virškinamojo trakto lygiuosius raumenis, didina gleivių sekreciją ir sukelia visų ląstelių infiltraciją imuninio konflikto vietoje [2, 54].

Alerginės reakcijos gali pasireikšti kaip ūmi uždegiminė reakcija – sisteminė anafilaksija, kaip lėtinė reakcija arba lėtinis alerginis uždegimas. Ūmi uždegiminė reakcija įvyksta labai greitai – nuo kelių sekundžių iki kelių minučių nuo alergeno patekimo į sensibilizuotą organizmą. Lėtinė reakcija – mediatorių poveikyje sutelkti eozinofilai ir neutrofilai. Šių ląstelių sanauja sukelia vėlyvos fazės reakcijas po to, kai pranyksta ūmios fazės ženklai ir klinikiniai simptomai, bei gali trukti valandas po to, kai pateko antigenas. Vėlyvos fazės klinikiniai simptomai gali būti odos patinimas, raudonumas, nosies užsikimšimas, sloga, kosėjimas, čiaudėjimas, trunkantys kelias valandas ir dažniausiai praeinantys per 24-72 val. [92]. Galiausiai, nuolatinis ar besikartojantis alergeno poveikis sukelia chronišką alerginį uždegimą. Uždegimo vietoje gausu eozinofilų ir Th₂ ląstelių. Eozinofilų granulėse esantys mediatoriai (pagrindinis eozinofilų šarminis baltymas, eozinofilų kilmės neurotoksinas, katijoninis baltymas ir prostaglandinai (ypatingai PGE₂) bei leukotrienai (ypatingai LTC₄) ir citokinai (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, TNF- α , TGF- β) nuolat išskiriami į aplinką ir dirgina aplinkinius audinius [25, 47, 75, 92]. Ilgainiui toks

poveikis paveikia audinių struktūrinės ir funkcines savybes bei padidina antigenui specifinio IgE kiekį, kuris savo ruožtu paskatina tolesnį IL-4 ir IL-13 iš efektorinių ląstelių išskyrimą taip padidindamas polinkį į nuo Th₂ ląstelių ir IgE priklausomo atsako vystymąsi [2, 22, 52, 75].

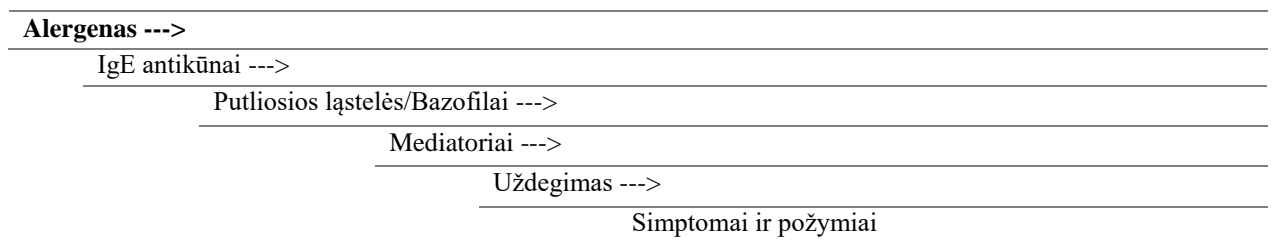
Pirminiai ir antriniai mediatoriai atsakingi už pažeidimus putliųjų ląstelių, bazofilų ir eozinofilų degranuliacijos vietoje. Staigi mediatorių degranuliacija skatina lygiųjų raumenų susitraukimus, spazmus kvėpavimo ir virškinamojo trakto sistemose, didina kraujagyslių pralaidumą ir gleivių sekreciją, mažina smulkių kraujagyslių tonusą, didina jų pralaidumą: skysčiams difunduojant į ekstravaskulinį tarpą mažėja kraujo spaudimas ir padidėja sensorinių nervų galūnėlių stimuliacija. Padidėjusi gleivių sekrecija ir bronchų lygiųjų raumenų tonusas bei kvėpavimo takų edema sukelia sunkias kvėpavimo problemas. Kvėpavimo problemos yra dažniausias anafilaksijos simptomas, pasireiškiantis maždaug 50 proc. visų anafilaksinių epizodų atvejų, o poveikis virškinimo sistemai ir su juo susiję simptomai (pykinimas, vėmimas, viduriavimas ir spazminis skausmas) pasireiškia 25-30 proc. anafilaksinių epizodų [92]. Poveikis ŠKS išsivysto dėl sumažėjusio kraujagyslių tonuso ir kapiliarų pralaidumo. Hipotenzija, širdies aritmija, alpimas, šokas gali ištikti dėl sumažėjusio kraujo tūrio, vazodilatacijos ir miokardo disfunkcijos. Padidėjus kraujagyslių pralaidumui, apie 35 proc. kraujo tūrio per maždaug 10 min. patenka į ekstravaskulinę erdvę. Literatūros duomenimis apie 30-35 proc. pacientų pasireiškia ŠKS simptomai - alpimas, hipotenzija ir galvos svaigimas [56, 61, 92]. Anafilaksija kliniškai glaudžiai susijusi su miokardo išemija, prieširdžių ir skilvelių aritmija ir T bangų nukrypimu, kurie susiję su tiesioginiu mediatorių poveikiu miokardui. Putliųjų ląstelių kaupimasis vainikinių aterosklerozinių plokštelių vietose ir IgE, prisirišę prie jų paviršiaus, gali sukelti jų degranuliaciją, todėl mokslininkai teigia, kad anafilaksija pacientams, sergantiems širdies kraujagyslių ateroskleroze, gali paskatinti aterosklerotinės plokštelės plyšimą taip sukeldami miokardo išemiją [55]. Kvėpavimo ir ŠKS sutrikimai kelia daugiausiai rūpesčių, nes šių sistemų disfunkcija yra pagrindinė mirčių dėl anafilaksijos priežastis [92].

Alerginės reakcijos sukeltas klinikinis sindromas labiausiai priklauso nuo 3 pagrindinių kintamųjų: alergenui specifinių IgE kiekio, kelio, kuriuo alergenas pateko į organizmą, ir alergeno dozės [52]. Jei alergenas pateko tiesiai į kraujotaką arba yra greitai absorbuojamas iš žarnyno, jungiamasis visų kraujagyslių, kuriose yra gausu putliųjų ląstelių, audinys gali būti greitai paveiktas. O tokia aktyvacija sukelia labai pavojingą sindromą – sistemine anafilaksija. Tokia išplitusi putliųjų ląstelių aktyvacija sukelia potencialiai mirtiną poveikį: plačiai paplitęs kraujagyslių pralaidumas veda prie katastrofiško kraujospūdžio kritimo, kvėpavimo takų susiaurėjimo – kvėpavimo sutrikimai, ir antgerkliaus ištinimo – uždusimo pavojus. Toks anafilaksijos epizodas, dėl suprastėjusios kraujotakos atsiradęs deguonies ir maisto medžiagų

trūkumas gali sukelti mirtiną sindromą, vadinamą anafilaksiniu šoku. Šokas nėra itin dažnas anafilaksijos reiškinys, tačiau nesiimant jokių priemonių, sindromas gali būti staigios mirties priežastimi [52].

Anafilaksinių reakcijų metu išskiriami mediatoriai, sukeliantys klinikinius požymius, pagal *Abba I. Terr* gali būti skiriami nuo lengvos reakcijos odos paviršiuje (1 balo reakcija) iki širdies raumens sustojimo dėl gilos hipotenzijos ir kraujotakos kolapso (4 balų reakcija). Praktikoje sunku nuspėti kokio stiprumo reakciją tam tikras alergenai iššauks, nes kiekvienas žmogus gali būti skirtingai sensibilizuotas įvairiais alergenais [78].

Apibendrinant anafilaksijų patofiziologiją galima sakyti, kad greitos organizmo reakcijos į alergeną gali paveikti pavienius organus, pvz. odą (dilgėlinė, egzema), akis (konjunktivitas), nosiaryklę (alerginis rinitas), burnos/gerklės/liežuvio gleivinę (angioedema), bronchų ir plaučių audinį (bronchų astma) ir virškinamąjį traktą (gastroenteritas), arba kelis organus (sisteminė anafilaksija). Skirtingose žmogaus kūno vietose būdinga skirtinga anatomija, todėl atitinkamai nuo to, kur įvyko alergeno ekzpozicija ir kiek bei kokie organai buvo paveikti, skiriami ir skirtingi požymiai nuo paprasto bėrimo ar slogos iki uždegimo ar anafilaksijos sukeltos mirties, tačiau bendra reakcijų eiga išlieka ta pati (1 pav.)



1 pav. Anafilaksinės reakcijos išsivystymo schema.

1.2.3. Rizikos veiksnių įtaka anafilaksinių reakcijų išsivystymui

Maždaug 40 proc. vakarų populiacijos turi perdėtą polinkį gaminti didelius kiekius IgE įvairiems aplinkos alergenams. Tokia perdėta IgE gamyba vadinama atopija, kuri yra genetiškai ir aplinkos veiksnių nulemiama [52]. Atopija – žmogaus ar šeimos polinkis, paveldėta organizmo savybė gaminti IgE antikūnus įprastiems alergenams – baltymams. Atopija susijusi su genetiškai nulemtu polinkiu gaminti didelius kiekius IgE ir tapti sensibilizuotam alergenams, įprastai esantiems aplinkoje, kuriems dauguma žmonių negamina IgE kaip atsako į patologinius alergenų [93]. Manoma, kad atopiją nulemiantys genai yra 11 chromosomoje, todėl atopija yra paveldima. Atopija – tiek aplinkos veiksnių, tiek genetikos nulemtas polinkis tokių ligų kaip alerginis rinitas, astma ar atopinis dermatitas (egzema) išsivystymui. Šios būklės metu padidėjęs imuninis atsakas įprastiems alergenams dažniausiai pasireiškia įkvepiamiems ir maisto alergenams. Šis sindromas

nulemia alerginių hiperjautrumo reakcijų išsivystymą. Vienas alerginis sutrikimas padidina riziką kito alerginio sutrikimo išsivystymui [9]. Atopiški pacientai turi didesnę bendro IgE kiekį kraujotakoje ir didesnę eozinofilų kiekį nei sveiki asmenys. Remiantis I tipo padidėjusio jautrumo reakcijų patogenezės daroma išvada, kad atopiški pacientai turi didesnę riziką anafilaksinį reakcijų išsivystymui. 2008 m. Ročesterio mieste Minesotos valstijoje (*Rochester, Minnesota, JAV*) atlikto Ročesterio epidemiologijos projekto duomenimis 53,3 proc. pacientų, kuriems pasireiškė anafilaksinė reakcija, sirgo IgE sukeltomis atopinėmis ligomis (alerginiu rinitu, astma, atopiniu dermatitu) [26]. Aplinkos veiksniai, turintys įtakos padidėjusiam jautrumui, vadinami kaip užterštumas, perdėtai didelė higiena (vaikai neįgauna jiems būtino imuniteto) bei šiuolaikinė mityba. Visos išvardytos priežastys yra būtent moderniojo pasaulio vystymosi pasekmė, todėl išsivysčiusiose šalyse šis sindromas yra labiau paplitęs. Daugiau nei 30 proc. pasaulio gyventojų yra sensibilizuoti kuriam nors alergenui. Minėtomis atopinėmis ligomis serga: bronchų astma – maždaug 10 proc., alerginiu rinitu – 20 proc., atopiniu dermatitu – 15 proc. gyventojų. Neretai yra taip, kad žmonės kenčia kompleksiskai nuo dviejų ar visų trijų ligų, todėl rizika yra dar didesnė. Ypatingas dėmesys yra skiriamas pacientams, kurie serga astma, kadangi ištikus anafilaksinei reakcijai labai greitai išsivysto sunkios kvėpavimo problemos [3, 52, 72].

Be aplinkos ir genetinių veiksnių įtakos anafilaksijos išsivystymui, aprašoma daugelis kitų rizikos veiksnių, tokių kaip amžius ar papildomos ligos, vaistai ir kiti. Pagyvenusiems žmonėms rizika didėja dėl lydinčių ligų, pvz. obstrukcinės plaučių ligos ar ŠKL, taip pat vartojamų vaistų spektro. Suaugusiems taip pat didelę įtaką gali turėti įvairios gretimos ligos, pvz. mastocitozė - kloninė putliųjų ląstelių liga, kai organizme matuojamas nuolatos padidėjęs bazinis triptazės kiekis [72, 73]. Vaikai turi didesnę riziką maisto sukeltoms anafilaksinėms reakcijoms, o suaugusieji – vaistams ir vabzdžių nuodams. Kaip jau minėta anksčiau, aukštesnis socioekonominis statusas taip pat didina ūmių alerginių reakcijų riziką. Praeityje buvusi anafilaksinė reakcija, t.y. žmonės, kuriems buvo alerginė reakcija tam tikram alergenui, yra rizikos grupėje, tačiau kuo ilgesnis laiko tarpas nuo praeito alergeno ekspozicijos, tuo mažesnė reakcijos tikimybė, taigi dažnai pasikartojantis kontaktas su alergenu labai didina ūmios reakcijos riziką [72].

1.2.4. Pagrindiniai alergenai, sukeltys imuninę anafilaksiją

Alergenas – tai antigenas, kuris sugeba sukelti specifinį nuo IgE priklausomą imuninį atsaką. Tos medžiagos dažniausiai yra tokios, su kuriomis susiduriame kiekvieną dieną: maisto produktai, augalų žiedadulkės, naminių gyvūnėlių kailis, mikroskopiniai grybai (jų sporos), dulkių erkutės, vabzdžių nuodai, vaistai, lateksas ar kitos buitinės cheminės sudėties medžiagos. Bendrai tariant, bet koks baltyminis alergenai gali sukelti ūminę reakciją, tačiau yra vadinami pagrindiniai, t.y.

įvairūs maisto produktai ir vabzdžių nuodai bei vaistai. Bendrai alergenai skirstomi į maisto, įkvepiamuosius ir visus kitus, kuriems priklauso geliančiųjų vabzdžių nuodai, vaistai, cheminės medžiagos ir kt.

Remiantis Amerikos alerginės astmos ir imunologijos akademija (AAAAI) ir Pasaulio alergijos organizacija (WAO), maisto produktai įvardijami kaip pagrindinės anafilaksinės reakcijas iššaukiančios medžiagos. Teoriškai bet kuris maisto produktas gali sukelti alerginę reakciją, tačiau grupė pagrindinių maisto alergenų ir jų produktų, dažniausiai sukeliančių anafilaksines reakcijas, yra apibrėžiami kaip „Didysis aštuonetas“ (angl. *The big eight*) (1 lentelė) [8, 57, 62, 69, 82].

1 lentelė. Dažniausi alergines reakcijas sukeliantys maisto produktai („Didysis aštuonetas“)

ŽEMĖS RIEŠUTAI	VĖŽIAGYVIAI
MEDŽIŲ RIEŠUTAI	ŽUVIS
GRŪDINĖS KULTŪROS (SU GLIUTENU)	SOJŲ PUPELĖS
PIENAS	KIAUŠINIAI

Iš „Didžiojo aštuoneto“ ypatingai atkreiptinas dėmesys į žemės riešutus (ankštinius), pistacijas ir kitus medžių riešutus (graikiniai, anakardžių), moliuskus (krevetės, krabai), žuvį, pieną, vištų kiaušinius ir konservantus (karminas, sulfitai, natrio benzoatas, nitratai). Labai retai, kai jautrumas maistui yra itin didelis, anafilaksinė reakcija gali prasidėti ir įkvėpus maisto alergeno (pvz. atidarius riešutų pakelį).

Šie pagrindiniai maisto alergenai gali būti skirtingai paplitę įvairiose pasaulio vietose, regionuose, pvz. žemės riešutai daugiausiai alergiją sukelia Amerikoje, alerginės reakcijos žuviai būdingesnės Skandinavijos šalyse, o Italijoje ar Ispanijoje gyvenantiems žmonėms dažniau pasireiškia alergija moliuskams [57]. Skaičiuojama, kad Jungtinėse Amerikos Valstijose (JAV) per metus nuo maisto sukeltų anafilaksinių reakcijų miršta apie 150 žmonių [92]. Daugiau nei 90 proc. mirčių nuo anafilaksinių reakcijų yra sukeltos žemės ir medžių riešutų, tačiau kiti produktai – žuvis, moliuskai, karvės pienas ir vištų kiaušiniai – taip pat buvo vieni iš mirčių priežastčių [92].

Pagal riziką sukelti anafilaksinę reakciją antroje vietoje yra geliantys vabzdžiai – bičių, vapsvų, širšių geluonių nuodai gali sukelti sunkias, kartais mirtinas reakcijas. Reakcija į maisto alergenų prasideda iš karto po kontakto su alergenu – per 1-2 min., tačiau kartais gali užtrukti ir 1-2 val., tuo tarpu vabzdžių nuodų sukeltos reakcijos pasireiškia labai greitai - per 10 min. [92]. JAV per metus nuo geliančiųjų vabzdžių nuodų sukeltų anafilaksinių reakcijų miršta maždaug 40-50 žmonių [92].

Medikamentai yra trečioje vietoje pagal riziką sukelti anafilaksiją. Pagal AAAAI beveik kiekvienas vaistas gali sukelti alerginę reakciją, tačiau pagrindinę reikšmę turi antibiotikai ir priešepilepsiniai vaistai [9, 94].

Sunkių ūmių anafilaksinių reakcijų sąlygotos mirtys paplitusios tiek Europoje, tiek pasaulyje. 1999 – 2006 m. periodu Jungtinėje karalystėje (JK) buvo užfiksuoti 48 mirčių nuo anafilaksinių reakcijų atvejai, kurių dažniausia buvo anafilaksija žemės riešutams (9 atvejai) ir medžių riešutams (9 atvejai), o 6 mirtys buvo sukeltos pieno [95]. Australijoje ir Naujoje Zelandijoje yra didžiausias alerginių sutrikimų paplitimas iš visų išsivysčiusių šalių. 2007 m. buvo paskaičiuota, kad 4,1 mln. australų, o tai sudaro 19,6 proc. visos Australijos populiacijos, pasireiškė nors viena alerginė reakcija. Australų populiacijos tyrimai atskleidė, kad daugiau nei 2,8 proc. žmonių pasireiškė anafilaksinė reakcija naminėms bitėms. Mirtys nuo anafilaksinių reakcijų Australijoje palyginus su kitomis šalimis retesnės – 1995-2007 metais užfiksuota 112 mirčių. Pagrindinės priežastys buvo geliančių vabzdžių nuodai – 20 atvejų (18 proc.), maistas - 7 atvejai (6 proc.), vaistai – 22 (20 proc.), tikėtina, kad vaistai – 42 (38 proc.), nenustatytos priežastys – 15 (13 proc.) ir kita – 6 (5 proc.) [13]. Kalbant apie alergenų paplitimą Europoje situacija yra labai panaši. Europos alergijos ir klinikinės imunologijos žurnale 2014 m. išspausdintame straipsnyje buvo pavišinti pirmieji Europos duomenys, gauti internetu, apie sunkias, ūmias alergines reakcijas. Pirmojoje internetu vykdytoje Anafilaksijos registravimo programoje nuo 2011 iki 2014 m. dalyvavo įvairūs alergologijos, dermatologijos skyriai iš 10-ties Europos šalių – iš viso 59 centrai. Per minėtą laikotarpį buvo užfiksuoti 3333 anafilaksijos atvejai, iš kurių 26,7 proc. buvo jaunesniems nei 18 metų amžiaus. Alerginės reakcijos suaugusiems dažniausiai buvo sukeltos maisto alergenų – 20,4 proc., geliančių vabzdžių nuodų – 48,2 proc. bei vaistų – 22,4 proc. Dauguma reakcijų (80,5 proc.) įvyko per 30 min. [97]. 2006 – 2013 m. duomenų iš vokiškai kalbančių šalių (Vokietijos, Austrijos ir Šveicarijos) analizė (n=4141) parodė, kad anafilaksinės reakcijos suaugusiems dažniausiai sukkeliamos kviečių, sojų, lazdyno, žemės riešutų, salierų ir moliuskų [96], o iš geliančių vabzdžių dažniausiai vapsvos ir bitės nuodai. Suaugusiems geliantys vabzdžiai yra pavojingesni, tuo tarpu maisto produktai alergines reakcijas dažniausiai iššaukia vaikams [96].

Įkvepiamieji alergenai alerginę reakciją iššaukia rečiausiai. Alerginės reakcijos, kurių metu yra paveikiamos akys, nosis ir plaučiai, yra beveik visuomet dėl įkvepiamųjų alergenų, esančių aplinkoje. Sezoninių medžių, žolės, augalų ar piktžolių žiedadulkės ir grybų sporos priskiriamos prie dažniausių lauke paplitusių įkvepiamųjų alergenų (angl. *outdoor*), tuo tarpu dulkių erkutės, gyvūnai, tarakonai, o taip pat ir viduje esančių grybų sporos yra pagrindiniai namų aplinkoje

esantys įkvepiamieji alergenai [92]. Atmosferoje esančių alergenų paplitimas priklauso nuo klimato, geografinės zonos ir augmenijos.

Alerginės reakcijos įkvepiamiems alergenams yra viena iš pagrindinių alerginio rinito ir astmos priežasčių bei papildomas atopinio dermatito išsivystymo faktorius. Žiedadulkės ir kiti įkvepiamieji alergenai retai sukelia anafilaksiją [81], dažniausiai alergija šiems medžiagoms pasireiškia problemomis kvėpavimo takuose – rinitu, sinusitu, niežėjimu, astma, kosuliu, sloga, kvėpavimo sutrikimais, akių ašarojimu, dilgėline, kas savo ruožtu padidina anafilaksijų riziką. Kontaktas su akimis sukelia konjunktyvitą, o su oda – egzemą [5]. Alerginės reakcijos žiedadulkėms dažniausiai pasireiškia sezoniškai ir yra vadinamos šienlige. Tai yra dažniausia lėtinė liga ne tik JAV, bet ir Europoje. Įvairių rūšių medžiai žiedadulkes išskiria kiekvieną pavasarį, o kai kurie – visus metus, todėl labai sunku išvengti jų poveikio. JAV maždaug 7 proc. suaugusiųjų kenčia nuo alergijos žiedadulkėms. Dažniausiai žiedadulkės, sukeliančios ūmias reakcijas, yra nuo medžių, piktžolių ar kitų žolių. Dauguma žmonių, kuriems pasireiškia įkvepiamųjų alergenų alergija, jaučia simptomus tik sezono metu.

Vertinant statistinius duomenis verta prisiminti, kad tikslią statistiką riboja daug faktorių, todėl skaičiai gali būti didesni.

Nepaisant esančios klasifikacijos, ateityje visi alergenai gali būti vienodai paplitę, kadangi alerginių reakcijų skaičius yra potencialiai didėjantis iki šių dienų. WAO 2013 m. atlikta šalių narių apklausa parodė, kad beveik visos šalys nurodė alerginių reakcijų didėjimą, o susisteminti duomenys atskleidė, kad nei viena šalis per paskutinius 10 metų nenurodė mažėjančių alerginių reakcijų skaičiaus. Anafilaksinės reakcijos ypatingai paplitusios vaikų tarpe, tačiau suaugusiųjų tarpe skaičiai taip pat drastiškai auga [95].

1.3. Mastocitozė kaip rizikos veiksnys nuo IgE priklausomų anafilaksinių reakcijų išsivystymui

Putliosios ląstelės, paplitusios visame žmogaus kūne, yra pagrindinis struktūrinis ir funkcinis imuninės sistemos komponentas. Kaip jau minėta, šios ląstelės yra pagrindinės uždegimo patogenezėje ir yra esminės efektorinės ląstelės anafilaksinėse reakcijose. Nepaisant to, kad svarbūs pasiekimai padėjo išsiaiškinti ir suprasti jau žinomą tiek normalioje, tiek aktyvioje būsenoje esančių putliųjų ląstelių funkcinį vaidmenį, labai mažai yra žinoma apie putliųjų ląstelių aktyvavimo mechanizmus mastocitozės atveju [33]. Mastocitozė – heterogeninė (nevienalytė) klinikinė liga, kuriai būdinga nenormali patloginė morfologiškai ir imunofenotipiškai pakitusių mastocitų kloninė neoplastinė proliferacija ir paplitimas įvairių organų audiniuose (dažniausiai oda, kaulų čiulpai (KČ), virškinamasis traktas). Mastocitozė dažnai dar vadinama sisteminė putliųjų ląstelių liga (angl. *SMCD*) su paplitusiais daugiažidininiais mastocitų telkiniais [10, 33].

PSO išskiria 7 mastocitozės subtipų kategorijas: 1) odos (*cutaneous*) mastocitozė, 2) ekstrakutaninė mastocitoma (*extracutaneous*), 3) indolentinė (neagresyvi, gerybinė) sisteminė mastocitozė (SM), 4) agresyvi SM, 5) SM su asocijuotu kloniniu hematologiniu ne mastocitų linijos susirgimu, 6) mastocitų leukemija ir 7) mastocitų sarkoma [33, 46, 58, 85]. Bendresnis mastocitozės skirstymas yra odos mastocitozė (būdinga dažniausiai vaikams) ir likusieji subtipai, priklausantys sisteminės mastocitozės klasei [90]. Daugiausiai suaugusiųjų (>95 proc.) yra diagnozuojama sisteminė mastocitozė [21]. Paskutinių tyrimų duomenimis, SM paplitimas Europoje tarp suaugusiųjų yra 1,0-1,3 atvejų 10 000 gyventojų. Mastocitozė gali paveikti įvairaus amžiaus, lyties asmenis [17].

1.3.1. Mastocitozės etiopatogenezės ypatumai

Mastocitozės patogenezėje, kaip ir I tipo padidėjusio jautrumo reakcijose, pagrindinį vaidmenį atlieka audinius infiltravusios putliosios ląstelės ir jų granulėse esantys mediatoriai. Dauguma sergančiųjų SM, nepriklausomai nuo SM subtipo, dažniausiai turi mutaciją *c-kit* geno 816 kodone (Asp816Val) (kitai vadinama 17 KIT egzone įvykusi D816V mutacija), kuria yra paremta SM diagnostika ir progresavimo stebėseną [90]. Ši *c-kit* geno mutacija mastocituose yra randama maždaug 90 proc. SM atvejų [58]. CD117 (KIT), arba *c-kit*, yra receptorinė tirozinkinazė, ekspresuojama mastocitų, hematopoetinių progenitorinių ląstelių ir kt. membranose, dar vadinama augimo faktoriaus receptoriu ir yra ypatingai svarbi normaliam mastocitų vystymosi procesui. Yra žinoma daugiau KIT geno mutacijų, kurios yra rečiau pasitaikančios, pvz. 815, 817 ar kt. egzonuose, kuriuose įvykusios mutacijos sukelia nenormalią mastocitų aktyvaciją, dažniausiai būdingą sergantiems odos, indolentine mastocitoze, ar pažengusiomis mastocitozės formomis [90]. KIT yra aktyvuojamas po susijungimo su jo ligandu - kamieninių ląstelių faktoriu. Šiam faktoriui prisijungus prie *c-kit*, inicijuojamas mastocitų vystymasis. Būtent tų receptorių, prie kurių jungiasi kamieninių ląstelių augimo faktorius, mutacija, kuri sukelia konformacinius fermentinės receptoriaus kišenės pokyčius, ir nulemia nuolatinį mastocitų vystymosi skatinimą – daugybės identiškų mastocitų gamybą ir apoptozės slopinimą [90]. Taigi, *c-kit* sąveika su ligandu (kamieninių ląstelių faktoriu) yra būtina normaliai mastocitų proliferacijai, brendimui, adhezijai ir išgyvenamumui bei šių procesų reguliavimui. Nustatyta KIT D816V mutacija yra vienas iš mažųjų mastocitozės diagnostikos kriterijų, tačiau šios mutacijos neturėjimas neatmeta SM diagnozės [90].

KIT aktyvacija normaliose žmogaus putliosiose ląstelėse padidina ląstelių proliferaciją ir išgyvenamumą, pakeičia mastocitų migraciją ir adheziją, padidina mastocitų degranuliacijos mastą ir netgi tiesiogiai paveikia mastocitus išskirti mediatorius. Svarbu ir tai, kad, remiantis *in vitro*

tyrimais ir klinikiniais stebėjimais, ne visiems mastocitoze sergantiems ir KIT D816V mutaciją turintiems pacientams būdinga mastocitų aktyvacija [11]. Kadangi mastocitai yra pirminės efektorinės uždegimo ląstelės, pacientams, sergantiems mastocitoze, būdingi simptomai yra sukeliama būtent ir dėl gausaus audinių infiltravimo mastocitais, o anafilaksinį reakcijų atveju - dėl išskiriamų mastocitų mediatorių. Cheminės medžiagos, kurios mastocitų lėtinio ar epizodinio aktyvavimo metu yra išskiriamos į aplinką, sukelia įvairių organų audinių pažeidimus bei patekusios į kraujotaką gali sukelti sisteminės reakcijas. Yra žinoma, kad mastocitų aktyvacija gali įvykti ne tik nuo IgE priklausomų reakcijų, tačiau ir nealerginių, ne nuo IgE priklausomų, reakcijų metu. Pastarųjų atveju reakcijos iššaukiamos fizinių veiksnių (pvz. temperatūros pokyčių, spaudimo, fizinio aktyvumo), vaistų (pvz. anestetikai) ar emocinio streso iššauktos reakcijos [18].

Kai organizme yra per daug mastocitų ir jų mediatorių, jie nuolatos degranuliuoja, minėti mastocitų mediatoriai sukelia simptomus, kurie gali varijuoti nuo lengvesnių formų iki sunkesnių būklių. Kadangi mastocitai yra alerginių reakcijų efektorinės ląstelės, mastocitozės simptomai labai panašūs į alerginių reakcijų. Simptomai gali būti įvairūs, nuo nuolatinių, lėtinių (nuovargis, svorio netekimas, prakaitavimas ir karščiavimas, odos bėrimas, niežulys, pilvo skausmai, dispepsija, diarėja, raumenų, kaulų, sąnarių skausmai) iki rimtesnių (hipotenzija, sinkopė) ar epizodinių – anafilaksinės reakcijos [18, 59].

1.3.2 Anafilaksinės reakcijos ir ją sukeliantys alergenai mastocitozės atveju

Moksliniais tyrimais pacientams bandoma nustatyti reikšmingą ryšį ne tik tarp mastocitozės ir alerginių-anafilaksinį reakcijų, tačiau ir tarp reakciją sukeliančių alergenų įvairovės. Keleto mokslinių studijų metu buvo bandoma aiškintis šių dviejų chroninių gretutinių ligų (alergijos ir mastocitozės) tarpusavio ryšį. Dvejuose skirtinguose tyrimuose, kuriuose dalyvavo 210 ir 120 pacientų, sergančių mastocitoze, alergijų paplitimas suaugusiųjų tarpe buvo atitinkamai 23,9 proc. ir 17 proc., tačiau palyginus šiuos skaičius su bendra populiacija, - 17,9 proc. ir 21,6 proc. – nebuvo rasta reikšmingo skirtumo, o tai patvirtina idėją, kad nuo IgE priklausomos alergijos pacientams, sergantiems mastocitoze, nesiskiria nuo bendros, mastocitoze nesergančios, populiacijos [33]. Tuo tarpu anafilaksinį reakcijų mastocitoze sergančių pacientų tarpe rezultatai yra reikšmingai skirtingi [17]. Pirmasis mirtinas anafilaksijos atvejis pacientui, sergančiam sisteminė mastocitoze, kuriam buvo agresyvi jos forma, buvo aprašytas 1979 m. Anafilaksinį reakcijų atvejai bendrojoje populiacijoje varijuoja nuo 1-3 iki 10,5 atvejų 100 000 gyventojų per metus [33, 60], o anafilaksijos atvejai suaugusiųjų, sergančių mastocitoze (su odos pažeidimais ir be) yra žymiai dažnesni, nei bendroje populiacijoje, skirtingų šaltinių duomenimis svyruoja nuo 8/40 (20 proc.) ir 36/163 (22 proc.) iki 36/74 (49 proc.) [39], kai bendroje populiacijoje anafilaksinį reakcijų

paplitimas - 0,05-2 proc. [17, 58]. Anafilaksinių reakcijų pasireiškimas šių minėtų tyrimų metu buvo išprovokuotas įvairiais veiksniais, iš minėtų 36/163 (22 proc.) atvejų 9 (25 proc.) buvo sukelti geliančių vabzdžių nuodų, 6 (17 proc.) – maisto, 8 (22 proc.) vaistų ir 9 (25 proc.) idiopatinės kilmės, tačiau 8 (22 proc.) atvejų buvo išprovokuoti kelių veiksmų kombinacijos. Tuo tarpu iš minėtų 36/74 (49 proc.) taip pat po 8 (22,2 proc.) – geliančiųjų vabzdžių nuodų ir vaistams, maistui – 1 (2,7 proc.) ir 15 (41,6 proc.) – idiopatinės kilmės – savaime įvykusi degranuliacija [33]. Idiopatinės anafilaksijos atvejis mastocitoze sergantiems pacientams patvirtinamas atmetus visus potencialius provokuojančius veiksnius. Keleto studijų duomenimis maždaug 20 proc. anafilaksinių reakcijų yra idiopatinės, tačiau remiantis jau minėtų tyrimų duomenimis aišku, kad idiopatinės priežastys sudaro didesnę procentą [33, 68].

Anafilaksinės reakcijos yra dažnas ir būdingas simptomas tarp mastocitoze sergančiųjų, tačiau paplitimo procentas yra skirtingas ir kintamas, dažniausiai pažymima anafilaksija, sukelta geliančiųjų vabzdžių nuodų [16]. Priešingai pastariesiems tyrimams, ispanų mokslininkų atliktų tyrimų rezultatai neparodė stipraus koreliacinio ryšio tarp anafilaksijos pasireiškimo ir didelio pacientams būdingo mastocitų skaičiaus (tyrėjai rėmėsi šiais mastocitozės diagnostiniais kriterijais: histologiniais tyrimais, mastocitų procentu KČ, nustatyta tėkmės citometrija, ir serumo triptazės koncentracija) [33]. Nepaisant nerasto ryšio, tyrėjai padarė kelias svarbias išvadas, kad masyvus putliųjų ląstelių mediatorių išsiskyrimas yra tiesiogiai susijęs su mastocitų sukeliama žala. Labai didelė serumo triptazės koncentracija ir gyvybei pavojingi sisteminiai simptomai, tokie kaip hipotenzija ar ŠKL kolapsas, yra dažniausiai stebimi požymiai. Tokiems pacientams turėtų būti taikomas agresyvus antimediatorinis gydymas ir netgi citoredukcinė terapija [33].

1.3.3. Mastocitozės diagnostika

Vienas iš dažniausiai praktikoje taikomų mastocitozės diagnostikos tyrimų – triptazės koncentracijos kraujo serume nustatymas. Triptazės koncentracijos nuolatinis padidėjimas periodinių matavimų metu leidžia patikimai įtarti nenormalias, nebūdingas mastocitų sankaupas – t.y. mastocitozės židiniai. Atsižvelgiant į tai, kad mastocitozė – palyginus reta liga, jos diagnostika yra labai kompleksinė [63, 71, 83]. Mokslininkų atliktų tyrimų rezultatai atskleidė, kad iki 11 metų amžiaus vaikų grupėje, net 68 proc. atvejų tikslios diagnozės nustatymo laikas užtruko daugiau nei dvejus metus, o daugiau nei pusei visų tiriamųjų galutinės diagnozės patvirtinimui prirėikė ≥ 3 gydytojų konsultacijų [64].

Mastocitozės diagnostika yra daugiapakopis procesas, kuriame rekomenduojama laikytis PSO (2008) apibrėžtų SM diagnozės kriterijų, kurie skiriami į didžiųjų, mažųjų kriterijų bei ligos aktyvumą nurodančius, B ir C radinių grupes, kuriose mastocitozės diagnostika, kaip ir

klasifikacija, paremta neoplastinių mastocitų identifikavimu pagal morfologinius, imunofenotipinius ir/ar genetinius (molekulinius) požymius [63].

PSO rekomendacijos nurodo, kad SM diagnozė patvirtinama, kai aptinkamas 1 didysis ir 1 mažasis kriterijai arba bent 3 mažieji kriterijai. Bendros serumo triptazės nuolatinė reikšmė >20 $\mu\text{g/l}$ yra vienas iš keturių mažųjų diagnostikos kriterijų.

SM klinikinė eiga gali varijuoti nuo gerybinės (idolentinės SM) iki agresyvesnės, gyvybei pavojingos, SM eigos (agresyvi SM, mastocitų leukemija) – t.y. pažengusios formos SM, todėl serumo triptazės tyrimas yra naudingas vertinant mastocitozės eigą ir gydymo efektyvumą.

1.4. Serumo triptazės, kaip anafilaksijos ir mastocitozės žymens, interpretacija

Per pastaruosius 15 metų molekuliniai tyrinėjimai, kurių dėka buvo atrasta daug įvairioms hematologinės ligoms reikšmingų genetinių žymenų, pakeitė klinikinę hematologiją, tuo tarpu per praėjusius 10 metų į klinikinę hematologiją buvo įvesti tik keli svarbūs ir patikimi serologiniai parametrai. Iš jų vienas pagrindinių naujų serologinių parametrų yra serumo triptazės testas. Kadangi triptazė yra gaminama daugiausia mastocitų ir tik labai nedideliais kiekiais bazofilų, ji traktuojama kaip mastocitų sutrikimų žymuo [84].

Serumo triptazė yra vienas labiausiai patikimų žymenų ne tik mieloidinės neoplazmos, bet ir ūmių alerginių – anafilaksinių – reakcijų diagnozavimui. Padidėjusi triptazės koncentracija nustatoma asmenų, kurie serga mastocitoze, mielodisplaziniu sindromu, mieloproliferacine neoplazma ir kt., kraujo serume. Šiems pacientams triptazės, kaip žymens, nustatymas kraujyje yra svarbus ne tik ligos nustatymui ir patvirtinimui, tačiau yra naudojamas ir kaip reikšmingas prognostinis ligos žymuo. Įtariant mastocitozę, triptazės koncentracija yra žymuo, padėsiantis diagnozuoti sisteminę ligą [87].

Triptazė – tai neutrali serino proteazė, kuri yra gaminama ir saugoma mastocitų sekrecinėse granulėse kartu su kitais mediatoriais. Žymiai mažiau jos kaupiama eozinofiluose. Triptazė gali būti dviejų formų: α (alfa) ir β (beta). Abi triptazės formos yra kaupiamos mastocituose, tačiau α triptazė sekretuojama nuolatos, o β triptazė atpalaiduojama į kraują tik po mastocitų aktyvacijos [92], kur abi sudaro bazinį triptazės kiekį [18, 83]. Pacientų, sergančių mastocitoze, kraujyje matuojamas pastoviai padidėjęs α triptazės kiekis, palyginti su sveikais asmenimis, tuo tarpu anafilaksinių reakcijų metu didelis β triptazės kiekis išskiriamas abejuose, tiek mastocitoze sergančių asmenų, tiek sveikųjų, grupėse [92]. Triptazės koncentracija nesant jokios patologijos sveiko žmogaus kraujyje varijuoja nuo 1 $\mu\text{g/l}$ iki 15 $\mu\text{g/l}$ (vidutiniškai 11,4 $\mu\text{g/l}$). Nuolatos padidėjęs triptazės kiekis, >20 $\mu\text{g/l}$, kaip jau minėta, yra vienas iš mažųjų mastocitozės diagnostinių kriterijų. Šios ligos atveju triptazės koncentracija yra visuomet didesnė nei normos

ribos, o vertinant kiekvieną individualiai tiek mastocitozės, tiek anafilaksinių reakcijų metu maksimali triptazės reikšmė labai svyruoja ir gali siekti iki 1000 µg/l. Sergančiųjų odos mastocitoze kraujyje triptazės koncentracija yra normos ribose arba nežymiai padidėjusi, o anksstyvose SM stadijose jos koncentracija taip pat gali būti normali ir palaipsniui didėti mėnesių ar metų eigoje, kol galutinai stabilizuojasi. Serumo triptazės koncentracija koreliuoja su mastocitų paplitimu. Skirtingai nei histaminas, triptazės koncentracija išlieka stabili keletą valandų, todėl histaminas nėra praktiškas mastocitų aktyvavimo žymuo [9]. Paprastai bazinis triptazės kiekis yra individualus ir retai kinta viso gyvenimo eigoje, todėl padidėjusio triptazės kiekio serume nustatymas (paprastai imunofermentiniu metodu) padeda tiksliai identifikuoti anafilaksinį šoką bei mastocitozę [83]. Serumo triptazės nustatymas paprastai yra pirmasis mastocitozės diagnostikai atliekamas, keletą kartų kartojamas testas. Serumo triptazė pasiekia piką po 1 – 1,5 val. įvykus anafilaksinei reakcijai ir išlieka padidėjusi maždaug 5 – 6 val. ir grįžta į pradinį lygį po 24 – 48 val. Įvairių šaltinių duomenimis, geriausias laikas matuoti jos konc. serume – praėjus ne daugiau kaip 1 – 2 val. [92] arba tarpe nuo 15 min. iki 3 val. nuo simptomų pradžios [48]. Nustatant triptazės kiekį kraujo serume yra matuojamos abi triptazės formos neaktyvioje būsenoje ir aktyvi, brandi β triptazės forma, jos konc. pokyčių stebėjimui ir įvertinimui. Nors triptazės konc. yra anafilaksijos ir mastocitozės žymuo, ji taip pat labai svarbi ir numatant riziką anafilaksinių reakcijų išsivystymui. Asmenys, kurių bazinė triptazės konc. yra >12 µg/l, jau priskiriami I tipo alerginių reakcijų ir anafilaksijos rizikos grupei, o 12-20 µg/l konc. rodo perteklinę mastocitų susikaupimą, kuris nebūtinai turi būti dėl mastocitozės. Tyrimų duomenimis daugiau nei 10 µg/l padidėjęs triptazės kiekis lyginant su įprastine norma jau yra svarbus rizikos žymuo. Pagal triptazės konc. padidėjimo išlikimą galima diferencijuoti, ar padidėjimas įvyko dėl anafilaksinės reakcijos (triptazės konc. normalizuojasi), ar mastocitozės (triptazės konc. išlieka padidėjus) [83], tačiau svarbu ir tai, kad normali minimali serumo triptazės konc. neatmeta mastocitozės daignozės.

1.4.1. Delta triptazė

Anafilaksinių reakcijų metu ir mastocitoze sergančių pacientų atveju triptazės konc. normą viršija įvairiai: kartais labai nedaug, o kartais ji būna žymiai padidėjusi. Laikina padidėjusios triptazės kiekio nustatymas yra žymuo, kuris padeda nustatyti, ar ūmi reakcija įvyko būtent dėl putliųjų ląstelių aktyvacijos ir mediatorių išsiskyrimo. Jei atsakymas teigiamas ir triptazės konc. padidėjusi, tuomet rekomenduotina atlikti alergeniui spec. IgE testus. Kiekvieno individo normali serumo triptazės konc. yra stabili per visą jo gyvenimą. Minimalus serumo triptazės konc. padidėjimas virš normos konkrečiam pacientui dar neturėtų būti traktuojamas kaip sisteminis putliųjų ląstelių aktyvavimo žymuo. Svarbu tai, kad padidėjusi triptazės konc. savaime dar nerodo

putliųjų ląstelių aktyvacijos, o normali triptazės konc. to nepaneigia. Mastocitozės atveju serumo triptazės konc. yra nuolatos padidėjusi virš 20 $\mu\text{g/l}$, o tai dar labiau apsunkina diagnostiką ir interpretaciją. Įvykus anafilaksinei reakcijai triptazės konc. piką pasiekia maždaug po 15 – 60 min., o kai kurių tyrimų duomenimis net po 2 val., vėliau pradeda staigiai mažėti. Todėl labai svarbu paimti kraują būtent šio „lango“ metu. Kaip pasekmė, putliųjų ląstelių degranuliacijos mastas (anafilaksinės reakcijos stipris) iš dalies nulems, kiek laiko serumo triptazė išliks padidėjusi. Todėl interpretuojant rezultatus labai svarbu atsižvelgti į mėginių paėmimo laiką ir klinikinės reakcijos išraiškos stiprumą.

Atsižvelgiant į tai, kad kiekvienam asmeniui būdingi individualūs triptazės konc. pokyčiai, naujų tyrimų duomenimis siūloma, kad triptazės konc. po ūmios reakcijos turėtų būti padidėjusi ne mažiau 20 proc. + 2 $\mu\text{g/l}$ bazinio lygio (kiekvienam pacientui individualiai) tam, kad tai rodytų putliųjų ląstelių aktyvaciją. Pvz. jei paciento serumo triptazės konc. yra lygi 10 $\mu\text{g/l}$, ūmios reakcijos metu ji turėtų būti $>14 \mu\text{g/l}$ ($0,2 \times 10 + 10 + 2$). T.y. Δ - (delta) triptazė (≥ 20 proc. didesnė už bazinę asmens triptazės konc. + 2 $\mu\text{g/l}$). Laikantis šio kriterijaus svarbu, kad bazinė asmens serumo triptazės konc. būtų išmatuota praėjus mažiausiai 24 val. po to, kai pranyksta visi ūmios reakcijos simptomai, tam, kad būtų patvirtintas arba atmestas laikinos reakcijos pobūdis arba nuolatinė padidėjusios triptazės konc. ($>20 \mu\text{g/l}$), kas rodo sisteminės mastocitozės diagnozę [84]. Tokiu atveju, remiantis mokslininkais, galima būtų teigti, kad įvyko putliųjų ląstelių degranuliacija, tačiau reikėtų tai vertinti kritiškai, kadangi net ir paėmus kraują iš paciento laiku, triptazės konc. ne visada nustatoma padidėjusi, ypač maisto sukeltų anafilaksinių reakcijų atveju, kai triptazės konc. dažnai būna normos ribose [67]. A. Sala-Cunill ir kolegų Ispanijoje atlikto tyrimo metu nustatyta, kad maisto sukeltų anafilaksinių reakcijų metu tik 57 proc. buvo nustatyta padidėjusi triptazės konc. [67]. To paties tyrimo metu su 102 anafilaksiją patyrusiais pacientais, tarp kurių buvo ir atopiškų, ir mastocitoze bei kitomis gretutinėmis ligomis sergančiųjų, iš viso tik šiek tiek daugiau nei pusei jų (61,8 proc.) anafilaksinės reakcijos metu buvo padidėjusi triptazės konc. [67]. Tokiu atveju greičiausiai būtų galima papildomai tirti kitus žymenis, tokius kaip histaminas ar PGD_2 . Mūsų tyrime tai nebuvo vertinta, tačiau svarbu tai paminėti kaip galimą kai kurių rezultatų iškrypimo priežastį. Minėta teorija nėra plačiai taikoma, tačiau kartais, kai spec. IgE rezultatai neigiami ir nėra aišku, kodėl įvyko anafilaksinė reakcija, ji gali būti naudinga.

Šis, manoma, tikslesnis, triptazės konc. interpretavimas praverstų tuomet, jeigu reikėtų skirstyti pacientus į tam tikras grupes pagal triptazės konc., kaip ir mūsų atveju, arba norint įvertinti, kokio stiprumo buvo reakcija. O šiuo metu kol kas rekomenduojama, kad tiriant triptazės konc. gretimai būtų atliekami ir alergijos tyrimai [84].

1.5. Laboratoriniai nuo IgE priklausomų anafilaksinių reakcijų diagnostikos principai

Anafilaksinių reakcijų diagnostikoje labai svarbūs keli aspektai: anafilaksiją išprovokavusio veiksnio nustatymas ir išskiriamų mediatorių bei citokinų identifikavimas. Klinikinėje praktikoje alergenų, sukeliančių anafilaksines reakcijas, nustatymas yra vienas iš dažniausių imunologijos laboratorijoje atliekamų tyrimų, tuo tarpu mediatoriai ir citokinai nustatinėjami rečiau, tačiau jų diagnostika yra ypatingai svarbi norint diferencijuoti anafilaksinės reakcijos intensyvumą bei prognozę. Alergenų nustatymas yra būtinas pacientų, kurie patyrė anafilaksines reakcijas, rizikos ateityje įvertinimui. Anafilaksinė reakcija yra gyvybei pavojinga ūmi alerginė reakcija, todėl reakciją provokuojančio alergeno nustatymas yra pagrindinė šių ūmių reakcijų valdymo dalis [73].

Skirtingų efektorinių ląstelių išskiriamų mediatorių nustatymas leidžia tinkamai įvertinti įvykusią reakciją. Vieni svarbiausių laboratorijoje nustatinėjamų efektorinių – putliųjų ląstelių, eozinofilų ir bazofilų – išskiriamų mediatorių – serumo triptazė ir histaminas, tačiau vertinant šiuos parametrus svarbu atsižvelgti į tai, kad jie nėra specifiniai tik anafilaksijai, pvz. histamino konc. esti padidėjusi ir asmenims, apsinuodijusiems tam tikrais žuvų nuodais, o triptazės konc. padidėjimas būdingas netgi keletui patologinių būklių, pradedant nuo lėtinės eigos ligų (mastocitozė) ir baigiant miokardo infarktu, traumomis ar staigiu kūdikių mirties sindromu [73]. Be šių minėtų pagrindinių biožymenų, ūmios eigos anafilaksijai įvertinti bei patvirtinti gali būti naudojami ir kiti papildomi parametrai: mastocitų karboksipeptidazė A3, chimazė, trombocitų aktyvinimo faktorius, bradikininas, C-reaktyvusis baltymas bei nemaža citokinų grupė – IL-2, IL-6, IL-10, IL-33 [73, 76]. Putliųjų ląstelių granulėse po aktyvacijos sintetinami mediatoriai prostaglandinas D2, leukotrienai C4, D4 ir E4 veikia kraujagyslių endotelį ir kvėpavimo takų ir virškinamojo trakto lygiuosius raumenis, didina gleivių sekreciją ir sukelia ląstelių infiltraciją; tai stipriausi endogeniniai bronchokonstriktoriai. Šių mediatorių poveikis yra laipsniškas, todėl jų nustatymas padeda įvertinti hiperjautrumo reakcijos aktyvumą. Efektorinių ląstelių mediatoriai po aktyvacijos išsiskiria skirtingu laiku, todėl savalaikis ir skubus ištyrimas yra vienas pagrindinių tikslios ir informatyvios diagnozės komponentų.

1.5.1. Alergenų, sukeliančių anafilaksines reakcijas, diagnostika

Alergijos laboratorinė diagnostika tyrėjui padeda įvertinti alerginio uždegimo patogenezės dalis. Laboratoriniais tyrimais kraujo serume galima nustatyti ne tik bendrąją IgE konc., tačiau ir alergenui specifinių IgE konc. [32]. Bendroji IgE konc. nėra labai informatyvus ar specifiškas tyrimas. Dažniausiai padidėjusi bendrojo IgE konc. nustatoma atopiškiems pacientams (sergantiems atopiniu dermatitu, alerginiu rinitu ar astma) arba siekiant nustatyti kitus sutrikimus, tokius kaip hiper-IgE sindromą ir kt. Bendrojo IgE konc. nesuteikia informacijos apie atskirus

alergenų [28]. Klinikinėje alergologo praktikoje, norint nustatyti alergeną, sukėlusį reakciją, galima naudoti tiesioginius kokybinius *in vivo* metodus – odos alerginius mėginius – arba automatizuotus *in vitro*, kurių metu nustatomi alergeniui specifiniai IgE, cirkuliuojantys kraujo serume. Automatizuoti metodai, priešingai nei odos mėginiai, kiekybiškai vertina antikūnų kiekį kraujyje. *In vivo* metodika nėra tikslus metodas, kurio jautrumas ir specifiškumas priklauso nuo naudojamų alergenų kokybės, tačiau tai yra pirmo pasirinkimo tyrimas. Abiejų metodų metu tiriami alergenai gali būti parenkami pagal paciento ligos istoriją – jei įtariama, kad pacientas jautrus aeroalergenams, tyrimui naudojami būtent tų alergenų mišiniai ar rinkiniai, atitinkamai parenkama ir maisto alergenams.

1.5.1.1. Alergeniui specifinių IgE nustatymas – *in vitro*

Alergeniui specifinių IgE matavimas kraujyje gali būti atliekamas bet kuriuo metu – tiek ūmios anafilaksinės reakcijos metu, tiek jai pasibaigus, tačiau atkreiptinas dėmesys į tai, kad IgE kiekiai gali būti neaptinkami arba klaidingai maži dėl įvykusio kraujo praskiedimo, jei kraujas buvo imamas anafilaksinės reakcijos metu ar iš karto pasibaigus anafilaksinei reakcijai pacientams, kuriems jau buvo atlikta gydymo intervencija – intraveninė vaistų injekcija ar skysčių infuzija. Vertinant tyrimo rezultatus svarbu, kad tam tikram alergeniui teigiamas odos mėginys ir rasti alergeniui specifinių IgE kiekiai parodo, kad asmuo yra įsijautrinęs/sensibilizuotas testuotiems alergenams, tačiau nėra anafilaksinę reakciją patvirtinantis žymenys.

In vitro metodai palankūs tuo, kad specifiniai IgE tiriami iš kraujo, todėl tokiu atveju galima kraują imti ir iš atopiniu dermatitu sergančiųjų ar esant kitoms odą pažeidžiančioms ligoms. Tai saugesnis metodas tokiu atveju, kai įtariama anafilaksijos rizika sensibilizuotam pacientui. Palyginus su odos testais šie metodai yra brangesni, tačiau patikimesni ir informatyvesni.

Alergeniui specifinių IgE konc. nustatymo kraujo serume metodai labai įvairūs. Jau nuo 1980 m. naudojamas imunofermentinis metodas (*ELISA*), kuris dar dabar sėkmingai ir plačiai taikomas laboratorijose. Šio tyrimo pagrindas - antikūnai sujungti su fermentais. *ELISA* metodui ilgainiui buvo pritaikyta daug modifikacijų, kaip pvz. imunofluorescencinis metodas (*angl. fluorescent allergosorbent test – FAST*), kurio principas identiškas, tačiau čia naudojama fluorescencinė fermentinė sistema, t.y. fermentas žymėtas fluorescuojančiu dažu [32].

Alergenų tyrimus galima atlikti ir pusiau kiekybiniu metodu – imunoblotu (*angl. Westernblot*). Šis metodas neleidžia tiksliai nustatyti alergeniui specifinio IgE konc. serume, todėl ši metodika dažniau naudojama nedideliuose šeimos gydytojų kabinetuose arba kitų ligų diagnostikoje [14].

Imuninėse reakcijose dalyvaujančių efektorinių ląstelių bazofilų nustatymas taip pat suteikia naudingos informacijos. Tėkmės citometriniams bazofilų stimuliacijos alergenais tyrimams (angl. *flow-cytometric basophil allergen stimulation test – FAST*). Šia metodika galima nustatyti aktyvuotus bazofilus alerginio uždegimo reakcijos metu, po kontakto su alergenu. Bazofilų aktyvacijos testas naudingas norint sužinoti ligonio reaktyvumo intensyvumą.

Nepaisant to, kad automatizuoti modernesni metodai yra informatyvesni, saugesni ir patogesni nei odos testas, *in vitro* diagnostiniai metodai taip pat turi trūkumų – pvz. labai svarbus kraujo paėmimo laikas, nes AK gali būti dar nesudaryę arba jau išnykę arba neretai gali būti klaidingai teigiami rezultatai dėl galimų kryžminių reakcijų.

Nepaisant esančių modernių diagnostinių priemonių, maždaug apie trečdalis anafilaksinių reakcijų vertinamos kaip idiopatinės [92], todėl atsižvelgiant į tai, kad nei vienas laboratorinis testas nėra 100 proc. jautrus ir specifiškas, svarbu gerai surinkta paciento istorija ir preanalizė bei tinkamo analizatoriaus ir metodikos parinkimas, kas neišvengiamai turi įtakos tikslams ir informatyviems tyrimo rezultatams [92].

1.5.1.2. Alergenų komponentai – atėties tyrimai

Alergenai yra antigenai, paprastai baltymai, kurie geba jungtis prie spec. IgE išprovokuodami alergines reakcijas. Kiekvienas alergenai sudarytas iš daugybės baltymų, kurie vadinami alergenų komponentais.

Molekulinė alergologija, nustatinėjanti alergenų komponentus, suteikia žymiai tikslesnes galimybes klinikinės rizikos įvertinimui ir valdymui. Asmenys, kurie yra sensibilizuoti specifiniams alergenų komponentams, turi žymiai didesnę anafilaksinių reakcijų riziką palyginus su tais, kurie yra sensibilizuoti nespecifiniams, kryžminiems komponentams [12].

Alergenų komponentų nustatymas yra ypatingai informatyvus ne tik „tikrojo“ alergeno identifikavimui, tačiau ir alergiško paciento gyvenimo kokybės pagerinimui. Nespecifinės sensibilizacijos atskyrimas nuo tikrosios pacientams gali suteikti svarbios informacijos norint išvengti nepageidaujamų simptomų. Reakciją sukėlusio alergeno komponento identifikavimo pagalba gydytojais gali tiksliai skirti pacientams gydymą bei sudaryti profilaktinį planą alergiškam pacientui. Asmenys gali būti alergiški ne tik tam tikram alergenų šaltiniui, tačiau ir tik skirtingiems baltyminiams alergenų komponentams, kurie pagal struktūrinį vienodumą yra grupuojami į skirtingas proteinų šeimas (2 lentelė).

2 lentelė. Kliniškai svarbūs alergenai ir alergenų šeimos [49] (priedas nr. 1).

<i>Alergenų šeimos</i>
Nespecifiniai lipidų pernašos baltymai (angl. - non specific lipid transfer protein (LTP))
Baltymai atsparūs karščiui (virimui, kepimui) ir virškinimui. Sukelia reakcijas net ir termiškai apdorotas maistas; Dažnai susiję su sisteminėmis ir rimtomis reakcijomis + oralinis alerginis sindromas (angl. oral allergy syndrome); Susiję su alerginėmis reakcijomis vaisiams ir daržovėms.
Saugojimo baltymai (angl. storage proteins)
Baltymai atsparūs karščiui (virimui, kepimui) ir virškinimui. Sukelia reakcijas net ir termiškai apdorotas maistas; Dažnai susiję su sisteminėmis ir rimtomis reakcijomis + oralinis alerginis sindromas; Susiję su alerginėmis reakcijomis žiedadulkėms, vaisiams ir daržovėms.
PR-10 baltymai
Dauguma PR-10 yra jautrūs karščiui (virimui, kepimui) ir virškinimui. Termiškai apdorotas maistas paprastai nesukelia alerginių reakcijų; Dažnai susiję su vietinėmis reakcijomis, tokiomis kaip burnos alergijos sindromas; Susiję su alerginėmis reakcijomis žiedadulkėms, vaisiams ir daržovėms.
Polkalcinas (agl. Polcalcin) – kalcij surišantys baltymai
Kryžmiškumo žymuo tarp žiedadulkių; Nerandamas augaliniame maiste.
Profilinas (angl. profillin)
Baltymai jautrūs karščiui (virimui, kepimui) ir virškinimui. Termiškai apdorotas maistas paprastai nesukelia alerginių reakcijų – yra toleruojamas; Retai susiję su klinikiniais simptomais, bet gali sukelti vietines, o kai kuriems pacientams ir rimtas reakcijas; Prifilinų yra visose žiedadulkėse ir augaliniame maiste.
CCD
Retai sukelia alergines reakcijas, bet gali nulemti teigiamą <i>in vitro</i> testų rezultatą CCD turintiems alergenams iš žiedadulkių, augalinio maisto, vabzdžių nuodų.
Lipokalinas (angl. lipocalin)
Stabilūs baltymai gyvūnuose; Rodo kryžmiškumą tarp gyvūnų rūšių.
Parvalbuminas (angl. parvalbumin)
Baltymai atsparūs karščiui (virimui, kepimui) ir virškinimui. Sukelia reakcijas net ir termiškai apdorotas maistas; Dažnai susiję su sisteminėmis ir rimtomis reakcijomis + oralinis alerginis sindromas; Pagrindinis žuvų alergenai; kryžminių reakcijų tarp žuvų rūšių žymuo.
Tropomiozinas (angl. tropomyosin)
Baltymai atsparūs karščiui (virimui, kepimui) ir virškinimui. Sukelia reakcijas net ir termiškai apdorotas maistas; Dažnai susiję su sisteminėmis ir rimtomis reakcijomis + oralinis alerginis sindromas; Aktinį surišantys baltymai raumenų skaidulose; kryžminių reakcijų tarp vėžiagyvių, dulkių erkučių ir tarakonų žymuo.
Serumo albuminas (angl. serum albumin)
Baltymai pakankamai jautrūs karščiui (virimui, kepimui) ir virškinimui; Aptinkami įvairiuose daugumos gyvūnų biologiniuose kūno skysčiuose, pvz. karvės piene, kraujyje ir t.t.; Kryžmiškumas tarp albuminų iš skirtingų gyvūnų rūšių yra gerai žinomas, pvz. tarp katės ir šuns arba tarp katės ir kiaulienos.
Svarbūs alergenai
Gal d 1, Ovomucoid (kiaušinio baltymas)
IgE antikūnai ovomukoidui yra susiję su nuolatine alergija kiaušiniui ir paprastai nei žalias, nei termiškai apdorotas kiaušinis nėra toleruojamas.
Ara h 1, 2, 3, 6, 8 ir 9 (žemės riešutas)
IgE antikūnai Ara h 1, 2, 3, 6 ir 9 (LTP) yra susiję su sisteminėmis reakcijomis riešutams + oralinis alerginis sindromas; IgE antikūnai Ara 8 (PR-10) susiję su vietinėmis, lengvesnėmis reakcijomis, pvz. oralinis alerginis sindromas; dažnai iššaukia sensibilizacija beržui.
Gly m 4, 5 and 6 (soja)
Gly m 5 ir 6 susiję su klinikinėmis reakcijomis sojai. Gly m 5 ir Ara h 1 bei Gly m 6 ir Ara h 3 turi panašias struktūras ir gali įvykti kryžminės reakcijos; IgE antikūnai Gly m 4 (PR-10) susiję su vietinėmis, lengvesnėmis reakcijomis, pvz. oralinis alerginis sindromas; dažnai iššaukia sensibilizacija beržui; tačiau retai pasitaiko ir rimtos alerginės reakcijos Gly m 4, pvz. per beržų žydėjimo sezoną ir dažnai po fizinio aktyvumo ir mažai apdirbtų sojos turinčių gėrimų vartojimo.
Tri a 19, omega-5 gliadinas (kviečiai)
IgE omega-5 gliadinui (Tri a 19) susiję su fiziniu aktyvumu, o vaikams su ūmia reakcija kviečiams.
Alt a 1 (sausgrybis)
Alt a 1 yra pagrindinis sausgrybio alergenai, susijęs su astmos išsivystymu.

Kai kurie komponentai yra ypatingai specifiniai alergeno šaltiniui, o kai kuriems būdingas kryžmiškumas tarp skirtingų alergenų šaltinių. Alergenų komponentai skiriasi savo stabilumu. Kai kurie jų, veikiami išorės veiksnių, išlieka stabilūs, tačiau kiti greitai denatūruoja, pvz. veikiami temperatūros. Komponentų specifiškumas ir stabilumas yra labai stipriai susiję su alerginių reakcijų tikimybe bei simptomų stiprumu [12].

2-oje lentelėje yra paminėti svarbiausi ir dažniausiai sutinkami alergenai ir jų šeimos. Kiekvienam alergenui yra būdingi tam tikri skirtingi komponentai. Vienas dažniausių anafilaksinę reakciją sukeliančių alergenų – žemės riešutai. Remiantis lentele ir kryžmiškumo žemėlapiu [49], galima nustatyti 6 žemės riešutų alergenų komponentus (žr. 2 lentelę). Dauguma žmonių yra alergiški, bet „tikroji“ alergija esti žymiai mažesniai žmonių skaičiui. Žemės riešutų komponentas Ara h 2 – specifiškiausias žemės riešutams ir yra svarbiausias, tačiau Ara h 1 ir Ara h 3 padidina sunkių reakcijų riziką. Būtent dėl šių alergenų ir įvyksta „tikrosios“ alerginės reakcijos. Tuo tarpu Ara h 8 ir Ara h 9 komponentai nėra sunkių sisteminių reakcijų priežastis, tačiau gali sukelti lokalias reakcijas. Jie susiję su kryžminėmis reakcijomis – jų gausu žiedadulkėse ir augalinės kilmės maiste. Ara h 8 yra PR-10 šeimos baltymas, kaip ir beržo žiedadulkių Bet v 1 komponentas.

Neretai asmeys būna sensibilizuoti ir gyvūnams, pvz. katės alergenų yra 3, šuns – 4, o arklio – 2 [49, 31]. Katei specifiniai alergenai yra Fel d 1 ir Fel d 4, šuniui – Can f 1, Can f 2, Can f 5, o arkliui Equ c 1. Serumo albuminams Fel d 2 ir Can f 3, kurie nėra gyvūnui specifiniai komponentai, būdingos kryžminės reakcijos. Žmogaus serume nustatant alergenui spec. IgE bus randami IgE visiems žinduoliams nepriklausomai nuo jų rūšies, todėl tokiems asmenims teks vengti ne tik kačių, bet ir šunų bei arklių [31].

Daugelis alergiškų asmenų yra sensibilizuoti keliems alergenams (polisensibilizuoti), todėl alergenų komponentų tyrimai padėtų nustatyti, kurie iš jų sensibilizuoti keliems gretutiniams alergenams, o kuriems įvyko kryžminės reakcijos. Svarbių alergenų lentelės pagalba galima įvertinti komponento „gebėjimą“ iššaukti ūmią alerginę reakciją, todėl nustačius jį molekuliniais metodais galima greitai nustatyti „tikrąjį“ alergeną. Asmenims, kuriems neįvyko anafilaksinė reakcija, pvz. atopiškiems pacientams, nustačius spec. IgE alergenų komponentams, galima sėkmingai sudaryti profilaktikos planą.

Tradicinė populiari diagnostika tampa problematiška, kadangi vis daugiau asmenų tampa alergiški. Atlikus šiuos išsamesnius tyrimus galima pagerinti pacientų gyvenimo kokybę, o kartais netgi išsiaiškinti, kad tai, ko asmuo vengdavo, pvz. maisto, dėl galimos alerginės reakcijos, iš tiesų gali būti valgoma. Vieno ispanų tyrimo metu (2013 m.) mokslininkai išsiaiškino, kad 90 proc. vaikų pradėjo toleruoti nuluptus persikus, nes pagrindinis alergiją sukeliantis komponentas – Pru

p 3 (LTP šeimai priklausantis atsparus karščiui ir virškinimui baltymas), buvo žievėje [19, 45]. Lygiai taip pat gali būti ir su kitais, pvz. termolabiliais alergenais: žalias produktas gali sukelti ūmią reakciją, bet termiškai apdorotas gali būti saugus vartoti [12].

Anafilaksinių reakcijų vertinimas dažniausiai apsiriboja tik ūmios reakcijos numalšinimu, tačiau asmuo, kuris jau patyrė anafilaksinę reakciją, yra rizikoje vėl ją patirti, todėl tam, kad to būtų galima išvengti, reikalingi tokie išsamūs tyrimai, ypač tuomet, kai ligonio istorija nekoreliuoja su tyrimo rezultatais. Komponentų tyrimai kaip ateities tyrimai svarbūs veiksmingesniam gydymui – alergenų specifinei imunoterapijai, todėl alerginių ligų diagnostikoje komponentų tyrimai turėtų būti neatskiriama laboratorinės medicinos dalis.

2. EKSPERIMENTINĖ DALIS

2.1. Tyrimo medžiaga

2.1.1. Tiriamosios grupės

Mokslo tiriamojo darbo tikslams ir uždaviniams pasiekti buvo iširta 60 Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikose (VUL SK) besigydančių pacientų.

Tiriamoji medžiaga – veninio kraujo serumo mėginiai.

Pacientų serumo triptazės tyrimų rezultatai buvo renkami iš VUL SK laboratorinės medicinos centro klinikinės imunologijos laboratorijos duomenų. Laboratorinis alergeniui spec. IgE ištyrimas buvo atliekamas UAB „Imunodiagnostika“ laboratorijoje. Tyrimo eksperimentinė dalis buvo pradėta 2014 m. rugsėjo mėn. ir baigta 2016 m. balandžio mėn.

Mėginiai tyrimui atrinkti remiantis keliais įtraukimo kriterijais ir pagal tai suskirstyti į 3 grupes (3 lentelė).

3 lentelė. Tiriamųjų grupės.

Gr. nr.		Serumo triptazės konc. ($\mu\text{g/l}$)	Tiriamųjų skaičius grupėje
1	Pacientai, kuriems pasireiškė anafilaksinė reakcija	$\geq 11,4$	20
2	Mastocitoze sergantys pacientai, kuriems pasireiškė anafilaksinė reakcija	$\geq 20,0$	20
3	Atopiški pacientai	$< 11,4$	20
		Viso:	60

Anafilaksines reakcijas patyrusių pacientų grupės buvo atrenkamos remiantis padidėjusios triptazės konc., nustatytos klinikinės imunologijos laboratorijoje, rezultatu. Serumo triptazė yra aktyvuotų bazofilų ir mastocitų išskiriamas fermentas – anafilaksijos ir mastocitozės žymuo. Atsižvelgiant į fermento konc. Pokyčius, buvo išskirtos 3 pacientų grupės. Dokumentuotos anafilaksijos atveju, jei triptazės konc. pacientams buvo nustatyta virš normos ($\geq 11,4 \mu\text{g/l}$) tik pirmuoju matavimu (per 1-2 val.), o po antrojo tyrimo triptazės konc. grįždavo į normos ribas ($< 11,4 \mu\text{g/l}$), tuomet tiriamasis buvo įtrauktas į anafilaksinių pacientų grupę – t.y. 1-oji tyrimo grupė. 2-oji grupė asmenų, kuriems diagnozuota mastocitozė, triptazės konc. išlikdavo padidėjusi ($\geq 20,0 \mu\text{g/l}$) ir po antrojo matavimo, t. y. anafilaksinę reakciją patyrę ir mastocitoze sergantys pacientai. 3-ioji – atopiškų pacientų grupė, kurie buvo nukreipti alergologo konsultacijai ir kuriems periodiškai pasireiškė alerginės reakcijos dėl tam tikrų dirgiklių – alergenų. Šios grupės tiriamųjų triptazės konc. buvo normos ribose, todėl jie tyrime yra kaip alergeniui spec. IgE paplitimo palyginamoji grupė.

Norint pasiekti darbo tikslą ir įgyvendinti uždavinius, į tyrimą įtraukta atopiškų asmenų grupė leis įvertinti alergenų paplitimo skirtumus esant skirtingoms būklėms bei kritiškai įvertinti būtent anafilaksines reakcijas galinčius iššaukti alergenais.

Tam, kad nebūtų pažeistas nepilnamečių asmenų konfidencialumas, papildomai buvo taikytas amžiaus kriterijus – buvo tirti vyresnių nei 18 m. asmenų kraujo serumo mėginiai. Visų eksperimente dalyvaujančių asmenų amžiaus ribos buvo nuo 18 iki 68 metų, o amžiaus vidurkis buvo $45 \pm 8,0$ metai.

2.2. Tyrimo metodika

2.2.1. Diagnostinė sistema ir jos sudedamosios dalys

Tyrimui atlikti naudoti OPTIGEN® inovatyvus, pusiau automatinis aparatas *AP 720STM*, *CLA® Pette* kameros (*angl. pette*), OPTIGEN *Panel Allergen Specific IgE Assay* reagentai (Hitachi Chemical Diagnostics, Inc., Japonija) (2 pav.), ir *MAST CLA-ITM* liuminescencinis analizatorius [41, 42, 44] (3 pav.).



2 pav. OPTIGEN® pusiau autoamtinis aparatas *AP 720STM* (*angl. The AP 720STM Semi-Automated In Vitro Allergy Diagnostic System*)



3 pav. *MAST CLA-ITM* liuminescencinis analizatorius ir priedai (*angl. The CLA® Allergen-Specific IgE Assay*)

Naudojant pusiau automatizuotą *AP 720STM* aparatą alergeniui specifinis IgE tyrimas atliekamas nepalyginamai greičiau ir efektyviau. Šiame daugiafunkciniame prietaise vyksta mėginių ir reagentų įtraukimas į *Pette* kameras bei jų inkubacija [41, 42, 44].

CLA® Pette kamera - mažas plastikinis prietaisas, kuris yra pagrindinė visos tyrime naudojamos diagnostinės sistemos dalis. Kiekvieną *Pette* kamerą sudaro trys dalys – kameros korpusas, dengiamasis stiklelis ir pertvara. Kameros korpuse yra kanalas serumui tekėti įsiurbimo fazėje. Vidurinės kameros dalies – dengiamojo stiklelio – vidinėje pusėje, kontaktuojančioje su kameros korpuso kanalu, kuriuo teka paciento serumas – yra išdėstyti 36 šulinėliai, kurių kiekviename yra pritvirtinti celiuliozės siūlai, surišti su tam tikrais alergenais, o išorinėje kameros

dengiamojo stiklelio pusėje yra maži lęšiai (objektyvai), kurie koreguoja cheminės reakcijos metu susidariusios šviesos sklidimą lygiagrečiai, o viršutinė dalis – pertvara – skirta sukcentruoti šviesos sklidimą iš šulinėlio bei blokuoti iš gretimų šulinėlių sklindančią šviesą. Dvi pirmos kameros pozicijos, skirtos teigiamai ir neigiamai kontrolei. Pirmoji – teigiama kontrolė (angl. *procedure control*), antroji – neigiama kontrolė (angl. *negative blanking*). Likusios 36 pozicijos – šulinėliai – skirti 36 mišriems (maisto ir įkvepiamiems) alergenams [41, 42, 43, 44]. (4 lentelė).

4 lentelė. Tyrime naudotų mišrių alergenų paletė

1	Mugwort	Kietis
2	Rape	Rapsas
3	Nettle	Dilgėlė
4	Birch, White	Beržas
5	Alternaria	Pelėsinių grybelių mišinys
6	Aspergillus	Pelėsinių grybelių mišinys
7	Cladosporium	Pelėsinių grybelių mišinys
8	Penicillium	Pelėsinių grybelių mišinys
9	Latex	Lateksas
10	Cockroach Mix	Tarakonai
11	TimothyGrass	Motiejukas
12	Chicken	Vištiena
13	Casein	Kazeinas (proteinas)
14	Barley	Miežiai
15	Rye	Rugiai
16	Apple	Obuoliai
17	Yeast, Bakers	Mielės
18	Wheat	Kviečiai

19	Orange	Apelsinas
20	Codfish	Menkė
21	Beef	Jautiena
22	Pork	Kiauliena
23	Tomato	Pomidorai
24	Shrimp	Krevetės
25	Milk	Pienas
26	Hazelnut	Lazdyno riešutai
27	Soybean	Sojos pupelės
28	Peanut	Žemės riešutai
29	Pea	Žirneliai
30	Egg White	Kiaušinio baltymas
31	Feather Chic	Plunksnos
32	Dog	Šuo
33	Horse	Arklys
34	Cat	Katė
35	Mite, farinae	Namų dulkių erkės Dermatophagoides farinae
36	Mite, pterony	Namų dulkių erkės Dermatophagoides pteronyssinus

CLA® Pette kamera sukurta remiantis kompiuterinio algoritmo skaičiavimais, skirtais skysčio dinamikai įvertinti. Tai savo ruožtu žymiai sumažina mėginio kiekio, reikalingo tyrimui atlikti, reikalavimus. Naudojant šią laboratorinę sistemą, visiems kameroje esantiems 36 alergenams įvertinti užtenka 500 µL kraujo serumo. Vieno tyrimo metu galima iširti 20-ties pacientų serumus [41, 42, 43, 44].

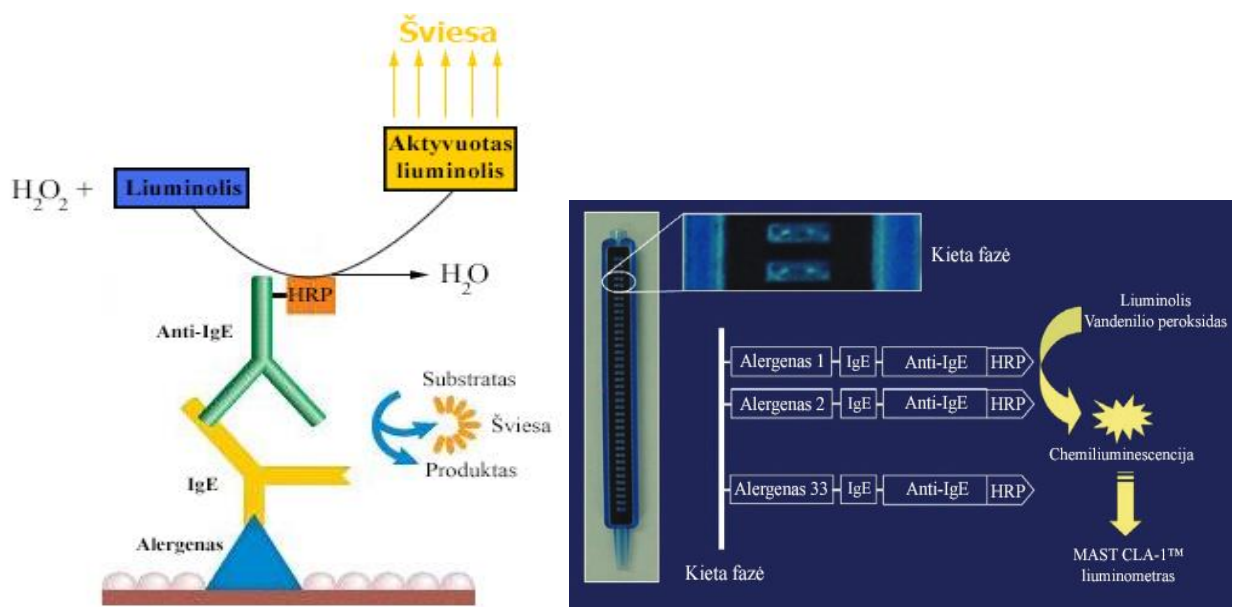
Paskutinis tyrimo etapas atliekamas naudojantis *CLA-I™* liuminescenciniu analizatoriumi. Šis aparatas nuskaito paruoštas *CLA® Pette* kameras, išmatuodamas skleidžiamos chemiliuminescencinės šviesos, susidariusios po reakcijos su kameroje esančiais alergenais, intensyvumą. *CLA-I™* liuminescencinis analizatorius per mažiau nei 10 minučių gali išanalizuoti iki 180 alergenų. Prietaisas po atliktos analizės automatiškai išspausdina išsamų tyrimo atsakymą, kuriame pateikti nustatinėjami alergenai ir paciento serume esančių antikūnų ir alergeno kameroje

įvykusios cheminės reakcijos intensyvumas liuminescenciniais vienetais (LU) ir klasėmis [41, 42, 43, 44].

Tam, kad būtų užtikrinti patikimi ir teisingi rezultatai, kiekvieną kartą, kai *CLA-I*TM liuminometras yra įjungiamas, atliekama kontrolinė analizė (*angl. self-diagnostic*) – naudojama išorinė elektroninė kontrolinė kasetė. Aparate įdiegta *Hitachi* įmonės užpatentuota chemiliuminescencinė technologija – viena iš jautriausių galimų detektavimo sistemų, kurios jautrumas siekia 94,43 proc., specifiškumas – 93,96 proc., o efektyvumas (*veiksmingumas, produktyvumas, našumas*) - 94,22 proc. [41, 42, 43].

2.2.3. Imunobloto metodo principas

Hitachi CLA[®] alergeniui specifinis IgE tyrimas pagrįstas imunobloto metodu. Atliekama kokybinė reakcija alergeniui specifiniams IgE klasės antikūnams paciento serume nustatyti. Tyrimui naudojamos *Pette* kameros viduje esančios polistireno juostelės (kietoji fazė) su 36 šulinėliais. Ant kietosios fazės yra nitroceliuliozės membrana, padengta elektroforeziškai frakcionuotomis antigeninėmis struktūromis. Šios tyrimui naudojamos juostelės yra padengtos aukšto grynumo antigeninėmis struktūromis. Pirmame reakcijos etape juostelės (*Pette* kameroje) yra inkubuojamos su paciento kraujo serumu. Jei mėginiai teigiami, specifiški IgE klasės antikūnai susiriša su atitinkamu antigenu/-ais, esančiais šulinėliuose. Po inkubacijos kameros praplaunamos su buferiniu tirpalu: taip pašalinami visi reakcijoje nedalyvę serumo komponentai (pagrindė su antigenu nesusirišę IgE) ir sudaromos maksimaliai geros sąlygos tolimesnei reakcijai vykti. Antros reakcijos metu yra atliekama inkubacija su konjugatu – fermentu (krienių peroksidaze – *angl. horseradish peroxidase (HRP)*) žymėtais monokloniniais anti-IgE antikūnais prieš žmogaus IgE, norint aptikti pirmos reakcijos metu šulinėliuose su antigenu surištus antikūnus. Po antros inkubacijos taip pat atliekamas plovimas buferiu. Po plovimo kamera užpildoma chemiliuminescenciniu substratu – fotoreagento mišiniu (liuminoliu - 3-aminofthalhidrazinas ir etilo orandžinis kartu su vandenilio peroksidu (oksidacinis agentas)), kurie reaguoja su fermentu žymėtais monokloniniais anti-IgE antikūnais ir dėka įvykusios cheminės reakcijos yra išskiriama šviesa (cheminė liuminescencija - šviesos emisija po to, kai energija yra perduodama chemiliuminescencinei molekulei cheminės reakcijos metu) Įvykusių reakcijų rezultate chemiliuminescencijos imunoanalizė - fotonų emisija yra matuojama liuminometru [14, 27] (4 pav.).



4 pav. Principinės chemiluminescencinės imunoanalizės reakcijų schemos.

Paaiškinimas: Luminolis yra chemiluminescencinis HRP substratas. Esant hidroksido peroksidui (oksidaciniam agentui), HRP oksiduoja luminolį. Aktyvi jo forma 3-aminofalatas, spinduliuoja šviesą, kuri yra detektuojama [27].

Šviesos intensyvumas (kiekis), kuris yra šulinėlyje įvykusios reakcijos išėiga, yra tiesiogiai proporcingas tiriamojo paciento kraujo serume esančio alergenui specifinio IgE kiekiui.

2.2.4. Rezultatų pateikimas ir interpretavimas

CLA-1™ liuminometras užfiksuoja ir pamatuoja šviesos intensyvumą (kiekį), kuris išsiskiria įvykus cheminei reakcijai *Pette* kameroje. Liuminometras išmatuoja šviesos emisiją liuminescenciniais vienetais (LU). Paciento IgE klasės antikūnų buvimą (atsaką) serume prieš tam tikrus alergenus analizatorius apskaičiuoja automatiškai atimdamas šviesos emisijos intensyvumą (kiekį) esant neigiamai kontrolei iš šviesos emisijos kiekio konkretaus alergeno atveju. Pagal išskirtą šviesos kiekį, proporcingą alergenui specifinių IgE klasės antikūnų buvimui, analizatoriuje išskiriamos 4 klasės (6 lentelė) [41, 42, 44].

6 lentelė. IgE antikūnų klasės ir jų vertinimas *CLA-1™* liuminometru.

Klasė	Liuminescenciniai vienetai (LUs)	Nustatytų antikūnų kiekis/ alergenui specifinių IgE koncentracija
4	>242	Labai didelis kiekis
3	143-242	Didelis kiekis
2	66-142	Vidutinis kiekis
1	27-65	Mažas kiekis
0	0-26	Nerasta antikūnų

Šiame tyrime kliniškai svarbiomis laikytos III ir IV klasės, kurios nebuvo skaičiuojamos atskirai dėl nedidelio jų skirtumo ir galimų kryžminių reakcijų, kurių interpretacijai reikalingi išsamesni alergenų komponentų tyrimai.

2.3. Statistinė analizė

Statistinė tyrimo duomenų analizė atlikta taikant kompiuterinės statistikos programų IBM *SPSS-23.0 for Windows* ir *Microsoft Office Excel 2016* paketus. Rezultatai išreikšti procentine verte, skaičiuojant dažnius. Atlikta duomenų aprašomoji analizė. Įvertintos padėties, sklaidos charakteristikos. Normalumo hipotezės tikrintos pagal Shapiro-Wilk Test of Normality – duomenys laikomi pasiskirstę normaliai, kai $p > 0,05$. Hipotezės apie dviejų požymių nepriklausomumą buvo tikrinamos naudojant Chi-kvadrato (χ^2), o kiekybiniam požymiams – Stjudento t kriterijų. Hipotezė apie proporcijų lygybę buvo tikrinama naudojant z kriterijų. Skirtumai tarp požymių tiriamosiose grupėse laikyti statistiškai reikšmingais, kai $p < 0,05$.

3. DARBO REZULTATAI IR APTARIMAS

Padidėjusi triptazės konc. gali būti stebima ne vienos patologinės būklės atveju, o šiame tyrime ji yra padidėjusi tiriamiesiems po anafilaksinių reakcijų (epizodinis padidėjimas), asmenims be gretutinių ligų ir grupei asmenų, kuriems įtariama mastocitozė, t.y. būdingas nuolatinis triptazės konc. padidėjimas.

Tyrimo metu siekta išsiaiškinti, kokiems alergenams sensibilizuoti tiriamieji su padidėjusia triptazės konc. kraujo serumuose. Siekiant nustatyti jų paplitimą, buvo atliekami alergenai spec. IgE tyrimai.

Alergenai spec. IgE nustatymas ir palyginimas tarp grupių gali padėti išsiaiškinti, kurie alergenai yra nustatomi dažniausiai.

3.1. Triptazės, kaip anafilaksijos ir mastocitozės žymens, pokyčių palyginimas tiriamosiose grupėse

Atlikus triptazės konc. reikšmių analizę tarp grupių paaiškėjo, kad pagal *Shapiro-Wilk* testą ir vizualius duomenų pasiskirtymus histogramose, normaliuose Q-Q ir BOX brėžiniuose, dviejų grupių tiriamųjų triptazės konc. reikšmės buvo pasiskirsčiusios normaliai. (7 lentelė).

7 lentelė. Triptazės konc. reikšmių padėties, sklaidos charakteristikos ir normalumo testas tiriamosiose grupėse.

Gr.	Vidurkis+st. nuokrypis ($\mu\text{g/l}$)*	Minimali reikšmė ($\mu\text{g/l}$)	Maksimali reikšmė ($\mu\text{g/l}$)	Normalumas (<i>Shapiro-Wilk</i> testas ir Q-Q ir BOX brėžiniai)
I	70,1 \pm 11,9	30,2	>200	p<0,001
II	37,7 \pm 3,1	20,7	65,7	p=0,103
III	5,2 \pm 0,6	1,4	11,0	p=0,212

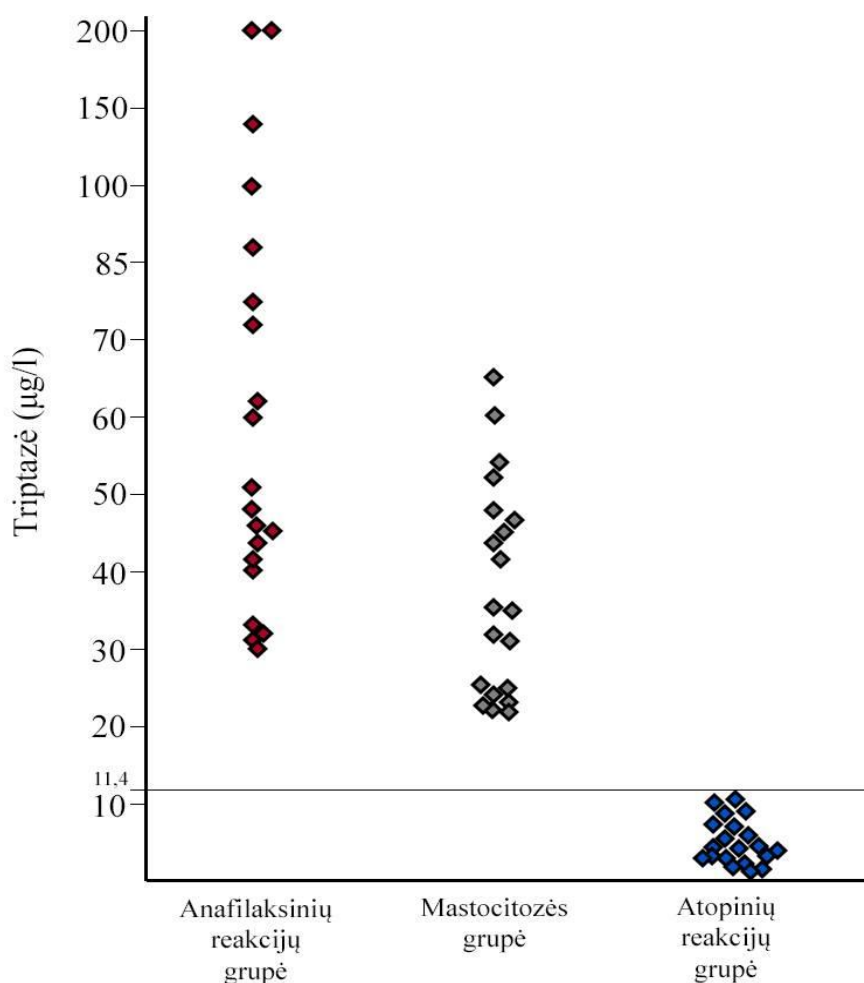
pastaba: I – anafilaksinių reakcijų grupė, II – mastocitozės grupė, III – atopinių reakcijų grupė
**p<0,05, lyginant grupėse*

II ir III grupėse triptazės reikšmės yra pasiskirsčiusios normaliai, priešingai nei I grupės reikšmės (p<0,001). Tai rodo ne tik *Shapiro-Wilk* normalumo testas, tačiau ir standartinis nuokrypis, kuris rodo, kad duomenys labai plačiai pasklidę apie vidurkį. Tokį pasiskirstymą I-oje grupėje lėmė kai kurių pacientų labai didelės triptazės konc. po anafilaksijos (>150 $\mu\text{g/l}$) (7 pav.). Lentelėje matomi akivaizdūs triptazės konc. skirtumai grupėse. *One-way ANOVA* testas parodė, kad triptazės konc. vidurkių reikšmės tarp grupių statistiškai reikšmingai skiriasi (F=23,836,

$p < 0,05$). ANOVA *Post hoc* palyginimu naudojant *Tukey* tikrąjį reikšmingo skirtumo testą nustatyta, kuriose grupėse vidurkiai statistiškai reikšmingai skyrėsi. Triptazės konc. vidurkis yra statistiškai reikšmingai didesnis anafilaksinių reakcijų grupėje ($M=70,1$, $SD=11,9$) lyginant su II-os ($M=37,7$, $SD=3,1$) ir III-os ($M=5,2$, $SD=0,6$) grupės vidurkiais, o II grupės vidurkio reikšmė taip pat statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo III-ios, atopiškų pacientų, grupės rezultatu.

Kiekvienam asmeniui bendrosios triptazės konc. yra individuali ir dažniausiai išlieka stabili per visą gyvenimą, neskaitant tam tikrų ligų ar patologinių būklių [51, 70]. 2015 m. Švedijoje (Uppsala) atliktas *AB Phadia* tyrimas su 104 sveikais asmenimis parodė, kad visų tiriamųjų triptazės konc. vidurkis siekė $3,4 \mu\text{g/l}$. Šio švedų tyrimo duomenys tik parodo, kad triptazės konc. nesant jokios patologinės būklės, susijusios su bazofilų ar mastocitų aktyvacija, bazinės konc. neviršija [50].

Triptazės konc. sklaidos grupėse diagrama parodo, kad anafilaksinių pacientų grupėje statistiškai dažniau išmatuota didesnė triptazės konc. (5 pav.)



5 pav. Triptazės konc. sklaida tiriamosiose grupėse ($\mu\text{g/l}$).

Anafilaksinės reakcijos stiprumas, kuris priklauso nuo mediatorių išsiskyrimo gausumo ir jų sukeltų fiziologinių organizmo pokyčių bei klinikinių požymių, gali būti matuojamas laipsniais, todėl diagramoje triptazės konc. abejose anafilaksines reakcijas patyrusių asmenų grupėse yra išsibarčiusi ir svyruoja plačiame intervale, tuo tarpu atopiškų pacientų grupėje triptazės konc. svyruoja normos ribose.

Remiantis P. Valent atliktais skaičiavimais (2008), triptazės konc. skiriasi ne tik kiekvieno asmens individualiai, tačiau jos skirtumus galima pastebėti ir žinant, kokia mastocitozės forma pacientas serga, pvz. odos mastocitozės atveju esti mažiausia triptazės konc., kuri gali būti netgi normos ribose nesant jokio provokacinio veiksnio, indolentinės (neagresyvios) sisteminės mastocitozės atveju triptazės konc. dažniausiai būna virš normos, o agresyvios sisteminės mastocitozės atveju triptazės konc. būna labai aukšta ir dažnai nustatoma bent jau virš 200 $\mu\text{g/l}$. [86]. Remiantis tokiais rezultatais ir paciento klinika galima lengviau diagnozuoti mastocitozės tipą. Šiame tyrime didžiausia konc. anafilaksinę reakcijų patyrusių ir įtariamai mastocitoze sergančiųjų tarpe buvo 65,7 $\mu\text{g/l}$. Kadangi darbe nebuvo vertinamos įvairios mastocitozės formos, preliminariai remiantis kitų autorių atliktais tyrimais [53] galima spėti, kad didžioji dalis tiriamųjų sirgo indolentine sistetine mastocitoze.

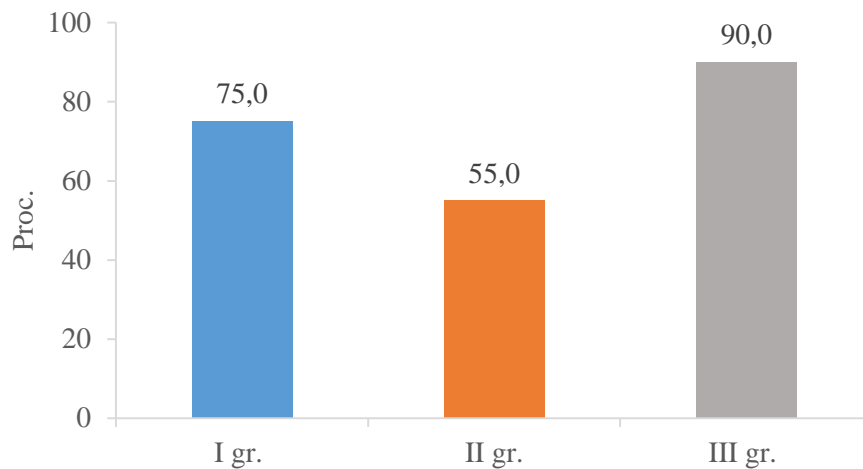
Anafilaksines reakcijas patyrusių pacientų grupėje triptazės konc. buvo reikšmingai didesnė, galimai dėl kelių tiriamųjų, kurių serumo triptazės konc. buvo gerokai didesnės nei kitų, todėl įvertinti, kodėl triptazės sklaida I grupėje buvo didesnė, sunku, nes kiekvienas individualus atvejis yra labai skirtingas ir priklauso nuo daugelio kintamųjų.

Taigi atlikus triptazės aprašomąją analizę ir gautus patvirtinančius rezultatus, kurie reprezentuoja darbo tiriamąsias grupes, svarbu išsiaiškinti, kokiam skaičiui tiriamųjų grupėse buvo nustatyti alergenui spec. IgE. Remiantis WAO ir atliktais klinikiniais eksperimentiniais tyrimais mastocitozė yra anafilaksinių reakcijų rizikos veiksnys, tačiau galbūt yra alergenai, kurie dažniau nustatomi šios ligos pacientų grupėje, todėl lyginant anafilaksines reakcijas patyrusių pacientų kraujo serume nustatytus alergenui spec. IgE, kurie galimai sukėlė anafilaksines reakcijas, galima įvertinti dažniausiai pasitaikančius alergenus ir prognozuoti, kokie alergenai ateityje gali pakartotinai sukelti ūmią, gyvybei pavojingą anafilaksinę reakciją [33].

3.2. Alergenai specifinių IgE paplitimas tiriamosiose grupėse

Ištyrus 3 grupes: 1 gr. – anafilaksinę reakciją patyrusių pacientų, 2 gr. – mastocitoze sergančiųjų pacientų, kurių anamnezėje – anafilaksija, ir 3 gr. – atopiškų pacientų, kliniškai svarbių alergenui spec. IgE kiekiai buvo rasti daugiau nei pusei tiriamųjų lyginamosiose grupėse – 44 (73,3

proc.). Teigiamų reakcijų paplitimas mažiausiai vienam iš 36 paletėje buvusių alergenų statistiškai reikšmingai skyrėsi skirtingose tiriamųjų grupėse ($\chi^2 = 26,250$; $l/s=3$; $p<0,001$) (6 pav.).



*pastaba: I – anafilaksinių reakcijų grupė, II – mastocitozės grupė,
III – atopinių reakcijų grupė*

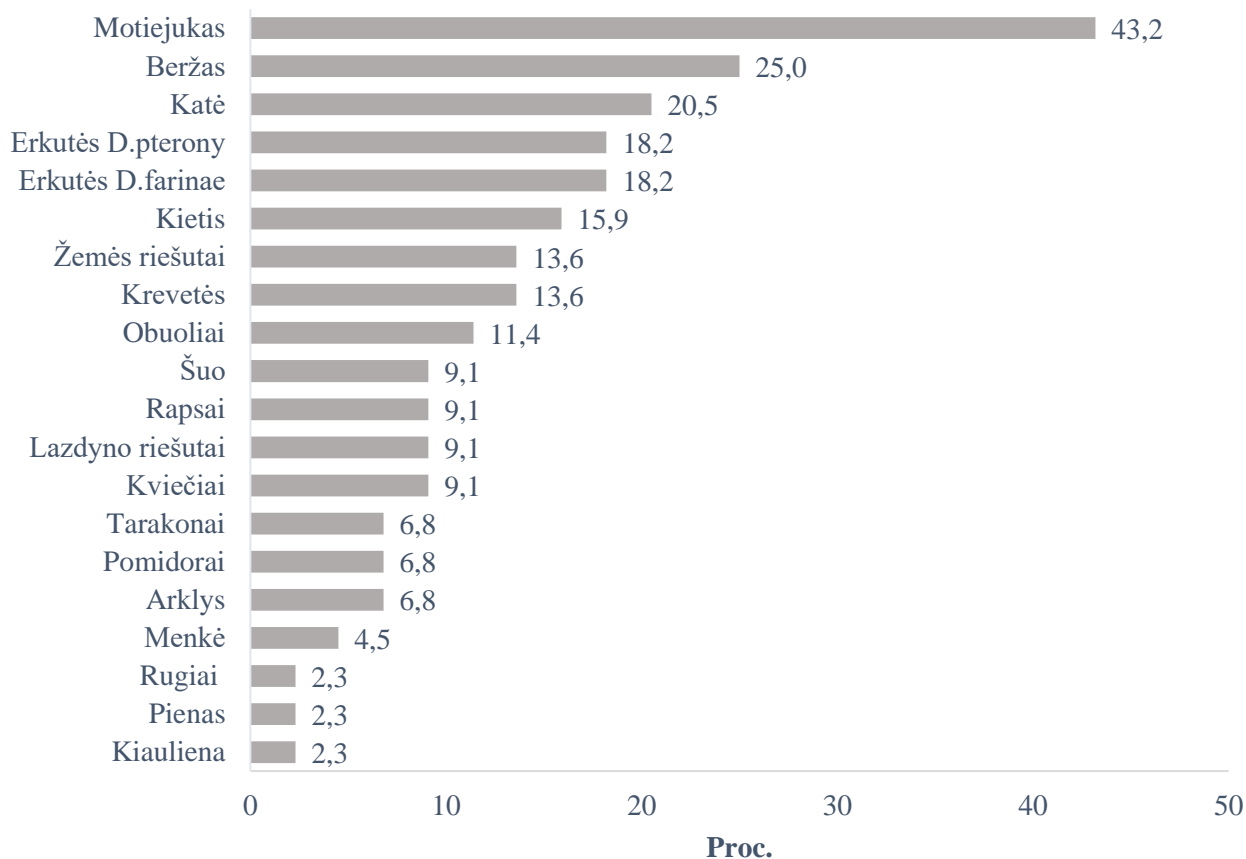
* $p<0,001$, lyginant tarp grupių

6 pav. Alergenai specifinių IgE paplitimas tiriamųjų grupėse (proc.)

I-oje grupėje 15 (75 proc.) asmenų buvo rasti alergenai spec. IgE, II-oje grupėje 11 (55 proc.) asmenų, o III-oje grupėje daugiausiai – 18 (90 proc.) pacientų buvo rasti įvairūs spec. IgE. Įvairių tyrimų duomenimis, sensibilizacijos tam tikriems alergenams nustatymas mastocitoze sergančiųjų pacientų tarpe yra vienodas lyginant su bendrąja populiacija ir svyruoja nuo 31 proc. iki 36 proc. (mastocitoze sergančiųjų pacientų tarpe) [35, 34].

Viena iš galimų priežasčių, dėl ko ne visiems tiriamiesiems grupėse buvo nustatyti alergenai spec. IgE – neįtraukti į tyrimo paletę alergenai, kuriems asmuo galimai yra sensibilizuotas. Literatūros duomenimis, mastocitoze sergantys pacientai dažnai būna sensibilizuoti įvairiems maisto produktams, geliančiųjų vabzdžių nuodams. Pacientai su patvirtinta mastocitozės diagnoze ir alergija vabzdžių nuodams turi ypatingai didelę riziką sisteminės anafilaksinės reakcijos išsivystymui po įgėlimo [66].

Ypatingai didelę reikšmę turi konkrečių alergenų nustatymas ir tikslus jų interpretavimas. Visose grupėse pacientams, kuriems buvo nustatyti alergenai spec. IgE (73,3 proc.), dažniausiai buvo randami 6 įkvepiamieji alergenai, iš kurių didžiąją dalį sudarė motiejukas (43,2 proc.). Antroje vietoje iš dažniausiai nustatytų alergenų – beržas (25,0 proc.) (7 pav.).



7 pav. Bendras įkvepiamųjų ir maisto alergenų dažnis visose tyrimo grupėse (proc.).

Tokią didelį šių įkvepiamųjų alergenų paplitimą galima paaiškinti kryžminėmis reakcijomis, kadangi ir motiejukas, ir beržas turi daug komponentų, panašių į kitų alergenų komponentus, ar netgi jų pačių komponentai panašūs. Beržo žiedadulkės dažnai sukelia kryžmines reakcijas vaisiams, riešutams ir daržovėms. Proteinių šeimos PR-10 alergenai dažniausiai aptinkami augaluose bei jų maisto produktuose. Didžiausia homologija pasižymi su beržo Bet v 1 komponentu. Lazdyno riešutuose PR-10 baltymas yra Cor a 1, žemės riešutuose – Ara h 8, o vaisiuose, pvz. obuolyje – Mal d 1. Šie baltymai yra labai panašūs į pagrindinį beržo žiedadulkių alergeną, todėl yra tikėtinos kryžminės reakcijos tarp įvairių IgE antikūnų PR-10 šeimos alergenams, ypač jei IgE beržui kiekiai serume yra labai dideli [12]. Motiejuko žiedadulkių alergenų kryžminės reakcijos dažniausiai įvyksta kartu su kitomis žolėmis, dažniausiai su rugių žiedadulkėmis. Pagrindiniai motiejuko alergenai yra Phl p 1 ir Phl p 5, kurie gali kryžmiškai reaguoti su įvairių žolių žiedadulkėmis, o polkalcino šeimai ir profilino šeimai priklausančių motiejuko komponentų (atitinkamai Phl p 7 ir Phl p 12) galimas kryžmiškumas ir tarp įvairių medžių ir piktžolių žiedadulkių, kurių komponentai taip pat priklauso toms pačioms šeimoms [12]. Dažniausiai įkvepiamieji alergenai yra atsakingi už lėtines reakcijas atopiškiems pacientams, t.y. alerginis rinitas, atopinis dermatitas ar kt. lėtinės eigos ligos, kurias provokuoja įkvepiamieji

alergenai. Nepaisant to, jei anafilaksiją sukėlęs alergenai yra maisto produktas, o įkvepiamieji alergenai buvo nustatyti tik dėl kryžmiškumo, jų taip pat reikia vengti vienodai kaip ir tikrojo alergeno, todėl kryžminės reakcijos yra kliniškai labai svarbios. Šią interpretaciją galima pritaikyti daugumai tyrime analizuotų alergenų, tačiau tam reikėtų atskiro tyrimo, kuris parodytų, prieš kuriuos komponentus buvo rasti spec. IgE. [49]. Katės epitelis taip pat yra vienas iš dažniausiai nustatytų alergenų. Dažnai žmogus, alergiškas katės epiteliumi, būna alergiškas ir kitiems gyvūnams (šuniui ar arkliui), rečiau mėsai (pvz. kiaulienai), tačiau iš gautų duomenų matoma, kad spec. IgE šuns ir arklio epiteliumi buvo nustatyti rečiau nei katės. Pastarųjų metų tyrimai parodė, kad ne tik gyvūnų epitelio, tačiau ir seilių alergenai yra labai svarbūs asmenų sensibilizacijai ir alergiškumui [12, 32]. Labai dažnai tiriamieji buvo alergiški dulkių erkutėms (po 18,2 proc. abejoms rūšims). Šių dviejų rūšių erkučių komponentai yra panašūs, todėl dažniausiai nustatomi antikūnai abejoms rūšims. Didelis spec. IgE erkutėms nustatymo dažnis galimai susijęs ir su tyrimo metu nustatyta pakankamai dažna sensibilizacija moliuskams krevetėms (13,6 proc.). Pagal kryžmiškumo žemėlapi, tarp šių dviejų alergenų dažnai įvyksta kryžminės reakcijos. Tą patvirtina ir atlikto tyrimo diagrama (7 pav.) Spec. IgE krevetėms buvo nustatyti panašiu dažniu kaip ir erkutėms.

Iš maisto produktų dažniausiai kaip alergenai buvo nustatomi žemės riešutai – jie yra vieni iš dažniausių anafilaksinę reakciją išprovokuojančių alergenų. Labai dažnai alergiškas žemės riešutams asmuo bus alergiškas ir kitiems riešutams bei taip pat ir įvairiems įkvepiamiesiems (jau minėtiems) alergenams. Alergija obuoliams taip pat buvo nustatyta dažnai būtent dėl galimų kryžminių reakcijų su beržu ir įvairiais riešutais, todėl asmuo, alergiškas beržui bei riešutams, labai dažnai alergiškas ir obuoliui. Rečiausiai pasitaikė alergija rugiams, pienui ir kiaulienai, kuri, kaip ir minėta, greičiausiai buvo kryžminės reakcijos pasekmė. Pienui dažniausiai alergiški vaikai ir ši alergija „išaugama“. Alergija menkei, tikėtina, buvo ne kryžminė reakcija. Dažniausiai žuvis yra stiprus provokacinis maisto produktas ūmiai reakcijai išsivystyti [12, 32].

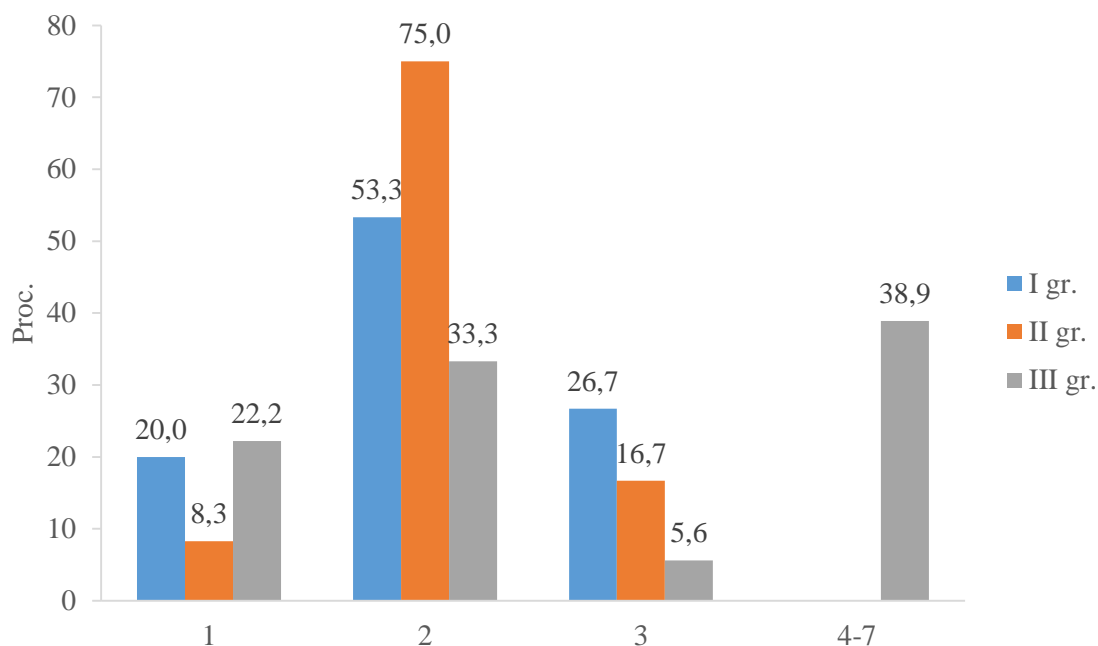
Tyrimų duomenimis, dažniausiai anafilaksinę reakciją sukelia maistas. Asmeniui, kuris alergiškas maistui, anafilaksiją gali sukelti labai maži jo kiekiai, pvz. 2 mg žemės riešutų arba 6 – 12 mg lazdyno riešutų ar 4 g krevečių [65].

Įvairių šaltinių duomenimis, maisto produktai yra dažniausia (16-18 proc. visų alergenų) anafilaksijos priežastis. Taip pat ir šios ūmios reakcijos kartojimosi priežastis. Skubios pagalbos padaliniuose maisto anafilaksija sudaro $\frac{1}{2}$ - $\frac{1}{3}$ visų anafilaksijų [65], o įkvepiamieji alergenai dažniau sukelia lėtines reakcijas atopiškiems pacientams. Asmuo gali būti sensibilizuotas daugeliui įkvepiamųjų alergenų, tačiau ūmią reakciją greičiausiai sukels tam tikras maisto produktas. Didesnį dėmesį skirti reikėtų ne vien maisto produktams, prieš kuriuos buvo rasti spec. IgE, tačiau ir įkvepiamiesiems alergenams, būtent dėl minėtų kryžminių reakcijų: jei asmuo

alergiškas motiejukui (tam tikram jo baltymui - komponentui), reakcija gali įvykti ir su kitu tai pačiai baltymų grupei priklausančiu baltymu [49]. Remiantis tokiais rezultatais ir įvairiomis galimomis kryžminėmis reakcijomis įprastiniai alergijų tam tikriems alergenams testai yra nepilnavertiški, nes neatskleidžia tikrojo alergeno, o parodo tik sensibilizaciją, todėl prognozuoti ir nuspėti galimos ūmios reakcijos stiprumą yra labai sudėtinga, kadangi baltymo (alergeno) stabilumas priklauso nuo išorės veiksnių, pvz. alergenas, kuris išlieka stabilus karščiui ir virškinimui, yra labiau linkęs sukelti ūmią reakciją, priešingai nei karščiui ir virškinimo fermentams labilūs alergenai, kurie organizmo gali būti lengvai toleruojami (tolerogenai) arba sukelti nežymias vietines reakcijas. Tokiu atveju laboratorinėje diagnostikoje rekomenduojama turėti komponentus nustatančias diagnostines priemones ir gerosios praktikos patvirtintą metodologiją.

3.3. Alergenai specifinių IgE paplitimo ir triptazės koncentracijos padidėjimo grupėse sąsajos

Atsižvelgiant į tai, kad šio darbo tikslas yra įvertinti alergenai spec. IgE paplitimą grupėse, priklausomose nuo padidėjusios triptazės konc., buvo atlikta išsamesnė alergenų paplitimo analizė grupėse. Analizuoti alergenų kiekio tarp grupių, alergenų grupių (įkvepiamųjų ir maisto) ir galiausiai pačių atskirų alergenų skirtumai tarp anafilaksinę reakciją patyrusių pacientų grupių, pasižyminčių skirtinga triptazės konc. Alergenai specifinių IgE nustatymas tarp grupių parodė, kad dauguma pacientų grupėse buvo sensibilizuoti daugiau nei vienam alergenai. Atopiškų pacientų grupėje buvo nustatyta statistiškai reikšmingai daugiau įvairių alergenai spec. IgE, tenkančių vienam asmeniui, nei kitose tiriamųjų grupėse. Dažniausiai grupėse buvo nustatyta sensibilizacija 2 skirtingiems alergenams ($\chi^2 = 16,168$, $lls=6$, $p<0,05$) (8 pav.).



*pastaba: I – anafilaksinių reakcijų grupė, II – mastocitozės grupė,
III – atopinių reakcijų grupė*

* $p < 0,05$, lyginant tarp grupių

8 pav. Tiriamųjų pasiskirstymas pagal nustatytą alergenų skaičių vienam asmeniui (proc.)

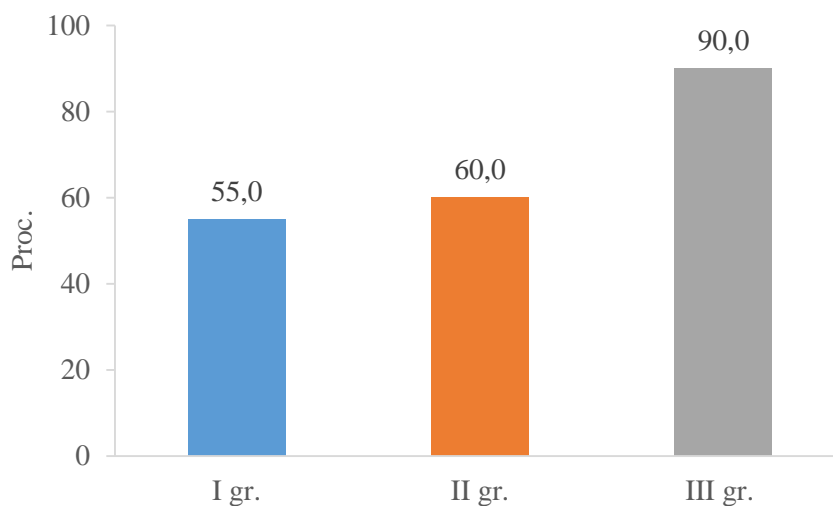
Remiantis gautais rezultatais, tiriamųjų sensibilizacija alergenams tarp grupių reikšmingai skiriasi. Anafilaksiją patyrusiems pacientams abeiose grupėse nebuvo nustatyta alergija daugiau nei 3 alergenams, priešingai nei atopiškų pacientų grupėje, kurioje alergiški 4-7 alergenams buvo 38,9 proc. tiriamųjų. Dažniausiai anafilaksiją patyrę pacientai abeiose grupėse buvo alergiški 2 alergenams, atitinkamai 53,3 proc. anafilaksinių reakcijų grupėje bei 75,0 proc. mastocitozės grupėje. T. Gulen ir kolegų Švedijoje, Stokholme (Karolinska Institutet), 2013 m. atlikto tyrimo rezultatai parodė, kad dauguma anafilaksiją patyrusių pacientų buvo sensibilizuoti daugiau nei vienam alergenai. Mokslininkų teigimu, viena iš galimų polisensibilizacijos priežasčių yra pasikartojančios anafilaksinės reakcijos, kurios didina pacientų sensibilizaciją alergenams. Tikėtina, kad kuo daugiau anafilaksinių epizodų, tuo daugiau spec. IgE bus nustatyta [40].

Kliniškai svarbu nustatyti pagrindinį alergeną, kuris sukėlė anafilaksinę reakciją, tačiau gauti rezultatai parodė, kad I grupėje tik 20 proc., o II grupėje tik 8,3 proc. tiriamųjų buvo nustatytas vienas alergenai, kuris potencialiai sukėlė ūminę sistemine reakciją pacientams. Tiriamiesiems, kuriems buvo nustatytas vienas anafilaksiją sukėlęs alergenai, buvo rasti spec. IgE žemės ir lazdyno riešutams, taip pat pirmoje grupėje papildomai buvo rasti IgE menkei, o II grupėje – IgE kviečiams. Remiantis šiais duomenimis galima daryti išvadą, kad teorija atsispindėjo ir šiame tyrime, kadangi riešutai yra vieni iš dažniausiai ūmias reakcijas sukeliančių alergenų.

Nepaisant to, kad potencialus alergenai identifikuoti, turi būti atlikta išsami ligos istorijos analizė, kuri koreliuotų su gautais rezultatais. Ypatingas dėmesys turėtų būti skiriamas anafilaksiją patyrusiems mastocitoze sergantiems tiriamiesiems. Nors ir nepatyrę anafilaksijos, atopiški asmenys, kuriems buvo rasta spec. IgE daugiau nei 2 alergenams, turėtų būti stebimi ir vertinami dėl jų ypatingai didelio sensibilizacijos laipsnio, kadangi tai svarbi profilaktinė priemonė norint ateityje išvengti ūmių organizmo reakcijų [33].

Iš visų paletėje buvusiųjų 36 alergenų rinkinio, 16-ai alergenų nebuvo rasti spec. IgE (dilgėlei, pelėsinų grybelių mišiniam (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*), lateksui, vištienai, miežiams, mielėms, apelsinui, jautienai, sojos pupelėms, žirneliams, kiaušinio baltymui ir vištų plunksnoms). O iš tų, kuriems grupėse buvo rasti specifiniai IgE, po lygiai sudarė tiek įkvepiamieji, tiek maisto alergenai (po 10). Vertinant alergenų svarbą tai, kad kai kurie maisto alergenai gali būti traktuojami kaip įkvepiamieji: jei žmogus yra labai alergiškas tam tikram maisto produktui, nepageidaujama reakcija gali sukelti ir jo įkvėpimas per kvėpavimo takus, pvz. žemės riešutų atveju. Tuo tarpu kai kurie augalai yra potencialiai labai pavojingi ne tik kaip įkvepiamieji alergenai (žiedadulkės), bet ir kaip maisto produktai, pvz. rapsų sėklos ar ruginė duona. Alergenų sugrupavimas į maisto ar įkvepiamuosius alergenų paimtas tuo, kaip dažnai tas alergenai iššaukia reakciją būdamas kaip įkvepiamasis ar maisto alergenai. Pastarojoje analizėje tokie dviprasmiški alergenai, kaip minėti, pvz. rugiai, kviečiai, buvo maisto, o rapsas – įkvepiamasis alergenai.

Atlikus duomenų analizę paaiškėjo, kad iš visų, alergiškų bent vienam alergenui tiriamųjų (73,3 proc.), didžiąją dalį nustatytų alergenų sudarė įkvepiamieji (84,1 proc.), tuo tarpu maisto alergenai beveik 20 proc. mažiau - 65,9 proc. Šiek tiek daugiau nei pusei tiriamųjų (52,3 proc.) buvo randami spec. IgE tiek įkvepiamiesiems, tiek maisto alergenams. Atlikus skirtingų alergenų tipų pasiskirstymą tarp tyrimo grupių paaiškėjo, kad spec. IgE įkvepiamiesiems alergenams statistiškai reikšmingai daugiau buvo nustatyta atopiškų pacientų grupėje ($\chi^2 = 11,140$, $df=2$, $p<0,05$) (9 pav.).



*pastaba: I – anafilaksinių reakcijų grupė, II – mastocitozės grupė,
III – atopinių reakcijų grupė*

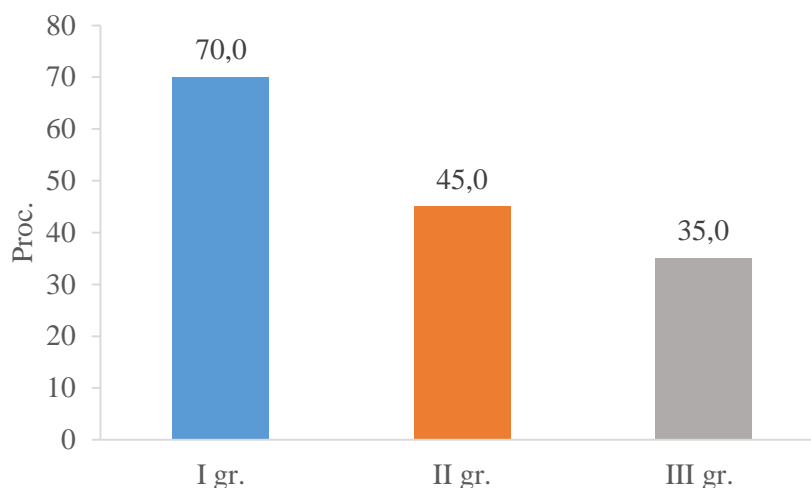
* $p < 0,05$, lyginant tarp grupių

9 pav. Įkvepiamiesiems alergenams nustatytų spec. IgE pasiskirstymas tarp grupių (proc.)

Duomenys rodo, kad anafilaksines reakcijas patyrusiųjų tiriamųjų grupėse įkvepiamieji alergenai buvo nustatyti reikšmingai mažiau. Jau minėtas T. Gulen ir kolegų tyrimas taip pat parodė, kad iš 32 anafilaksiją patyrusių mastocitoze sergančių pacientų, 72 proc. buvo sensibilizuoti įkvepiamiesiems alergenams (žiedadulkėms, gyvūnams ir dulkių erkutėms).

Sąsajas su padidėjusia triptazės koncentracija įvertinti būtų sunku dėl to, kad iš anafilaksines reakcijas patyrusių pacientų abejuose grupėse nėra aišku, kiek jų yra atopiški, t.y. jau turi polinkį tam tikroms alergijoms. Pasatarojo švedų tyrimo metu tyrimo rengėjai iš 32 SM sergančių pacientų, patyrusių anafilaksiją, 42 proc. buvo nustatyta tam tikra atopinė liga: 8 proc. – astma, 11 proc. – rinitas ir 3 proc. – abi atopinės ligos, tačiau verta paminėti, kad šie gauti skaičiai nesiskyrė nuo sveikų švedų populiacijos, kurioje šios atopinės ligos vyravo panašiu procentu.

Anafilaksinę reakciją dažniausiai išprovokuoja maisto alergenai. Šį teiginį galima būtų patvirtinti ir remiantis šio tyrimo rezultatais. Maisto alergenų pasiskirstymas tarp grupių buvo taip pat statistiškai reikšmingas ($\chi^2 = 6,340$, $lls = 2$, $p < 0,05$) (10 pav.).



*pastaba: I – anafilaksinių reakcijų grupė, II – mastocitozės grupė,
III – atopinių reakcijų grupė*

**p<0,05, lyginant tarp grupių*

10 pav. Maisto alergenams nustatytų spec. IgE pasiskirstymas tarp grupių (proc.)

I grupėje dominuoja būtent maisto alergenai (70 proc.). II grupės tiriamiesiems spec. IgE tiek įkvepiamiesiems, tiek maisto alergenams buvo nustatyti labai panašiu dažniu (atitinkamai 60 proc. ir 45 proc.). Nors maisto alergenams spec. IgE buvo rasta mažiau, remiantis anafilaksiją patyrusių pacientų grupe ir literatūros šaltiniais galima teigti, kad didesnę dėmesį reikėtų skirti į maisto alergenų ir akcentuoti tai tyrimo rizikos grupėse esantiems pacientams. T. Gulen ir kolegų tyrime iš visų 36 tiriamųjų tik 8,3 proc. anafilaksinę reakciją sukėlė maistas – įvairūs moliuskai (krevetės), tačiau tokia išvada buvo padaryta remiantis išsamiais tyrimais ir ligonio ligos istorija [40]. Šiame darbe mes nustatėme sensibilizaciją tam tikriems alergenams, tačiau tikslaus anafilaksinę reakciją sukėlusio veiksnio nežinome, todėl negalima atmesti ir to, kad spec. IgE radimas maisto alergenams taip pat tam tikru procentu galėjo būti ir kryžminės reakcijos pasekmė. To paties autoriaus darbe net 39 proc. anafilaksinių reakcijų mastocitoze sergantiems pacientams sukėlusio veiksnio nepavyko identifikuoti, o daugiau kaip pusei tiriamųjų (53 proc.) gyvybei pavojingą reakciją iššaukė geliantys vabzdžiai (plėviasparniai), kuriems sensibilizacija taip pat neretai gali būti ir nenustatoma dėl spec. IgE susijungimo prie didelio afiniškumo gausaus skaičiaus mastocitų. Tokiu atveju nesijungusių su mastocitais alergenų spec. IgE kiekis kraujyje gali būti labai nedidelis, nes didžioji dalis gali būti fiksuota mastocitų membranose [18, 40].

Nustačius šiuos skirtumus tarp grupių, buvo atlikta visų 20-ies alergenų, kuriems buvo nustatyti alergenų spec. IgE, paplitimo tarp grupių analizė. Ši detali analizė parodė, kad statistiškai reikšmingai tarp grupių skyrėsi tik 6-ių skirtingų alergenų paplitimas (8 lentelė).

8 lentelė. Atskiriems alergenams spec. IgE paplitimas grupėse (proc).

<i>Alergenas</i>	<i>Anafilaksinę reakciją patyrę asmenys</i>	<i>Mastocitoze sergantys asmenys</i>	<i>Atopiški asmenys</i>
<i>Kietis</i>	20,0	9,1	16,7
<i>Rapsas</i>	6,7	9,1	11,1
<i>Beržas</i>	13,3	36,4	27,8
<i>Tarakonai</i>	0	9,1	11,1
<i>Motiejukas</i>	40,0	27,3	55,6
<i>Rugiai</i>	0	9,1	0
<i>Obuolys</i>	20,0	9,1	5,6
<i>Kviečiai*</i>	6,7	27,3	0
<i>Menkė</i>	6,7	0	5,6
<i>Kiauliena</i>	0	0	5,6
<i>Pomidoras</i>	13,3	0	5,6
<i>Krevetės</i>	6,7	9,1	22,2
<i>Pienas</i>	0	0	5,6
<i>Lazdyno riešutai*</i>	20,0	18,2	0
<i>Žemės riešutai*</i>	26,7	27,3	0
<i>Šuo</i>	0	9,1	16,7
<i>Arklys</i>	0	0	16,7
<i>Katė</i>	13,3	9,1	33,3
<i>Erkutės D.Pterony*</i>	6,7	0	38,9
<i>Erkutės D.Farinae*</i>	6,7	0	38,9

* $p < 0,05$, lyginant tarp grupių

Literatūroje aprašomi dažniausiai anafilaksiją sukeliantys alergenai ir šiame tyrime gauti tyrimo rezultatai neprieštarauja vienas kito atžvilgiu, tačiau ir nėra pakankamai patikimi. Minėti dažniausiai anafilaksiją sukeliantys maisto produktai, t.y. žemės ir medžių riešutai ir žuvis, buvo nustatyti ir šio tyrimo pacientams. Svarbūs spec. IgE žemės ir lazdyno riešutams reikšmingai dažniau (atitinkamai $\chi^2 = 5,765$, lls=2, $p < 0,05$ ir $\chi^2 = 7,926$, lls=2, $p < 0,05$) buvo nustatyti pirmoms

dvejoms grupėms, todėl galima teigti, kad riešutai yra labai agresyvus alergenai. Kviečiams taip pat dažniau spec. IgE buvo rasti mastocitoze sergančių pacientų grupėje ($\chi^2 = 6,307$, $lks=2$, $p<0,05$). Kviečiai nėra dažnai nustatomas alergenai anafilaksinė reakcija atveju, tačiau, remiantis kryžminių reakcijų žemėlapiu, kviečiai gali turėti kryžminių reakcijų [50]. Kviečių komponentas Tri a 14 priklauso lipidų pernešimo baltymų grupei (*LTP*). Tai pačiai grupei baltymų priklauso ir vieni iš žemės riešutų (*Ara h 9*) bei lazdyno riešutų (*Cor a 8*) komponentų [43, 50]. Šios alergenų (baltymų) grupės yra atsparios kaitinimui ir virškinimui, o tai reiškia, kad jie yra susiję su sistemineis ūmiomis reakcijomis. Remiantis tuo, tyrime rasti kviečiams spec. IgE, tikėtina, buvo rasti būtent dėl minėtos priežasties. K. Brockow atlikto tyrimo su 120 mastocitoze sergančių pacientų išvados atskleidė, kad tik maistas, kaip alergenai, nekoreliuoja su anafilaksinėmis reakcijomis mastocitozės atveju ir gali sukelti tik lengvas, ne sisteminės reakcijas. Anafilaksinę reakciją mastocitoze sergantiems pacientams dažniausiai sukelia tam tikrų provokacinių veiksnių grupė, pvz. pastarojo tyrimo rezultatai parodė, kad asmenims, kuriems buvo nustatytos įvairaus intensyvumo reakcijos maistui, nustatytas priežastinis ryšys su pacientų vartojamu alkoholiu ir vaistais (aspirinu) [20].

Nepaisant to, kad vieni iš dažniausiai ūmių anafilaksines reakcijas sukeliančių alergenų yra riešutai ar kviečiai, kitų tyrimų duomenimis mastocitoze sergantiems pacientams šie alergenai nėra esminiai. K. Brockow ir kolegų atlikto tyrimo su 120 mastocitoze sergančių pacientų rezultatai atskleidė, kad anafilaksinę reakciją (III stiprio - labai ūmią pagal Ring ir Messmer) dažniausiai sukėlė geliančių vabzdžių nuodai (27 proc.), tuo tarpu maistas (II stiprio reakciją pagal Ring ir Messmer) – 24 proc., iš kurių dažniausiai buvo alkoholiniai gėrimai bei žuvis, o kitiems dažniausiai aptinkamiems alergenams nebuvo rasta spec. IgE. Verta paminėti, kad 20 proc. pacientų nebuvo rasta jokios ūmios reakcijos priežasties, o 26 proc. anafilaksinę reakciją iššaukė keletas veiksnių [20]. Tuo tarpu vokiečių prof. M. Worn ir kolegų 2014 m. atlikto tyrimo su 4000 anafilaksinė atveju (be mastocitozės) dėka paaiškėjo, kad kviečiai buvo rasti kaip viena iš jos priežasčių suaugusiųjų tarpe kartu su moliuskais, o bendrai maisto sukeltos anafilaksijos sudarė 25,1 proc. [96, 97].

Labai mažai tikėtina, kad šiame tyrime nustatyti alergenai spec. IgE vieni iššauktų anafilaksinę reakciją, ypač dėl to, kad įkvepiamieji alergenai nėra anafilaksinė reakcijų veiksniai, jie tik prisideda prie šios reakcijos išsivystymo, o maisto alergenų nustatyta mažai, ypač tų, kurie yra potencialiai labai pavojingi. Įkvepiamųjų alergenų – katės epitelio, abiejų rūšių erkučių statistiškai reikšmingai daugiau (atitinkamai: katės epiteliumi: $\chi^2 = 6,195$, $lks=2$, $p<0,05$, *Dermatophagoides pterony et D. farinae* - $\chi^2 = 8,970$, $lks=2$, $p<0,05$) nustatyta atopiškų pacientų grupėje, kurioje triptazės konc. buvo normos ribose.

Jau minėtas T. Gulen ir kolegų tyrimas taip pat parodė, kad iš 32 anafilaksiją patyrusių mastocitoze sergančių pacientų, 70 proc. buvo nustatyta alergija žiedadulkėms (beržo, įvairių žolių, kiečio), o 57 proc. alergija gyvūnų kailiukui (katei, šuniui ir arkliui).

Įvertinus 8 lentelę, matosi, kad atopiški asmenys buvo sensibilizuoti dažniausiai įkvepiamiems alergenams, tačiau mastocitoze sergančių asmenų kraujo serume spec. IgE šiems alergenams nebuvo nustatyta dažniau nei pastarajai grupei. Mastocitoze sergančių pacientų tarpe reakcijos simptomai gali būti rimtesni ir sunkiau kontroliuojami, kai tarpusavyje susijusios kelios būklės – atopija ir hematologinė liga [21].

Ūminę anafilaksinę reakciją gali sukelti ne vienas alergenai, o alergenų grupė, ypač mastocitozės atveju. 2008 m. vokiečių gydytojų atlikti tyrimai su 120 mastocitoze sergančių tiriamųjų, iš kurių 74 buvo suaugusieji, o likusieji – vaikai, parodė, kad 26 proc. suaugusiųjų, sergančių mastocitoze, ūmios reakcijos buvo išprovokuotos kelių veiksnių (angl. *triggers*), įskaitant ne tik geliančių vabzdžių nuodus, maistą ir vaistus, tačiau ir temperatūrą, alkoholį bei fizinį aktyvumą. Remiantis šiais rezultatais, ūmių reakcijų mastocitoze sergančių pacientų tarpe vertinimui turėtų būti pasitelkta pilnavertiška bei išsami paciento ligos istorija. Alergenų, galimai sukėlusiu anafilaksinę reakciją, nustatymas neturėtų būti patvirtinamas, kol jis nekoreliuoja su paciento ligos istorija [17]. Pastaraisiais metais atlikti tyrimai kontrargumentuoja pakankamai seniai suformuluotą moksliniais tyrimais paremtą hipotezę, kad didelė triptazės konc. mastocitoze sergančių pacientų tarpe didina anafilaksinių reakcijų riziką. 2013 m. van Androoij ir kt. rezultatai buvo prieštaringi: duomenys parodė, kad po plėviasparnių nuodų sukeltų anafilaksinių reakcijų 329 mastocitoze sergančiam asmeniui, didėjant putliųjų ląstelių skaičiui iki tam tikro kiekio, anafilaksinių reakcijų rizika taip pat didėjo, tačiau pasiekus tam tikrą tašką, rizika ėmė mažėti, nors mastocitų kiekis toliau augo. Daugiamatė logistinė regresija parodė, kad triptazės ir histamino kiekis yra nepriklausomas prognostinis žymuo, susijęs su mažesne anafilaksinių reakcijų plėviasparnių nuodams rizika [7, 8]. Šio tyrimo išvados atskleidė, kad ideologija, kad kuo didesnė triptazės konc., tuo didesnė anafilaksinių reakcijų rizika, galimai ne visuomet yra teisinga.

Išsamus spec. IgE nustatymas visiems, tam tikrai populiacijai būdingiausiems, alergenams yra labai svarbus, ypač toms rizikos grupėms, kurie turi genetiškai nulemtą polinkį alergijoms, ypač kai daugiau nei pusei (53 proc.) mastocitoze sergančiųjų anafilaksinė reakcija yra labai ūmi ir stipri [20]. Atlikto tyrimo rezultatai leidžia daryti išvadą, kad kiekvieno individo triptazės konc. ir sensibilizacija tam tikriems alergenams yra labai įvairi ir skirtinga, todėl kiekvienas pacientas turėtų būti tiriamas individualiai, atliekant išsamius triptazės konc., alergenų spec. IgE bei kitų provokuojančių veiksnių tyrimus.

Remiantis gautais rezultatais tikėtasi parengti rekomendacijas, kurių dėka būtų galima pacientams tikslingai skirti ne tik laboratorinius tyrimus, bet ir sudaryti gydymo bei profilaktikos planą norint išvengti sisteminių, sveikatą žalojančių ir gyvybei pavojingų reakcijų.

3.4. Praktinės rekomendacijos

Anafilaksinių reakcijų sukėlėjui išsiaiškinti svarbus labiausiai tikėtinų alergenų parinkimas tyrimui. Atlikto tyrimo metu analizavome alergenus, kuriems Lietuvos populiacija yra dažniausiai sensibilizuota. Siekiant darbo tikslo, nustatėme ir radome alergeniui spec. IgE ne tik anafilaksinę reakciją patyrusių asmenų, kurie neserga mastocitoze, tarpe, bet ir tiems, kurie šie hematologine liga serga, todėl mūsų tikslas iš dalies buvo pasiektas, nepaisant to, kad ne visiems tiriamiesiems buvo rasti nors vienam alergeniui spec. IgE. Kaip tyrimo trūkumą išvelgiame plėviasparnių vabzdžių bei vaistų alergenų neįtraukimą į tyrimą. Atliekant analizę metodika, kuria mes vadovavomės, vabzdžių nuodų alergenų paletėse nebuvo, o tirti pacientus atskirai naudojant kitą metodiką ir laboratorinius metodus nebuvo galimybės. Literatūros šaltiniuose aprašoma, kad tarp vienu iš dažniausiai anafilaksinę reakciją sukeliančių alergenų yra būtent minėti alergenai, todėl rekomenduotina identifikuojant anafilaksinę reakciją sukėlusį alergeną atkreipti ypatingą dėmesį į geliančių vabzdžių nuodus. Atlikto tyrimo metu asmenims, kuriems nebuvo rasti jokie alergenai spec. IgE (25 proc. anafilaksinę reakciją patyrusiųjų ir 45 proc. anafilaksinę reakciją patyrusių bei mastocitoze sergančiųjų), būtų tikslinga tolesnė analizė ir laboratoriniai tyrimai. Rekomenduotina iširti galimai jų kraujo serume esančius IgE prieš plėviasparnių vabzdžių nuodus.

Alergenų, sukėlusių ūmias reakcijas, identifikavimas yra kompleksinis tyrimas, ypatingai tuomet, kai asmenys yra rizikos grupėse, pvz. šio tyrimo mastocitoze sergančiųjų grupė reikalauja išsamesnės analizės, kadangi ūmias į alergiją panašias reakcijas gali sukelti ne tik spec. IgE, tačiau ir kiti, ne nuo IgE priklausantys įvairūs egzogeniniai ar endogeniniai veiksniai, į kuriuos, nerandant alergenai spec. IgE, reikia atkreipti dėmesį.

IŠVADOS

1. Sergančiųjų mastocitoze bei patyrusių anafilaksinę reakciją pacientų grupėse triptazės koncentracija statistiškai reikšmingai didesnė nei atopiškų pacientų grupėje; didžiausia triptazės koncentracija - anafilaksinės reakcijos pacientų grupėje.
2. Nustatytas specifinių alergenui IgE paplitimas:
 - a) specifiniai alergenui IgE buvo rasti 73,0 proc. tiriamųjų; iš jų: 90,0 proc. - atopiškų ligonių grupėje, 75,0 proc. - anafilaksinės reakcijos ir 55,0 proc. - mastocitozės grupėje.
 - b) dažniausiai aptikti specifiniai IgE alergenams:
 - įkvepiamiesiems: motiejukui (43,2 proc.), beržui (25,0 proc.), katės epiteliumiui (20,5 proc.), dulkių erkutėms (*D. pterony* ir *D. Farinae*) (po 18,2 proc.) ir kiečiui (15,9 proc.);
 - maisto alergenams: žemės riešutams ir krevetėms (po 13,6 proc.).Rečiausiai spec. IgE buvo nustatyti rugiams, pienui ir kiaulienai.
3. Alergenai spec. IgE paplitimo skirtumai tiriamųjų grupėse:
 - a) dažniausiai sensibilizacija nustatyta 2 skirtingiems alergenams, kurių dažnis grupėse statistiškai reikšmingai skyrėsi: anafilaksinės reakcijos gr. – 53,3 proc., mastocitozės gr. – 75,0 proc., atopiškų pacientų grupėje gr.– 33,3 proc. Atopiškų pacientų grupėje statistiškai reikšmingai daugiau pacientų (38,9 proc.) buvo alergiški 4-7 alergenams.
 - b) atopiškų pacientų grupėje statistiškai reikšmingai dažniau buvo nustatyta spec. IgE įkvepiamiesiems alergenams (90,0 proc.), o spec. IgE maisto alergenams – I grupėje (70,0 proc.).
 - c) statistiškai reikšmingai tarp grupių skyrėsi šių spec. alergenui IgE paplitimas:
 - spec. IgE žemės ir lazdyno riešutams reikšmingai dažniau buvo nustatyti anafilaksijos ir mastocitozės grupėse;
 - spec. IgE kviečiams dažniausiai buvo aptikti mastocitoze sergančių pacientų grupėje;
 - spec. IgE įkvepiamiesiems alergenams – katės epitelio, dulkių erkučių - statistiškai reikšmingai dažniau nustatyti atopiškų pacientų grupėje.

Apibendrinanti išvada:

Remiantis atlikto tyrimo rezultatais galima teigti, kad nėra didelio ryšio tarp alergenui spec. ir padidėjusios triptazės konc., t.y. didelių skirtumų tarp alergenui spec. IgE paplitimo anafilaksinę

reakciją patyrusių pacientų tarpe nebuvo rasta, tačiau tyrimo praktinė reikšmė būtų kliniškai labai svarbi, jei būtų atsižvelgiama į papildomus veiksnius, kurių analizei reikėtų atlikti išsamesnius, daugiau informacijos suteikiančius alergenų komponentų tyrimus visiems tyrime dalyvavusiems asmenims.

SUMMARY

The Association Between Elevated Tryptase Levels and Prevalence of Allergen-Specific IgE in Anaphylactic Reactions

Aim of the work. To evaluate the link between increased tryptase levels and prevalence of allergen specific IgE in the case of anaphylaxis. **The objectives** of the work were to evaluate changes of tryptase and allergen specific IgE prevalence among the subject groups and to assess the links between allergen specific IgE prevalence and increased tryptase concentration.

Methods. Venous blood serum samples from Vilnius University Hospital Santariškių klinikos patients (N=60) were studied between September 2014 and April 2016. The subjects were grouped according to tryptase levels: 1) anaphylaxis group, 2) mastocytosis group, 3) atopic group. Allergen specific IgE assay was carried out by immunoblot.

Results. Tryptase levels were statistically significantly higher among mastocytosis and anaphylaxis patients when compared to atopic patients with the highest concentration found in the anaphylaxis group. Allergen specific IgE were found in 73% of cases overall, with the incidence being 90% in atopic group, 75% in anaphylaxis group and 55% in mastocytosis group. The most common inhalant allergen specific IgE were against timothy grass (43.2%), birch (25%), cat epithelium (20.5%), dust mite (18.2% of each) and mugwort (15,9%) while specific IgE against peanuts and shrimp (13.6% of each) were the most common among food allergens. Specific IgE against rye, milk and pork were the least common. Sensibilisation to two different allergens was the most common with a statistically significant difference among the groups: 53,3% in anaphylaxis group, 75% in mastocytosis group and 33,3% in atopic group. Statistically significantly more atopic patients (38,9%) were allergic to 4-7 allergens. More frequently specific IgE against inhalant allergens were found in the atopic group (90%), while more specific IgE against food allergens were found in the anaphylaxis group (70%). Statistically significantly more frequent specific IgE were found against peanuts and hazelnuts – groups I and II, against wheat – group II, against cat epithelium and dust mite – group III.

Summarizing conclusion. Based on the results of the study it can be concluded that there is no strong link between allergen specific IgE and increased tryptase concentration, i.e. no large differences were found in the prevalence of allergen specific IgE among patients who had suffered from anaphylaxis. The practical significance of the study would be of high importance clinically if additional factors were considered, although their analysis would require more in-depth allergen component studies.

Keywords: anaphylaxis, allergens, tryptase, immunoblot, allergen specific IgE, mastocytosis, atopy, allergen components.

PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju VU MF Fiziologijos, biochemijos ir laboratorinės medicinos katedros dr. Loretai Bagdonaitei už nuolatinę pagalbą viso baigiamojo darbo metu, VUL SK LMC klinikinės imunologijos laboratorijos darbuotojoms už pagalbą renkant mėginius ir UAB „Imunodiagnostika“ laboratorijos direktorei Astai Miškinienei už bendradarbiavimą praktinės darbo dalies atlikimo metu.

LITERATŪROS ŠALTINIAI

1. Abbas A, Lichtman A, Pober J. Cellular and molecular immunology. Philadelphia; London; Toronto; Montre; Sydney; Tokyo: W. B. Saunders Company, 1991.- 170–417.
2. Adomaitienė D., Janulevičiūtė N., Kazakevičius R., Vaičiuvėnas V. Klinikinės imunologijos įvadas. Kaunas, Lietuva, 2001. - 14, 18, 22-25, 40-46, 76-77, 112-116, 165-178, 179- 194, 258-265.
3. Akdis CA. Allergy and hypersensitivity mechanisms of allergic disease, 2006.26-718.
4. Alberts B., Johnson A., Lewis J. et al. "Lymphocytes and the Cellular Basis of Adaptive Immunity. Molecular Biology of the Cell. 4th edition. New York, USA, 2002.
5. Allergy associates, inc. Inhalant allergens. <http://www.allergyassociatesinc.com/inhalant-allergens/> Up to date.
6. Amaresekera M. . Immunoglobulin E in health and disease. Asia Pacific Allergy. 2011.- 12–15.
7. American Academy of Allergy Asthma and Immunology. High tryptase levels lower the risk for anaphylaxis in mastocytosis, 2013.
8. American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. Anaphylaxis overview.
9. American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. <https://www.aaaai.org/conditions-and-treatments/conditions-dictionary/atopy.aspx>
10. Andersen Ch. L., Kristensen T. K. et al. "Systemic mastocytosis – a systematic review." Danish medical journal, 2012.
11. Arock M., Valent P. Pathogenesis, classification and treatment of mastocytosis: state of the art in 2010 and future perspectives. Expert Reviews Hematology, 2010, 497–516.
12. Asarnoj A., Glaumann S., Lilja G. et al. IgE antibodies to allergen components. Karolinska University Hospital, Stockholm, 2013.
13. Australasian society of clinical immunology and allergy. Food Allergy and Anaphylaxis Update, 2014.
http://www.allergy.org.au/images/stories/hp/info/ASCIA_food_allergy_and_anaphylaxis_update_April_2014.pdf
14. Bagdonaitė L. "Klinikinės imunologijos praktikos užduotys. Mokomoji knygelė. Vilnius, 2013. 17-21 p.
15. Bennich HH, Ishizaka K, Johansson SGO, Rowe DS, Stanworth DR, Terry WD. Immunoglobulin E, a new class of human immunoglobulin. 1968.

16. Bonadonna P, Perbellini O, Passalacqua G, et al. Clonal mast cell disorders in patients with systemic reactions to Hymenoptera stings and increased serum tryptase levels. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2009.-123:680–686.
17. Bonadonna P. et al. Mastocytosis and Allergic Diseases. *Allergology and Clinical Immunology*, Vol. 24 (5), 2014; 288-297.
18. Bonadonna P., Zanotti R., Muller U. Mastocytosis and insect venom allergy. *Current Opinion in Allergy and Clinical*, 2010; 10:347–353.
19. Boyano-Martinez T, Pedrosa M, Belver T, Quircke S, Garcia- Ara C. . Peach allergy in spanish children: tolerance to pulp and molecular sensitization profile. *Allergy and Immunology*, 2013; 24(2): 168–72.
20. Brockow K. et al. . Anaphylaxis in patients with mastocytosis: a study on history, clinical features and risk factors in 120 patients. *Allergy and Clinical Immunology*, Volume 63, Issue 2, 2008; 226-232. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2007.01569
21. Broesby - Olsen S. B., Dybedal I. et al. Multidisciplinary Management of Mastocytosis: Nordic Expert Group Consensus. 2015.
22. Buelow B., Routes J. M. et al. Medscape. Immediate Hypersensitivity Reactions. 2015.
23. C., Aalberse R. Specific IgE and IgG Responses in Atopic versus Nonatopic Subjects. *AMERICAN JOURNAL OF RESPIRATORY AND CRITICAL CARE MEDICINE*, Vol 162. 2000. - 124-127.
24. Cochrane S, Beyer K, Clausen M, Wjst M, Hiller R, Nicoletti C, et al. Factors influencing the incidence and prevalence of food allergy. *Allergy* 2009; Sep;64(9):1246-55.
25. Davoine F., Lacy P. Eosinophil Cytokines, Chemokines, and Growth Factors: Emerging Roles in Immunity. *Frontiers in Immunology*, 2014; doi: 10.3389/fimmu.2014.00570.
26. Decker W. W., Campbell R. L., Manivannan V. et al. The etiology and incidence of anaphylaxis in Rochester, Minnesota: A report from the Rochester Epidemiology Project. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2008; 122(6): 1161–1165. doi: 10.1016/j.jaci.2008.09.043.
27. Detection. BIO-RAD. <http://www.bio-rad.com/en-pt/applications-technologies/detection-methods>
28. Diaz R. C., Liang J. Diagnostic Allergy Testing. Medscape Updated 2016.
29. Dworetzky M., Cohen S. et al. . Portier, Richet, and the discovery of anaphylaxis: A centennial. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2002.

30. Dworetzky M., Cohen S. G. Pioneers and milestones . National Institute of Allergy and Infectious Diseases, and National Library of Medicine National Institutes of Health Bethesda, Md, 2002. - 722-726.
31. Ėmužytė R., Firantienė R., Kinčienė O., Kalibaitienė D. "Alergenams specifinių Imunoglobulinų E klinikinė reikšmė diagnozuojant alergiją: nuo alergenų šaltinio iki jų komponentų nustatymo molekulinės alergologijos metodais." *Medicinos teorija ir praktika*. T. 19 (Nr. 3.2), VU, MF. 2013. - 7-14 p.
32. Ėmužytė R., Pumputienė I., Firantienė R. "Alerginio uždegimo mechanizmai ir IgE tyrimai klinikinėje praktikoje." *Laboratorinė medicina* t. 13, Nr. 1(49), 2011.-31-36 p.
33. Escribano L., Orfao A. "Anaphylaxis in Mastocytosis." Springer Science, 2011; DOI 10.1007/978-1-60327-951-2_16.
34. Estelle F. and Simons R. Anphylaxis. The Journal of Allergy and clinical Immunology Faculty of Medicine, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada; 2009.
35. FE., Simons. " World Allergy Organization: World Allergy Organization survey on global availability of essentials for the assessment and management of anaphylaxis by allergyimmunology specialists in health care settings. ." *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2010. - 104, 405.
36. Galli Lantz CS. "Allergy." *Fundamenta immunology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1999. - 1127–1129.
37. Gell PGH, Coombs RRA, et al. *Clinical Aspects of Immunology*. Oxford, England: Blackwell , 1963.
38. Ghaffar A. IMMUNOLOGY - CHAPTER SEVENTEENTH, Hypersensitivity reactions . Microbiology and Immunology on-line. University of South Carolina School of Medicine, 2016.
39. Gonzalez de Olano D, de la Hoz B, Nunez-Lopez R, et al. "Prevalence of allergy and anaphylactic symptoms in 210 adult and pediatric patients with mastocytosis in Spain: a study of the Spanish network on mastocytosis (REMA)." *Clin Exp Allergy*. 2007. 37:1547–1555.
40. Gulen T. et al . High prevalence of anaphylaxis in patients with systemic mastocytosis - A single-center experience. Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden. *Clinical & Experimental Allergy*, 44; 2013:121-129, DOI: 10.1111/cea.12225.
41. Hitachi Chemical Diagnostics, Inc. 2010. The AP 720S™ Semi-Automated In Vitro Allergy Diagnostic System, Instruction Manual.

42. Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
http://www.hcdiagnostics.com/idc/groups/hcd/documents/supportingdocumentpdf/poc_007340.pdf The AP 720S™ Semi-Automated In Vitro Allergy Diagnostic System, Quick Start.
43. Hitachi Chemical Diagnostics, Inc. The CLA® Allergen-Specific IgE Assay brochure.
http://www.hcdiagnostics.com/idc/groups/hcd/documents/supportingdocumentpdf/poc_007084.pdf
44. Hitachi Chemical Diagnostics. Doc. No. 0649-ENG. International Package Insert For OPTIGEN Assay, For in vitro diagnostic single use.
45. Hoffmann-Sommergruber K., Pfeifer S. and Bublin M. Applications of Molecular Diagnostic Testing in Food Allergy. *Current Allergy and Asthma Reports*, 2015; 15(9): 56.): doi: 10.1007/s11882-015-0557-6
46. Horny HP, Metcalfe DD, Bennet JM, Bain BJ, Akin C, Escribano L, et al. Mastocytosis. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 2008.-54-63.
47. Hsieh F. . Cleveland Clinic. Center for continuing Education. Anaphylaxis. 2013.
48. ImmunoCAP (Phadia). Is it allergy? . Clinical utility of Total Tryptase.
49. ImmunoCAP Cross-Reactivity Map. ThermoScientific, Phadia. International Network of Universities for Molecular Allergology and Immunology.
http://www.inunimai.org/cms/images/docs/immunocap_isac/xmap/Component_Cross-reactivity_Map_150903.pdf
50. ImmunoCAP Tryptase Directions for use. 2015.
51. International Agency for Research on. "Chapter: Mastocytosis." WHO classification of tumours of heamatopoietic and lymphoid tissues. 2008.
52. Janeway Ch. A., Travers P. et al. "The Immune System in Health and Disease." Immunobiology, 5th edition. New York, USA, 2001.
53. Jennings S. et al. The Mastocytosis Society Survey on Mast Cell Disorders: Patient Experiences and Perceptions. Mastocytosis Center, Boston. *Allergy and Clinical Immunology Pract*, Volume 2, Number 1, 2013.
54. Karasuyama H, Mukai K, Tsujimura Y, Obata K. Newly discovered roles for basophils: a neglected minority gains new respect. *Nature Reviews Immunology*, 2009. - 9:9–13.
55. Kovanen PT, Kaartinen M, Paavonen T. Infiltrates of activated mast cells at the site of coronary atheromatous erosion or rupture in myocardial infarction. *Circulation* . 1995. - 1084-1088.

56. Linton E., Watson D. . "Recognition, assessment and management of anaphylaxis." *Nursing Standard*, 2010; 24 : 35-9.
57. Luning P.A., Devlieghere F, Verhé R. Safety in the agri-food chain. 2006.-684.
58. Matito A., Alvarez-Twose I. et al. Anaphylaxis as a Clinical Manifestation of Clonal Mast. DOI 10.1007/s11882-014-0450-8: *Current Allergy and Asthma Reports*, 2014.
59. Metcalfe D. D. . Mast cells and mastocytosis. *Blood*, 2008; 946–956. doi: 10.1182/blood-2007-11-078097.
60. Moneret-Vautrin DA, Morisset M, Flabbee J, Beaudouin E, Kanny G. Epidemiology of life-threatening and lethal anaphylaxis: a review. *Allergy*, 2005; 60:443–451.
61. Mustafa A. S. et al. Anaphylaxis. *Medscape Updated* 2015.
62. Oettgen H. and Geha R. Case studies in allergic disorders. - Harvard medical school, USA. 2013. - 1-4.
63. Pardanani A. Systemic mastocytosis in adults: 2013 update on diagnosis, risk stratification, and management. *American Journal of Hematology*, Volume 88, Issue 7, 2013. - 612-624.
64. Quintás-Cardama A, Jain N, Verstovsek S. Advances and controversies in the diagnosis, pathogenesis, and treatment of systemic mastocytosis." *Cancer*, 2011;117 (24)): 5439-49.
65. Reingardienė D., Bilskienė D., Bilskis R. "ANAFILAKSIJA: EPIDEMIOLOGIJA, PATOFIZIOLOGIJA, DIAGNOSTIKA, GYDYMAS, PROFILAKTIKA." *Sveikatos mokslai* Volume 21, Number 2. ISSN 1392-6373, 2011. - 96-104 p.
66. Rueff F. Mastocytosis and Hymenoptera venom allergy. *Allergy and Clinical Immunology*, Germany, 2006; 6:284–288.
67. Sala-Cunill A., Cardona V., Labrador-Horrillo M., Luengo O. et al. Usefulness and Limitations of Sequential Serum Tryptase for the Diagnosis of Anaphylaxis in 102 Patients. *Allergy and Immunology*, Vol. 160, 2013; 160:192–199, DOI:10.1159/000339749.
68. Sampson H. A., Munoz-Furlong A, Campbell RL, et al. Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: summary report. Second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network symposium. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2006;117:391–397 p.
69. Sampson H. A., Sicher S. H. Food Allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, Volume 125, Issue 2, Suppl 2, 2010, S116-S125.
70. Schwartz LB. Diagnostic value of tryptase in anaphylaxis and mastocytosis. *Immunology And Allergy Clinics of North America*, 2006; 26: 451–63.

71. Silva I., Carvalho S., Pinto PL. et al. Mastocytosis: a rare case of anaphylaxis in paediatric age and literature review. *Alergologia et Immunopathologia*, Vol. 36. Núm. 03, 2008; doi: 10.1016/S0301-0546(08)72541-2.
72. Simons FE, Arduzzo LR, Bilò MB, et al. World Allergy Organization anaphylaxis guidelines: summary. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2011; 127:587.
73. Simons FE. Anaphylaxis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2008.
74. Sokol C. L., Ngoc-Quynh Chu, Shuang Yu et al. "Basophils Function as Antigen Presenting Cells for an Allergen-Induced TH2 Response." *Nature Immunology*, 2012; doi: 10.1038/ni.1738.
75. Stone K. D., Prussin C., Metcalfe D. D. IgE, Mast Cells, Basophils, and Eosinophils. *Allergy and Clinical Immunology* 125 (2 Suppl 2): S73–S80. 2010; doi: 10.1016/j.jaci.2009.11.017.
76. Stone, S.F., Cotterell, C., Isbister, G.K., and Holdgate, A. Brown SGA. "Elevated serum cytokines during human anaphylaxis: Identification of potential mediators of acute allergic reactions." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2009; 124: 786–792.
77. Sullivan B. M., Locksley R. M. . Basophils: A Nonredundant Contributor to Host Immunity. *Immunity*, Volume 30, Issue 1, 2009; 12-20. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2008.12.006>
78. Terr A. I. Anaphylaxis. *Clinical Reviews in Allergy*, vol. 3, no. 1, 1985; 3-23 p.
79. The European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAAC). Tackling the Allergy Crisis in Europe Concerted Policy Action Needed. Brussels, Belgium, 2015.
80. Theoharides T. C., Alysandratos K. D., Angelidou A. et al. Mast cells and inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, Volume 1822, Issue 1, 2012.-21-33.
81. U.S. National Library of Medicine . MedlinePlus. Anaphylaxis.
82. United States Public Law C. Food Allergen Labelling And Consumer Protection Act of 2004.2004; 108-282.
83. Vaitėnas G, Bagdonaitė L., Kvedarienė V. Serumo triptazė –anafilaksijos ir mastocitozės žymuo (žvalgomasis tyrimas). *Laboratorinė medicina*, t. 15, Nr. 1(57), 2013; 45-49 p.
84. Valent P, Akin C, Arock M, et al. Definitions, criteria and global classification of mast cell disorders with special reference to mast cell activation syndromes: a consensus proposal. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2012; 157(3):215–25.
85. Valent P, Horny HP, Escribano L, et al. Diagnostic Criteria and Classification of Mastocytosis: a consensus proposal, 2001; 25:603–625.

86. Valent P. Tryptase as a marker in hematologic disorders. EAACI Barcelona, 2008.
87. Valent P., Sperr W. R. The serum tryptase test: an emerging robust biomarker in clinical hematology. *Expert Rev Hematol.* Author manuscript, 2014; 683–690. DOI: 10.1586/17474086.2014.955008.
88. Vercelli D. Immunobiology of IgE. Adkinson N, Bochner BS, Busse WW, Holgate ST, Lemanske RF, Simons FER. *Middleton's Allergy: Principles and Practice.* 7th ed Mosby Elsevier. 2009.
89. Verkių klinika. ALERGOLOGINIAI MĖGINIAI. Up to date.
90. Verstovsek S. Advanced systemic mastocytosis: the impact of KIT. *European Journal of Haematology*, 2012; 89-98.
91. Vivier, E., Raulet, D.H., Moretta, A., Caligiuri, M.A., Zitvogel, L., Lanier, L.L. et al. Innate or Adaptive Immunity? The Example of Natural Killer Cells. *Science* 331 (6013). 2011; 44-49. doi: 10.1126/science.1198687.
92. W., Volcheck Gerald. *Clinical Allergy. Diagnosis and Management.* Mayo Clinic, USA, 2009. - 8 - 10, 16, 19, 25, 28-30, 34, 41, 87-89, 405, 436, 433, 436, 453, 469.
93. WAO/EAACI Allergy Definitions. , World Allergy Organization http://www.worldallergy.org/professional/allergic_diseases_center/nomenclature/english.php
94. World Allergy organization. Anaphylaxis. http://www.worldallergy.org/public/allergic_diseases_center/anaphylaxis/anaphylaxis.php
95. World Allergy Week. Food Allergy – A Rising Global Health Problem. World Allergy Organization, 2013. <http://www.worldallergy.org/UserFiles/file/WorldAllergyWeek2013final.pdf>
96. Worm M., Eckermann O., Dolle S. Triggers and Treatment of Anaphylaxis. *Deutsches Ärzteblatt International*, 2014. DOI: 10.3238/arztebl.2014.0367.
97. Worm M., Moneret-Vautrin A, Scherer K, Lang R. First European data from the network of severe allergic reactions (NORA). 2014.

PRIEDAI

1 PRIEDAS. ImmunoCAP® Cross-Reactivity Map.....65 psl.

