

VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETO

BIOMEDICINOS MOKSLŲ INSTITUTO

FIZIOLOGIJOS, BIOCHEMIJOS, MIKROBIOLOGIJOS IR
LABORATORINĖS MEDICINOS KATEDRA

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

**ĮSIJAUTRINIMO BUITINIAMS ALERGENAMS IR JŲ MOLEKULINIAMS
KOMPONENTAMS TYRIMAS**

Magistrantė INGA AUKŠTIKALNĖ _____
(parašas)

Darbo vadovas
dr. A. Miškinienė

(parašas)

VU MF Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir
laboratorinės medicinos katedros vedėja
doc., dr. D. Karčiauskaitė

leidžiama ginti _____
(parašas)

Darbo įteikimo data _____

Registracijos Nr. _____

2018 m., Vilnius

TURINYS

SANTRUMPOS.....	3
ĮVADAS	4
DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI	5
1. LITERATŪROS APŽVALGA	6
1.1 Alerginės reakcijos mechanizmas	6
1.2 Alergijų diagnostika	9
1.2.1 Klinikinių simptomų, anamnezės įvertinimas	10
1.2.2 <i>In vivo</i> tyrimai.....	11
1.2.3 <i>In vitro</i> tyrimai.....	13
1.3 Buitiniai alergenai	15
1.3.1 Alergija namų dulkių erkėms	15
1.3.2 Alergija katėms ir šunims	17
1.4 Alergijų buitiniams alergenams paplitimas.....	20
1.4.1 Buitinių alergenų komponentų paplitimas.....	20
2. TYRIMO METODAI IR APIMTIS	22
2.1 Kriterijai pacientų atrankai.....	22
2.2 Tyrimo metodika.....	23
2.2.1. Specifinių IgE nustatymas ImmunoCAP metodu.....	25
2.3 Statistinė analizė.....	26
3. TYRIMO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	27
3.1 Įsijautrinimo buitinių alergenų ekstraktams tyrimai	27
3.2 Įsijautrinimo buitiniams alergenams pasiskirstymas tarp vyrų, moterų ir amžiaus grupių. 30	
3.3 Įsijautrinimo buitinių alergenų komponentams tyrimai	31
3.4 Įsijautrinimas alergenams ir jų molekuliniais komponentams pagal nustatytą įsijautrinimo klasę	37
3.5 Apibendrinimas	40
IŠVADOS	41
SUMMARY	42
LITERATŪROS ŠALTINIAI	44

SANTRUMPOS

IgE	Imunoglobulinas E
sIgE	Specifiniai imunoglobulinai E
IL	Interleukinas
APL	Antigena pateikianti ląstelė
MCH	Žmogaus pagrindinis audinių suderinamumo kompleksas (angl. <i>major histocompatibility complex</i>)
FcIR	Fc-epsilon-I tipo receptoriai
AKS	Arterinis kraujo spaudimas
SPT	Odos dūrio mėginys (angl. <i>Skin prick test</i>)
IDT	Įodinis mėginys (angl. <i>Intradermal testing</i>)
PT	Lopo testas (angl. <i>Patch testing</i>)
NDE	Namų dulkių erkės (angl. – <i>House dust mites</i>)
EAACI	Europos Alergologų ir Klinikinių Imunologų Akademija (angl. <i>European academy of allergy and clinical immunology</i>)
ELISA	Imunofermentinis metodas (angl. <i>Enzyme linked immuno sorbent assay</i>)
LU	Liuminescenciniai vienetai
kIU/L	Kilovienetai litre
SIT	Alergenų specifinė imunoterapija (angl. <i>Specific allergen immunotherapy</i>)

IVADAS

Šiuo metu alergija įvardijama kaip pandemijos masto sveikatos problema, paliečianti žmones visame pasaulyje. Alergologų ir klinikinių imunologų akademijos duomenimis iki 30 proc. Europos gyventojų kenčia nuo įkvepiamų alergenų sukeltų simptomų, tokių, kaip alerginis rinitas ar konjunktyvitas, iki 20 proc. serga alergine bronchine astma ir 15 proc. vargina alerginės odos ligos [1]. 2015 metų Lietuvos Higienos instituto duomenimis per dešimtmetį (nuo 2005 m. iki 2015 m.) alerginių ligų pasireiškimo dažnis išaugo nuo 30,8 iki 44,5 asmenų 1000 gyv. [2]. Dažna alergijos priežastis – alergenai – baltymai sukeltys alergines reakcijas, kasdien sutinkami mūsų aplinkoje, vadinami buitinais alergenais. Pagrindiniai buitinių alergenų šaltiniai yra namų dulkių erkės (angl. – *house dust mites*), katės ir šunys. Jų išskiriami alergenai laikomi reikšmingais kvėpavimo takų ligų, ypač astmos ir alerginės slogos, išsivystymo rizikos veiksniais [3, 4, 5]. Alergija namų dulkių erkių ir gyvūnų išskiriamiems baltymams yra svarbi visuomenės sveikatos problema, turinti įtakos ir vaikams, ir suaugusiesiems.

Alergijų diagnostika yra sudėtinga, susidedanti iš keleto vienas kitą papildančių tyrimo etapų: paciento nusiskundimų, anamnezės įvertinimo, klinikinės apžiūros, laboratorinių tyrimų *in vivo* ir/ar *in vitro* atlikimo bei jų rezultatų interpretavimo [6]. *In vitro* tyrimai, kuriuose panaudojami alergenų molekuliniai komponentai, papildoma tyrimus, kuriuose naudojami alergenų mišiniai – ekstraktai: padeda įvertinti ar yra pirminis įsijautrinimas ar kryžminė reakcija, taip pat nustatytus alergenų komponentus ir žinant kokios baltymų šeimos jie priklauso galima tiksliau įvertinti galimų vietinių ar sisteminių reakcijų riziką [7]. Komponentinė diagnostika ypač svarbi alergeniui specifinės imunoterapijos, kuri yra vienas iš efektyviausių alerginių susirgimų gydymo būdų, taikymui [8]. Alergenų ekstraktų pagrindu kuriamos imunoterapinės vakcinos skiriasi savo sudėtimi, todėl siekiant veiksmingo gydymo svarbu išsiaiškinti ar jų sudėtyje yra molekulių (alergenų komponentų), kuriomis gydomas įsijautrinęs pacientas.

Apie įsijautrinimo alergenams paplitimo Lietuvoje tyrimus, atliktus *in vitro* diagnostikos metodais, žinoma nedaug [9, 10], o tyrimų, kuriuose būtų aprašomi įsijautrinimo alergenų komponentams paplitimo Lietuvoje tyrimai – nėra. Todėl šiame darbe atlikti įsijautrinimo buitiniams alergenams ir jų komponentams tyrimai yra aktualūs ir labai svarbūs.

DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

DARBO TIKSLAS: ištirti įsijautrinimo buitiniams alergenams ir jų komponentams dažnį asmenų, kuriems įtariamos alerginės ligos, grupėje.

DARBO UŽDAVINIAI:

1. *In vitro* diagnostikos metodais kraujo serumo mėginiuose nustatyti alergenams specifinius IgE (sIgE) ir įvertinti įsijautrinimo šuns, katės, dulkių erkių *D. pteronyssinus*, *D. farinae* alergenų ekstraktams paplitimą, monosensibilizacijos ir polisensibilizacijos dažnį.
2. Įvertinti įsijautrinimo šuns, katės, namų dulkių erkių *D. pteronyssinus*, *D. farinae* alergenų ekstraktams dažnį tarp lyčių ir amžiaus grupėse.
3. *In vitro* diagnostikos metodais kraujo serumo mėginiuose nustatyti buitinių alergenų komponentams Fel d 1, Fel d 2, Fel d 4, Can f 1, Can f 2, Can f 3, Can f 5, Der p 1, Der p 2, Der p 10, Der p 23 sIgE. Įvertinti įsijautrinimo alergenų komponentams paplitimą, monosensibilizacijos, polisensibilizacijos ir sIgE kryžminių reakcijų dažnį.
4. Įvertinti įsijautrinimo buitiniams alergenams ir jų molekuliniais komponentams pasiskirstymą, pagal nustatytą įsijautrinimo klasę.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 Alerginės reakcijos mechanizmas

Alergija vadinama specifinių imunologinių mechanizmų sukeliama padidėjusio jautrumo reakcija, kurią sąlygoja alergenui specifiniai antikūnai arba alergenu įjautrinti T limfocitai [11]. Alergenai yra nedidelės molekulinės masės aplinkoje esančios medžiagos, dažniausiai baltymai, patenkantys į žmogaus organizmą kontakto su gleivine metu, per burną ar kvėpavimo takus. Skiriamos 4 pagrindinės alergenų rūšys: įkvepiamieji, maisto, kontaktiniai bei farmakologiniai. Šių alergenų pavyzdžiai pateikti 1 lentelėje.

1 lentelė. Alergenų rūšys.

Alergenų rūšys	Alergenų pavyzdžiai
Įkvepiamieji	Žiedadulkės, pelėsis, namų dulkių erkės, kačių, šunų seilės ar odos pleiskanos ir kt.
Maisto	Kiaušiniai, žuvis, jūros gėrybės, žemuogės, gliutenas, avižos, riešutai, kviečiai ir kt.
Kontaktiniai	Lateksas, formaldehidas, nikelis, vabzdžių įgėlimai ir kt.
Farmakologiniai	Penicilinų grupės antibiotikai, tetraciklinai, cefalosporinai, sulfonamidai, intraveniniai rentgenokontrastiniai preparatai, vietiniai anestetikai ir kt.

Alerginė reakcija pasireiškia pakartotinio sąlyčio su alergenais metu ir yra žalinga organizmui. Pirmojo kontakto su alergenu metu organizme per dvi savaites pasigamina imunoglobulinų E klasės antikūnai (IgE). Laikotarpis tarp alergeno patekimo ir antikūnų pasigaminimo vadinamas įsijautrinimo, arba sensibilizacijos (alergizacijos), periodu [12,13]. Šiuo laikotarpiu alergijai būdingi reiškiniai paprastai nepasireiškia. Esant pakankamam antikūnų kiekiui ir vėl pakartotinai patekus tam pačiam alergenui, gali įvykti alerginė reakcija. Atsako į patekusį antigeną raidoje gali dalyvauti keli skirtingi imunologiniai mechanizmai. Pagal pagrindinį vyraujantį mechanizmą visos padidėjusio jautrumo reakcijos skirstomos į keturis tipus (PGH Gell, R. Coombs, 1963) [14], o nuo IgE priklausoma „greitojo“ tipo alerginė reakcija (dar vadinama anafilaksine arba atopine reakcija) priskiriama pirmajam įsijautrinimo reakcijų tipui.

IgE yra tik žinduoliams būdingas imunoglobulinas, sintetinamas plazminių ląstelių, kurios lokalizuojasi limfiniuose mazguose, drenuojančiuose limfą iš antígeno patekimo vietos [15]. Literatūroje IgE pirmą kartą paminėti 1966 ir 1967 m dviejų nepriklausomų tyrėjų grupių [16, 17]. Jam būdinga monomerinė struktūra, sudaryta iš dviejų vienodų sunkiųjų epsilon (ϵ) ir dviejų vienodų lengvųjų kappa (κ) arba lambda (λ) grandinių. Jo koncentracija žmogaus serume sudaro tik 0,01-0,05 proc. (nuo viso imunoglobulinų kiekio) ir yra pati mažiausia iš visų imunoglobulinų [18, 19]. Laisvo IgE gyvavimo periodas tetrunka 2-5 dienas, tačiau jis geba jungtis prie putliųjų ląstelių (angl. *mast cells*) ir pasižymi aukšta prisijungimo geba (dideliu giminingumu - afiniškumu). Dėl šios savybės IgE gyvavimo periodas gali prailgėti. IgE savo Fc dalimi geba jungtis su ląstelių paviršiuje esančiais Fc receptoriais. Skiriami 2 Fc receptorių pogrupiai [20]:

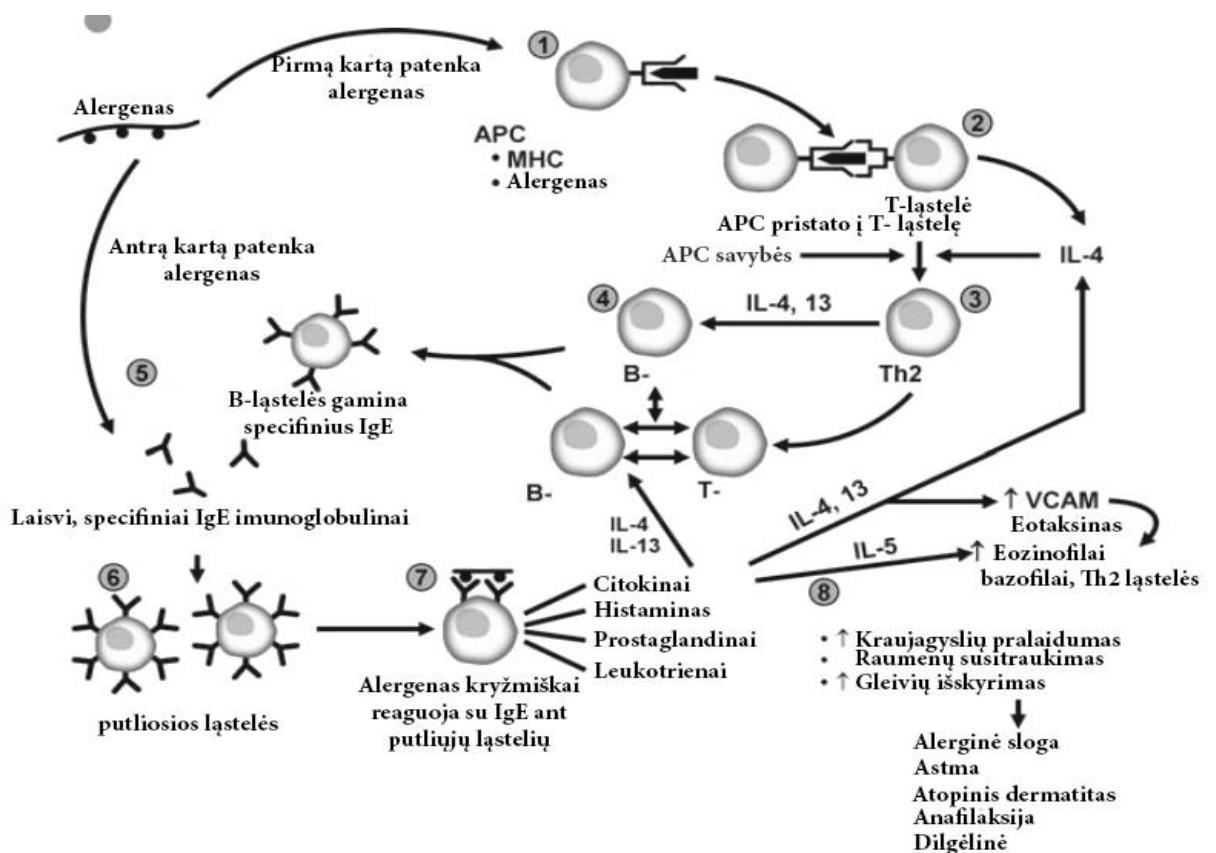
a) Fc-epsilon-I tipo receptoriai (Fc ϵ RI) yra trimerinės formos, pasižymi dideliu afiniškumu IgE ir yra putliųjų ląstelių, bazofilų ir antigeną pateikiančių ląstelių membranų paviršiuje. Jie svarbūs antígeno pristatymui bei pateikimui (iš audinių į periferinius limfmazgius bei imuninio atsako sukėlimui) [18]. Antigeno prisijungimas prie putliųjų ląstelių su Fc ϵ RI-IgE kompleksu sukelia jų degranuliaciją ir uždegiminių mediatorių išsiskyrimą. Tuo tarpu bazofilai be kitų uždegiminių mediatorių išskiria citokinus – interleukiną-4 (IL-4) ir interleukiną-13 (IL-13). Savo ruožtu IL-4 skatina plazmines ląsteles sintetinti IgE. Prisijungęs prie tokių receptorių IgE tampa stabilesnis ir gali išlikti ilgą laiką. Tokie bazofilai ir plazminės ląstelės yra pasiruošę imuniniam atsakui ir pakartotinio alergeno patekimo metu įvyksta greitas atsakas [18].

b) Fc-epsilon-II tipo receptoriai (Fc ϵ RII), dar žinomi kaip CD23, pasižymi mažu afiniškumu IgE [21]. Paprastai jie randami B limfocitų paviršiuje, tačiau padidėjusio jautrumo reakcijos metu, bazofilams sekretuojant IL-4, Fc ϵ RII pradeda sintetinti makrofagai, eozinofilai, trombocitai ir kai kurie T limfocitai (T ląstelės pagalbininkės).

Alerginės reakcijos mechanizmas:

1. Alergenas patekęs į organizmą reaguoja su antigeną pateikiančiomis ląstelėmis (APL). Jos perdirba alergeną, ir kartu su MHC II molekulėmis alergeno peptidus iškelia į APL paviršių.
2. T-ląstelė atpažįsta alergeno ir MHC kompleksą esantį ant APL.
3. Veikiant IL-4 ir susidariusiam APL-T kompleksui T ląstelės pagalbininkės diferencijuojasi į T_H2 ląsteles.
4. T_H2 ląstelių sekretuojami IL-4, IL-13 bei T ir B ląstelių sąveika paskatina B ląstelių diferenciaciją į alergenui specifinius IgE gaminančią plazminę ląstelę.

5. IgE produkuojanti B-ląstelė (arba plazminė ląstelė) išskiria IgE antikūnus.
6. IgE savo Fc dalimi jungiasi per putliųjų ląstelių ir bazofilų paviršiuje esančius didelio afiniškumo FcεRI receptorius.
7. Kitą kartą į organizmą patekęs alergenai kryžmiškai jungiasi prie IgE-FcεRI komplekso esančio putliųjų ląstelių ir bazofilų paviršiuje. Putliosios ląstelės aktyvuojamos tik tuo atveju, jei antigenas prisijungia prie 2 ir daugiau IgE molekulių Fab (angl. *antigen-binding fragment*) fragmentų (kryžminis sujungimas).
8. Aktyvuotos putliosios ląstelės ir bazofilai išskiria daug pirminių mediatorių (histaminą, prostaglandinus, leukotrienus), kurie sukelia greitą padidėjusio jautrumo - alerginę reakciją. Jos taip pat gamina ir išskiria antrinius mediatorius: prostaglandiną E, serotoniną, bradikininą, lizosominius fermentus ir kt. Pirminiai mediatoriai randami putliojoje ląstelėje dar iki kontakto su alergenu, skirtingai nei antriniai mediatoriai, kuriuos putliosios ląstelės pradeda gaminti tik po įvykusio kontakto [22]. Alerginės reakcijos mechanizmas pavaizduotas 1 paveiksle.

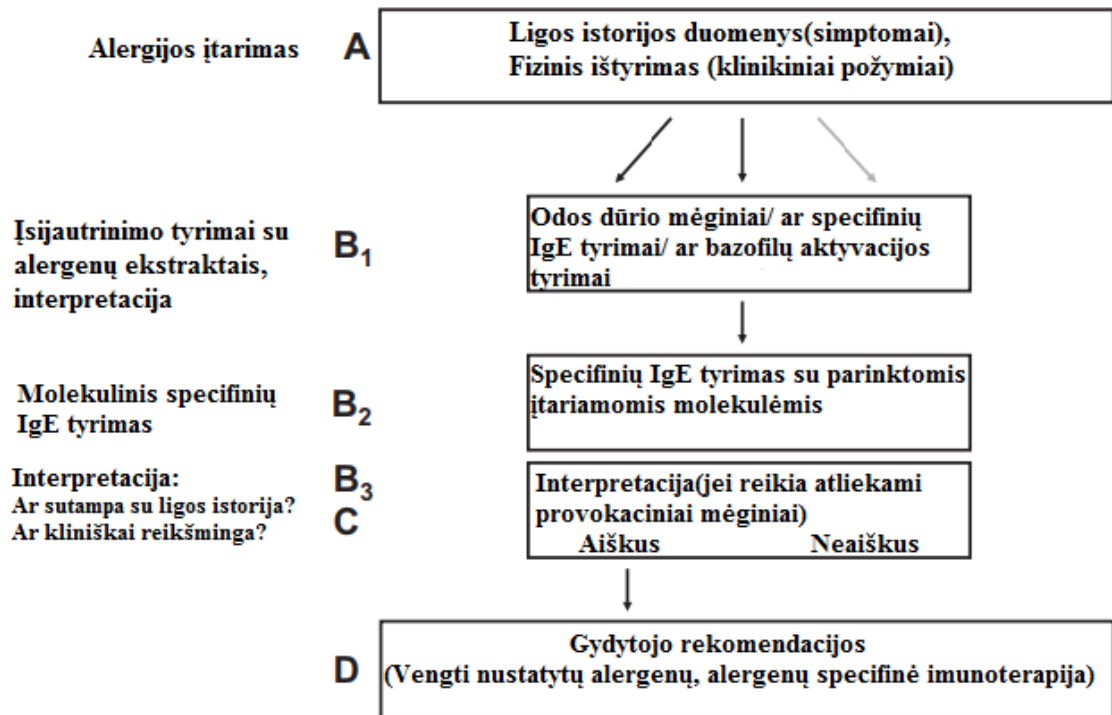


1 pav. Alerginės reakcijos mechanizmas [22].

Klinikinė alerginės reakcijos išraiška priklauso nuo patekusio antigeno kiekio bei patekimo būdo. Simptomai gali varijuoti nuo slogos (alergijos žiedadulkėms atveju) iki anafilaksinio šoko (alergenai patekus į sisteminę kraujotaką injekcijos metu). Išsiskyrę biocheminiai mediatoriai sukelia uždegiminio atsako reakciją, sąlygojančią vietinių ląstelių pažeidimus antigeno patekimo vietoje, bei turi poveikį kitiems audiniams bei organų sistemoms [15]. Histaminas, serotoninas, bradikininas mažina arterinį kraujo spaudimą (AKS), didina kvėpavimo ir kitų lygiųjų raumenų tonusą (siaurėja kvėpavimo takų spindis, didėja gleivių sekrecija): atsiranda kvėpavimo takų obstrukcijai būdingi reiškiniai bei simptomai – apsunkintas kvėpavimas, kosulys, išskyros iš nosies. Prostaglandinai didina kapiliarų pralaidumą, dėl vykstančios plazminio tūrio ekstravazacijos formuojasi edemos, gleivinių paburkimas. Padidėjusi skysčių sekrecija skatina peristaltiką, būdingas viduriavimas ir/ar vėmimas [23]. Ūminę alerginės reakcijos fazę keičia vėlyvos fazės atsakas, kuriam būdingi lėtiniam uždegimui charakteringi reiškiniai dėl antrinių uždegiminių mediatorių sintezės ir išskyrimo iš aktyvuotų plazminių ląstelių (odos pakitimai, niežulys, bronchinės astmos klinika).

1.2 Alergijų diagnostika

Išsami alergijų diagnostika susideda iš keleto vienas kitą papildančių tyrimo etapų: paciento nusiskundimų, anamnezės įvertinimo, klinikinės apžiūros, laboratorinių *in vivo* ir/ar *in vitro* tyrimų atlikimo bei jų rezultatų interpretavimo [6]. Ligos anamnezė, paciento nusiskundimai bei klinikinio ištyrimo rezultatai turi būti diferencijuojami nuo kitų panašiai pasireiškiančių susirgimų (nealerginės bronchinės astmos, lėtinių odos ligų, kt.). Pirminių tyrimų alergenų identifikavimui, ne visuomet užtenka, sudėtingesniais atvejais reikalinga tikslesnė, įsijautrinimo alergenų molekulėms diagnostika [30]. Alergijos diagnostika ir tyrimų atlikimo rekomendacijos pateiktos 2 paveiksle.



2 pav. Alergijos diagnostika: tyrimų atlikimo rekomendacijos [7].

1.2.1 Klinikinių simptomų, anamnezės įvertinimas

Įtariant alergiją, pirmiausia pacientai siunčiami gydytojo alergologo ir klinikinio imunologo konsultacijai. Jos metu su pacientu aptariami jį varginantys nusiskundimai bei simptomai: jų pobūdis (čiaudulys, išskyros iš nosies, kosulys, dusulys, akių ar odos niežulys, paraudimas), trukmė, pasireiškimo aplinkybės, simptomus provokuojantys ir palengvinantys veiksniai, pasikartojimo dažnumas, sezoniškumas. Svarbu išsiaiškinti buvusių alergijų anamnezę (dėl galimo kryžminio įsijautrinimo), alergines ligas šeimoje (genetinio paveldėjimo galimybė), gretutines ligas, medikamentų (įskaitant nereceptinių preparatų) vartojimą. Detalus paciento ligos anamnezės surinkimas yra vienas svarbiausių diagnostikos etapų. Jis padeda įtarti pirmojo tipo nuo IgE priklausomas greitas alergines reakcijas (pvz.: alergijos naminiams gyvūnams simptomai pajuntami iš karto patekus į patalpas, kuriose jie gyvena), nuo jo priklauso tolimesnis tyrimų planas bei gydymo parinkimas.

Po paciento anamnezės surinkimo atliekamas išsamus klinikinis paciento ištyrimas. Dažniausiai aptinkami būdingi odos ir gleivinių pakitimai (paburkimas, paraudimas, nukasymo žymės, skaidrus sekretas iš nosies). Kvėpavimo sistemos ištyrimo metu galima išklaudyti sausų, cypiančių apatinių kvėpavimo takų obstrukcijai būdingų karkalų.

Tolimesni diagnostiniai testai atliekami tuo atveju, jei:

- a) alergeno identifikavimas yra būtinas siekiant išvengti kontakto su juo (naminiai gyvūnai, maisto alergija);
- b) alergeno identifikavimas įtakoja gydymo parinkimą;
- c) svarstoma galimybė skirti alergenui specifinę imunoterapiją.

Odos dūrio bei laboratoriniai testai padeda patvirtinti su IgE susijusias alergijas bei identifikuoti alergenų, esant būdingiems simptomams. Specifinių imunoglobulinų E (sIgE) nustatymas *in vitro* ir *in vivo* atliekant odos dūrio mėginius (angl. *skin prick test* - SPT) pasižymi gera tarpusavio rezultatų koreliacija, todėl vieno ar kito testo pasirinkimas priklauso nuo alergijos simptomų, alergenų ekstrakto prieinamumo, susijusių finansinių išlaidų bei specialisto patirties interpretuojant rezultatus [24, 25].

1.2.2 *In vivo* tyrimai

Šiuo metu atliekami šie *in vivo* tyrimai įsijautrinimo alergenams nustatymui:

1. Odos diagnostiniai mėginiai:
 - Odos dūrio mėginys (angl. *Skin prick test* - SPT);
 - Įodinis mėginys (angl. *Intradermal testing* – IDT);
 - Lopo testai (angl. *Patch testing* – PT).
2. Provokaciniai mėginiai.

SPT yra viena pirminių rutininių procedūrų su IgE susijusių alergijų nustatymui. Jie parodo alergenų specifinių IgE buvimą ir sąveiką su alergenais organizme. Nors jų atlikimas šiek tiek užtrunka, tačiau rezultatai yra matomi ir interpretuojami tos pačios procedūros ir apsilankymo pas specialistą metu. Planuojant SPT atlikimą būtina nutraukti antihistamininių preparatų vartojimą bent savaitę iki tyrimo datos. Tyrimo atlikimo metu nedidelis alergeno kiekis aplikuojamas ant odos ir nevaskularizuotų paviršinių dermos sluoksnių, specialia sterilia adata įduriant į epidermį lašo vietoje. Dėl dūrio vietoje esančių putliųjų ląstelių su prisitvirtinusiomis IgE ir alergeno sąveikos, vyksta jų degranuliacija, išsiskiria uždegiminiai mediatoriai (prostaglandinai, histaminas, leukotrienai, kt.), didėja lokalus kapiliarų pralaidumas, plazmos eksudacija ir odoje iškyla pūklės. Reakcija vertinama po 15 min išmatuojant susidariusios pūklės skersmenį. Šio metodo privalumai: optimalus jautrumo ir specifiškumo santykis (kai kuriais atvejais SPT yra netgi jautresnis nei *in vitro* IgE antikūnų nustatymas), minimali intervencija į organizmą, nedideli

finansiniai kaštai, minimalus paciento patiriamas diskomfortas ir reliatyviai maža sisteminių šalutinių reiškinių rizika. SPT atlikimui griežtų amžiaus apribojimų nėra, tačiau reikia pažymėti, jog mažų vaikų bei vyresnio amžiaus asmenų odos reakcijos dažnai yra prislopintos bei apsunkina tyrimo rezultatų interpretavimą. Sisteminės alerginės reakcijos, nors ir labai retos, tačiau dažniau pasitaiko mažiems vaikams. Jaunesniems nei 2 metų amžiaus vaikams SPT turėtų būti atliekamas tik prižiūrint specialistui ir esant sąlygoms suteikti neatidėliotiną būtinąją ir specializuotą medicininę pagalbą [26, 27, 28].

Kontraindikacijos SPT atlikimui:

- Difuzinis odos pažeidimas (testas atliekamas tik ant sveikos odos);
- Ryškus dermatografizmas;
- Paciento nekooperatyvumas;
- Nepertraukiamas antihistamininių ar kitų medikamentų, įtakančių SPT atlikimą, vartojimas be laikino nutraukimo galimybės.

Reliatyvios SPT atlikimo kontraindikacijos:

- Persistuojanti sunki bronchinės astmos forma;
- Nėštumas;
- Beta-adrenoblokatorių vartojimas [26].

Šio metodo pagrindiniai trūkumai yra šie:

- neautomatizuotas;
- vienas dūris - vienas alergenai;
- netinka įsijautrinimo stebėsenai;
- nediferencijuoja pirminio įsijautrinimo ir kryžminių reakcijų;
- tikslumą apriboja naudojamų alergenų ekstraktai, kurie gali skirtis savo sudėtimi ir yra nestabilūs [26, 28].

IDT metu atliekama įodinė alergeno injekcija. Reakcija vertinama po 20 min. Testuojami alergenai yra dažniausiai medikamentai: penicilinių, cefalosporinų grupės antibiotikai, insulinas, opiatai, anestetikai, raumenų relaksantai, tam tikri fermentai. Injekuojamo alergeno praskiedimas naudojamas IDT metu yra 100-1000 kartų didesnis nei SPT naudojamiems mėginiams. Teisingas mėginio atlikimas bei interpretacija reikalauja patirties ir įgūdžių. Komplikacijų (anafilaksinių reakcijų) rizika yra ženkliai didesnė, lyginant su SPT. Literatūroje aprašomi pasitaikantys letalūs IDT atvejai [29]. Šiuos mėginius atlikti rekomenduojama specializuotame stacionare. IDT kontraindikuotinas maisto alergijos nustatymui ir laikomas netinkamu daugeliui inhaliuojamųjų alergenų identifikavimui dėl mažo specifiškumo [31]. Dėl

aukščiau paminėtų trūkumų bei susijusios rizikos pacientui, šis tyrimo metodas vis rečiau taikomas klinikinėje praktikoje.

PT atliekami kontaktiniam hiperjautrumui ir kai kurių uždelsto tipo hiperjautrumo reakcijų nustatymui. Jie nėra susiję su IgE antikūnų medijuojamomis alerginėmis reakcijomis, todėl plačiau aptariami nebus [32].

Provokaciniai mėginiai atliekami alergijos patvirtinimui arba atmetimui, jei pacientui pasireiškia klinikiniai alergijos simptomai, o SPT atlikimas negalimas ar jo duomenų nepakanka (rezultatai neinformatyvūs). Gali būti taikoma aplikacinė (aplikuojant ant nosies gleivinės, odos), oralinė (maisto, medikamentų), respiracinė (inhaliuojant į kvėpavimo takus) arba konjunktyvinė (lašai ant akių junginės) alergenų ekspozicija. Tyrimas atliekamas skiriant tam tikrą alergeną bei stebint pacientą. Alergeno kiekis/koncentracija gali būti palaipsniui didinama. Geriausiai testą atlikti dvigubai aklo tyrimo metu, tačiau praktikoje tai taikoma retai. Testas sustabdomas pastebėjus objektyvius reakcijos požymius. Provokaciniai mėginiai (ypač maisto ir medikamentiniams alergenams) yra rizikingi dėl galimų komplikacijų (anafilaksinų reakcijų), todėl tyrimas turi būti atliekamas stacionare, o paciento stebėjimas bei gyvybinių funkcijų monitoravimas yra privalomi viso tyrimo atlikimo metu. Šie mėginiai ilgą laiką buvo laikomi auksiniu standartu alergijos nustatymui, kadangi tiesiogiai identifikuoja alergeną, iliustruoja alergijos klinikinius simptomus bei jų sunkumą. Tačiau dėl susijusių šalutinių reiškinių ir komplikacijų rizikos, standartizacijos stokos bei padidėjus kokybiškų reagentų prieinamumui, SPT ir *in vitro* diagnostikos dažniausiai pakanka alergenų nustatymui ir provokaciniai mėginiai atliekami retai [33].

1.2.3 *In vitro* tyrimai

Įsijautrinimo alergenams nustatymui *in vitro* atliekami veninio kraujo serumo tyrimai: alergenui specifinių IgE koncentracijos, alergenų molekulėms (komponentams) specifinių IgE. Taip pat galima nustatyti 1 tipo įsijautrinimo reakcijoje išsiskiriančių mediatorių (triptazės, histamino, leukotrienų) koncentraciją bei atlikti bazofilų aktyvacijos testą [34, 35]. Remiantis tarptautinėmis rekomendacijomis, serumo specifinių IgE tyrimai atliekami arba kartu su SPT arba kai SPT rezultatai yra neinformatyvūs ar jų atlikimas negalimas ar kontraindikuotinas [7]. *In vitro* tyrimų kaina yra didesnė, reikalingas nemažas kraujo serumo mėginio kiekis, o rezultatai gaunami vėliau nei *in vivo* tyrimų metu (dažniausiai – kelių dienų ar savaitių laikotarpyje). Šių tyrimų pranašumai yra tie, jog jie gali būti atliekami visiems pacientams, susiję tik su minimaliu

diskomfortu (adatos dūriu) mėginio paėmimo metu, neturi reikšmingų kontraindikacijų jų atlikimui (išskyrus paciento nesutikimą): juos galima atlikti esant bėrimams, difuziniam odos pažeidimui, nenutraukus antihistamininių ar kitų vaistų vartojimo, nėra sisteminių reakcijų rizikos. *In vitro* tyrimai yra kiekybiniai, nustatantys konkretaus alergenui specifinio IgE koncentraciją paciento kraujo serume [7]. Tyrimo rezultatų reikšmę galima priskirti tam tikrai įsijautrinimo alergenui klasei: vertinama dažniausiai nuo 1 iki 6 klasės (kai kuriais analizatoriais – nuo 1 iki 4 klasės) [21, 12].

Alergijų alergenų molekulinė diagnostika. Per paskutiniuosius 30 metų mokslo pažanga molekulinės biologijos srityje atvėrė naują molekulinės alergijų diagnostikos erą: įvairių alergenų molekulinė komponentų reikšmė alerginių reakcijų patofiziologijoje buvo tirta ir aprašyta įvairiuose moksliniuose tyrimuose. Nemažai alergenų išgrynintų natūralių ar rekombinantinių baltymų pavidalu buvo komercializuoti ir šiuo metu yra plačiai taikomi *in vitro* alergijų diagnostinėse sistemose (sIgE nustatymo). *In vitro* tyrimai su išgrynintais alergenų molekuliniais komponentais papildė tyrimus su alergenų ekstraktais, naudojamais *in vivo* diagnostikoje - padeda įvertinti ar yra pirminis įsijautrinimas ar kryžminė reakcija. Nustačius alergenų komponentus ir žinant kokius baltymų šeimas jie priklauso galima tiksliau įvertinti galimų vietinių ar sisteminių reakcijų riziką. Alergenų baltymų šeimos pasižymi skirtingomis savybėmis, pvz.: įsijautrinimas stabiliems, karščiui, virškinimui atspariems alergenų komponentams lemia sunkesnes ar net gyvybei pavojingas alergines reakcijas. Naujausi moksliniai tyrimai bei klinikinės studijos nuolat plečia kliniškai svarbių komponentų sąrašą ir *in vitro* sIgE diagnostinės sistemos papildė vis naujais, kliniškai svarbiais komponentais (*Der p 23, Ara h 6*) [7]. Tarptautiniuose elektroniniuose alergenų duomenų bankuose (www.allergome.org, www.allergen.org) sukaupta informacija jau prieinama mokslininkams ir gydytojams.

Alergenų komponentų nustatymas paciento kraujo serume labai svarbus prieš taikant alergenui specifinę imunoterapiją (SIT). SIT yra šiuolaikiškiausias alergijų gydymo metodas, pirmą kartą aprašytas L. Noon ir J. Freeman 1911 m [36]. Gydymo metu pacientui skiriamos didėjančios alergeno dozės, kol organizmas adaptuojasi prie alergeno ir išsivysto imuninės sistemos tolerancija (modifikuojamas imuninis atsakas, sumažėja IgE gamyba). Alergeno komponentai gali būti skiriami poliežuvininiu, peroraliniu ar poodinės injekcijos būdu. Optimali gydymo trukmė – 3 metai. Šis gydymas ypač efektyvus esant alergijai įkvepiamiems alergenams, vabzdžių įgėlimams bei alerginės bronchinės astmos atvejais [8].

1.3 Buitiniai alergenai

Alergijos priežastis – alergenai. Buityje sutinkami alergenai vadinami buitinais alergenais. Tokių alergenų pagrindiniai šaltiniai yra namų dulkių erkės (angl. *house dust mites*), naminių gyvūnų plaukai, pleiskanos, seilės, paukščių plunksnos, tarakonai ir pelėsiai.

Šiame darbe buvo tiriami 3 dažniausiai įsijautrinimą sukiantys buitiniai alergenai ir jų komponentai:

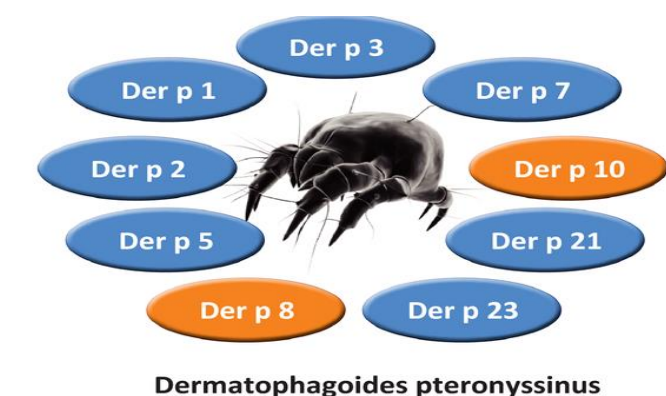
- namų dulkių erkės *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, Der p 1, Der p 2, Der p 10, Der p 23;
- šuo, Can f 1, Can f 2, Can f 3, Can f 5;
- katė, Fel d 1, Fel d 2, Fel d 4.

1.3.1 Alergija namų dulkių erkėms

Namų dulkių erkės (NDE) – tai nariuotakojų tipui, voragyvių klasei, erkinių būriui priskiriami organizmai. Jau iki 1960 m. buvo žinoma, kad namuose esančių dulkių sudėtyje yra naminių gyvūnų nešiojamų alergenų, žiedadulkių ir mikroskopinių grybelių, o 1964 m. NDE pirmieji aprašė olandų mokslininkai [37]. Nuo 1979 m. NDE pradėtos tyrinėti ir Lietuvoje [23].

Namų dulkėse aptinkamos įvairios erkių rūšys, tačiau tik kelios iš jų yra susijusios su alerginių ligų patogenezė, tai – *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Euroglyphus maynei* ir *Blomia tropicalis* [38, 39]. Namų dulkėse taip pat aptinkama daug *Tarsonemidae* šeimos erkių. Agrokultūrų (ypač grūdinių) laikymo ir sandėliavimo patalpose aptinkamos dar keturios alergiją sukeliančios erkių rūšys, kurios laikomos žemės ūkio produktų ir maisto atsargų kenkėjais: *Glycyphagus domesticus*, *Glycyphagus destructor*, *Cheletomorpha lepidopterorum*, *Ascarus siro*. NDE randamos žmogaus buityje: patalynėje, pagalvėse, čiužiniuose, kilimuose, minkštuosiuose balduose [40]. Jos minta negyvois epitelio ląstelėmis (odos pleiskanomis), dauginasi esant 25 °C temperatūrai, absorbuoja aplinkoje esančią drėgmę, nuo kurios yra visiškai priklausomos. Dėl šios priežasties NDE gausiai randamos storuose kilimuose, baldų apmušalų medžiagose, čiužiniuose, kur yra pakankama jų gyvavimui ir dauginimuisi reikalinga drėgmė (esant mažesnei nei 50 proc. santykinei aplinkos drėgmei žūva) [23, 7]. NDE alergenai yra randami jų išmatose, kurios būdamos lengvos gali pakilti į orą ir patekti į žmogaus kvėpavimo takus [41].

Alergenai. Dažniausiai sutinkamos NDE rūšys yra: *D. pteronyssinus* ir *D. farinae*. Pagrindiniai kliniškai reikšmingi šių NDE rūšių komponentai yra: Der p 1, Der p 2, Der p 10 ir neseniai pripažintas Der p 23. Taip pat yra identifikuoti NDE komponentai *D. pteronyssinus*: Der p 3, Der p 4, Der p 5, Der p 7, Der p 8, Der p 10, Der p 11, Der p 21 ir kt., *D. farinae*: Der f 1, Der f 2, Der f 3, Der f 7, Der f 8, Der f 10 ir kt., *B. tropicalis*: Blo t 1, Blo t 2, Blo t 3, Blo t 4, Blo t 5, Blo t 8, Blo t 10, Blo t 12, Blo t 21 ir kt [7, 42]. *D. pteronyssinus* NDE alergenų komponentai pavaizduoti 3 paveiksle.



3 pav. *D. pteronyssinus* NDE alergenų komponentai. Eksperimentiniu būdu nustatytas kryžminis reaktyvumas iliustruotas oranžine spalva [7].

Epidemiologiniai duomenys. NDE yra labiausiai paplitęs buitinis alergenai, susijęs su persistuojančios alerginės bronchinės astmos ir rinito išsivystymu [43, 44]. Šios etiologijos alerginių kvėpavimo takų susirgimų atvejų registruojama daugiau nei 500 milijonų (mln.) visame pasaulyje [45]. Sensibilizacija NDE alergenams bendroje populiacijoje siekia 1-2 proc., o sergančiųjų bronchine astma pacientų tarpe nustatoma net iki 50 proc. atvejų [46, 47]. NDE būdingas didelis geografinis variabilumas [48]. *D. pteronyssinus* buvo rasta visuose žemynuose, išskyrus Antarktidą, yra plačiai paplitusi Europoje, ypač Jungtinėje Karalystėje, taip pat ir Naujojoje Zelandijoje. Lietuvoje ši erkių rūšis aptinkama visose vietovėse – tai labiausiai paplitusi ir gausiausia NDE rūšis Lietuvoje [23]. *D. farinae* taip pat paplitusi visame pasaulyje, ypač Jungtinėse Amerikos Valstijose, tuo tarpu Lietuvoje aptinkama ne taip gausiai kaip *D. pteronyssinus*. *Blomia tropicalis* yra endeminė Pietų Amerikos ir kitų atogrąžų kraštų erkė. Lietuvoje šių erkių paplitimas tirtas nebuvo. NDE alergijos paplitimas glaudžiai siejasi su ekspozicija šioms alergenams ankstyvoje vaikystėje: siekia 5,5 proc. pirmųjų 3 gyvenimo metų laikotarpyje kontaktą su namų dulkėmis turėjusių vaikų su teigiama šeimine alergijos anamneze tarpe, bei 3 proc. tarp vaikų be šeiminių alergijos tarpe [49]. Vilniaus miesto centrinėje

poliklinikoje atlikto tyrimo metu buvo išsiaiškinta, kad net 38,1 proc. ištirtų vaikų buvo įsijautrinę *D. farinae*, o *D. Pteronyssinus* buvo jautrūs 50,29 proc. tirtų vaikų [9].

Alergijos NDE simptomai dažniausiai persistuojantys tačiau jų pasireiškimo intensyvumas varijuoja priklausomai nuo įvairių aplinkos faktorių (oro drėgnumo, temperatūros svyravimų, metų laiko): kosulys, dusulys, alerginė sloga, alerginė astma, konjunktyvitas. Simptomų intensyvumas ženkliai padidėja pavasarį, ankstyvą rudenį bei žiemos metu [44]. Neretai NDE sukiamas kvėpavimo takų alergijas komplikuoja kryžminis jautrumas kitiems alergenams (žiedadulkėms, pelėsiui, ir kt.) [44, 50, 51].

Diagnostika. Šiuo metu klinikinėje praktikoje galima nustatyti įsijautrinimą *D. pteronyssinus*, *D. farinae* ir *Ascarus siro* alergenų ekstraktams ir alergenų ekstraktų komponentams: Der p 1, Der p 2, Der p 10, Der p 23. Dažniausiai atliekamas standartinis odos dūrio mėginys su alergenų ekstraktais. Molekulinė laboratorinė diagnostika leidžia nustatyti įsijautrinimą alergenų komponentams, kurio dėka galima diferencijuoti kryžmines reakcijas nuo pirminio įsijautrinimo, nuspėti alerginės reakcijos sunkumą bei taikyti specifinę alergenų imunoterapiją pagal konkretų nustatyto alergeno tipą [7].

Gydymas. Nustačius įsijautrinimą NDE alergenams, rekomenduojama vengti kontakto su namų dulkelėmis, tai sumažina ir palengvina simptomus. Tačiau dažnai tai praktiškai įgyvendinti yra sunku ar neįmanoma, kadangi NDE yra plačiai paplitusios gyvenamojoje aplinkoje. Namų tvarkymas bei valymas ženkliai sumažina šio alergeno kiekį, tačiau jo buvimo visiškai nepanaikina. Simptominiam gydymui skiriami antihistamininiai preparatai, intranazaliniai kortikosteroidai, dekongestantai arba jų deriniai. Alergijos simptomai yra tiesiogiai susiję su ekspozicija, todėl vienintelis efektyvus šios alergijos etiopatogenetinis gydymas yra specifinė alergenų imunoterapija [52, 53]. Jos metu pacientui skiriamos reguliarios palaipsniui didėjančios alergeno ekstrakto dozės (injekcijos, tabletės, purškalas ar lašai po liežuviumi) keleto metų laikotarpyje, kol išsivysto imuninės sistemos tolerancija alergenui, simptomai ženkliai sumažėja ar visiškai išnyksta. Ženklus teigiamas poveikis simptomų kontrolei pastebimas jau po 4-5 mėnesių pradėjus gydymą. Įprastinė gydymo trukmė 3-5 metai, siekiant pilnos simptomų remisijos bei vengiant atkryčio rizikos [54, 1].

1.3.2 Alergija katėms ir šunims

Be namų dulkių erkių, kitas svarbus buitinių alergenų šaltinis yra naminiai gyvūnai. Alergija gyvūnų išskiriamiems baltymams yra svarbi visuomenės sveikatos problema, turinti

įtakos ir vaikams, ir suaugusiems. Jų išskiriami alergenai laikomi reikšmingais kvėpavimo takų ligų, ypač astmos ir alerginės slogos, išsivystymo rizikos veiksniais [3, 4, 5]. Alergines reakcijas gali sukelti kačių, šunų, žiurkių, pelių, arklių, karvių, jūrų kiaulyčių ar naminių paukščių alergenai [55]. Visgi pagrindiniai alerginių ligų sukėlėjai yra katės ir šuns alergenai, kadangi jie yra dažniausiai namuose laikomi gyvūnai. Šių gyvūnų alergenai išskiriami su seilėmis, šlapimu ar epitelio ląstelėmis (pleiskanomis). Šunų ir kačių alergenų poveikis neapsiriboja tiesioginiu kontaktu su gyvūnu. Jie prilimpa prie gyvūnų kailio, išnešiojami ir išsklaidomi po patalpas, pasklinda ore. Su augintinio šeimnininko drabužiais alergenai išnešiojami ne tik po gyvenamąsias patalpas, bet ir pernešami iš vienos aplinkos į kitą, bei viešąsias erdves. Gyvūnų alergenų žmogaus aplinkoje paplitimo tyrimais nustatyta, jog jie pasklidę mokyklose, vaikų darželiuose, viešajame transporte, netgi naminių gyvūnų neauginančių žmonių namuose [15]. Įrodyta, jog katės alergenai pasklidę mokyklose gali sąlygoti astmos paūmėjimą katėms įsijautrinusiems mokiniams [56]. Klasėse, kuriose sėdi daug kačių savininkų, alergenų lygis laikomas pakankamai aukštu, kad sukeltų įsijautrinimą katės alergenams [57].

Alergenai: Šiuo metu yra nustatyti šie katės (*Felis domesticus*) alergenų komponentai: Fel d 1, Fel d 2, Fel d 3, Fel d 4, Fel d 5, Fel d 6, Fel d 7, Fel d 8 ir šie šuns (*Canis familiaris*) alergenų komponentai: Can f 1, Can f 2, Can f 3, Can f 4, Can f 5, Can f 6. Iš jų svarbiausi, kliniškai reikšmingi bei nustatomi katės ir šuns alergenų komponentai ir jų charakteristikos nurodyti 2 lentelėje [7,42].

2 lentelė. Pagrindiniai kliniškai reikšmingi šuns ir katės alergenų komponentai bei jų charakteristikos [7, 42].

Katė (<i>Felis domesticus</i>)	Biocheminis pavadinimas	Šaltinis	Įsijautrinimo dažnis (procentais)	Kryžminės reakcijos
Fel d 1	Uteroglobinas	Pleiskanos, seilės, epitelis	60-100	-
Fel d 2	Serumo albuminas	Serumas	14-54	Didelė kryžminio įsijautrinimo rizika su kitais serumo albuminiais
Fel d 4	Lipokalinai	Pleiskanos, seilės	63	Vidutinė kryžminio įsijautrinimo rizika su Can f 6
Šuo (<i>Canis familiaris</i>)				
Can f 1	Lipokalinai	Pleiskanos, seilės	50-76	Didelė kryžminio įsijautrinimo rizika su Fel d 7
Can f 2	Lipokalinai	Pleiskanos, seilės	22-35	
Can f 3	Serumo albuminas	Serumas	25-59	Didelė kryžminio įsijautrinimo rizika su kitais serumo albuminiais
Can f 5	Prostatos kalikreinas	Prostata	71	

Alergijos katėms ir šunims simptomai: rinitas (čiaudulys, išskyros iš nosies ir užgulimas), konjunktyvitas (paraudusios, niežtinčios, ašarojančios akys), alerginė bronchinė astma (kosulys ir švokštimas). Juos išprovokuoja tiesioginis ar netiesioginis kontaktas su katėmis ar šunimis, kai aplinkos ore esantys alergenai yra įkvėpiami į kvėpavimo takus ar į organizmą patenka jiems įkandus [7, 58].

Epidemiologiniai duomenys. Vokietijoje atlikto tyrimo metu, kuriame ištirtas įsijautrinimas 50-čiai alergenų, daugiau nei 7000 sveikų suaugusiųjų, nustatyta jog 7 proc. turi specifinių IgE prieš katės ir šuns alergenų [59]. Kitame Vokietijoje atliktame tyrime, kuriame buvo ištirta 17641 vaikų ir paauglių, buvo nustatytas 9,7 proc. įsijautrinimas šuns alergenams ir 8,1 proc. katės alergenams [60]. Apžvelgiant abu tyrimus galima pastebėti, jog įsijautrinimas katės ir šuns alergenams yra didesnis vaikų ir paauglių tarpe nei suaugusiųjų. Švedijoje atliktas tyrimas

“BAMSE“ (angl. *Barn/Children, Allergy, Milieu, Stockholm, Epidemiological survey*) parodo, jog įsijautrinimas katės ir šuns alergenams vaikų amžiuje su metais didėja: atitinkamai padidėjo įsijautrinimas katės alergenui nuo 4 iki 16 metų (nuo 6,4 proc. iki 19,0 proc.), o šuns alergenui (nuo 4,8 proc. iki 22,6 proc.), 1699 ištirtų vaikų tarpe [61].

Diagnostika analogiška, jau anksčiau aprašytai NDE alergijos diagnostikai. Įsijautrinimas nustatomas su katės (*Felis domesticus*) ir šuns (*Canis familiaris*) alergenų ekstraktais ir 2 lentelėje aprašytais komponentais [7].

Gydymas. Analogiškas anksčiau aprašytam įsijautrinimo NDE gydymui.

1.4 Alergijų buitiniams alergenams paplitimas

EAACI (angl. *European academy of allergy and clinical immunology*) – Europos Alergologų ir klinikinių imunologų akademijos duomenimis iki 30 proc. Europos gyventojų kenčia nuo įkvepiamų alergenų sukeltų (kuriems priskiriami ir buitiniai alergenai) simptomų, tokių, kaip alerginis rinitas ar konjunktyvitas, iki 20 proc. serga alergine bronchine astma ir 15 proc. vargina alerginės odos ligos, tačiau daugumoje regionų paplitimas tik didėja. 20-40 metų amžiaus grupėje, sergamumas alerginiu rinitu yra didžiausias ir siekia net 45 proc. Šie rodikliai kelia nerimą visame pasaulyje. Apie 300 milijonų žmonių kenčia nuo bronchinės astmos ir beveik pusė milijardo gyventojų patiria rinito simptomus [1].

Lietuvoje 2015 metų Higienos instituto duomenimis per dešimtmetį (nuo 2005 m. iki 2015 m.) alerginių ligų pasireiškimo dažnis išaugo nuo 30,8 iki 44,5 asmenų 1000 gyv. Alergine astma, kurios išsivystymą labiausiai įtakoja buitiniai alergenai, Lietuvoje 2014 m. sirgo 0,86 proc. gyventojų. Didžiausias sergamumas stebimas 5-9 metų berniukų tarpe: siekia ~47 asmenis 1000 gyv. Alerginė astma iki 20 metų amžiaus dažniau nustatoma miesto nei kaimo gyventojams, vėliau sergamumo rodikliai susilygina. Sergamumas alerginiu rinitu išaugo nuo 4,7 iki 12,5 asmens 1000 gyv. Labiausiai išaugo rinitu sergančių vaikų skaičius: nuo 14,7 iki 47,6 asmens 1000 gyv. [2].

1.4.1 Buitinių alergenų komponentų paplitimas

Namų dulkių erkėms alergiškų pacientų tarpe, įsijautrinimas Der p 1 ir Der p 2 komponentams siekia nuo 70 iki 100 proc., Der p 10 komponentui 5-18 proc., Der p 23 komponentui 74 proc.

Katėms alergiškų pacientų tarpe, įsijautrinimas Fel d1 komponentui sudaro 60-100 proc., Fel d 2 komponentui 14-54 proc., Fel d 4 komponentui 63 proc.

Šunims alergiškų pacientų tarpe, įsijautrinimas Can f 1 komponentui siekia 50-76 proc., Can f 2 komponentui 22-35 proc., Can f 3 komponentui 25-59 proc., Can f 5 komponentui 71 proc. [7, 42].

Lietuvoje buitinių alergenų komponentų paplitimo tyrimai nebuvo atlikti. Tačiau UAB „Imunodiagnostika“ laboratorijos duomenimis net 50 proc. alergiškų pacientų Lietuvoje yra įsijautrinę namų dulkių erkėms [62].

2. TYRIMO METODAI IR APIMTIS

Tiriamųjų kontingentą sudarė 106 alergiški asmenys, kurie dalyvavo alergiškų žmonių biomediciniame tyrime „Naujų diagnostinių sistemų, skirtų alergijos diagnostikai *in vitro* metodais, kūrimas“. Tyrimas vykdomas kartu su VšĮ VU ligoninės Santaros klinikų Pulmunologijos ir alergologijos centru, kuriame buvo atrinkti šiame darbe tirti pacientai. Tyrimo vykdymui gautas Vilniaus regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto leidimas (Nr. 158200-17-926-430, išdavimo data 2017-06-13). Eksperimentinis tyrimas atliktas 2017 m. rugpjūčio – 2018 m. balandžio mėn. Alergenui specifinių IgE nustatymas buvo atliekamas UAB „Imunodiagnostika“ laboratorijoje. Tyrimo duomenys gauti atliekant atrankinius tyrimus, nustatymui naudojant OPTIGEN®CLA mišrių 36 alergenų paletę (Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.). OPTIGEN®CLA teigiamų pacientų serumai buvo tiriami ImmunoCAP Phadia® 100 („Thermo Fisher Scientific/Phadia“, Švedija) – automatizuota alergijos diagnostikos sistema, parenkant alergenų, kuriems nustatytas 1 klasės ir didesnis (>27 LU) įsijautrinimas.

2.1 Kriterijai pacientų atrankai

Pacientai į tyrimą įtraukti remiantis keliais atrankos kriterijais: tiriamieji turėjo teigiamą anamnezę ir jiems buvo nustatyta odos dūrio reakcija į alergenų ekstraktus. Bioetikos centro leidimas buvo išduotas tik pilnamečių asmenų tyrimams, todėl darbe buvo taikytas amžiaus kriterijus (≥ 18 metų).

Anamnezė. Tiriamieji buvo atrinkti gydytojų alergologų ir klinikinių imunologų VšĮ VU ligoninės Santaros klinikų Pulmonologijos ir Alergologijos centre, atlikus pacientų fizinį ištyrimą ir surinkus ligos istorijos duomenis.

Odos dūrio mėginiai. Biomedicininio tyrimo dalyviams įsijautrinimas alergenams buvo įvertintas atliekant odos dūrio mėginius su alergenų ekstraktais (1 lentelė). Į tyrimą įtraukti tie asmenys, kuriems buvo SPT reakcija į bent vieną tirtą alergeną.

1 lentelė. Alergenų ekstraktai su kuriais atlikti odos dūrio mėginiai.

Alergenų ekstraktai			
1	Kietis (<i>Armenista vulgaris</i>)	13	Krevetė
2	Beržas (<i>Bertula verrucosa</i>)	14	Karvės pienas
3	Baltasis beržas	15	Lazdyno riešutas
4	<i>Alternaria alternata</i>	16	Sojos miltai
5	<i>Aspergillus fumigatus</i>	17	Žemės riešutas
6	<i>Cladosporium herbarams</i>	18	Kiaušinis
7	Lateksas	19	Šuo
8	Motiejukas	20	Katė
9	Kazeinas	21	NDE <i>D. farinae</i>
10	Obuolys	22	NDE <i>D. pteronyssinus</i>
11	Kviečių miltai	23	Ambrozija (<i>Ambrosia artemisifolia</i>)
12	Menkė		

2.2 Tyrimo metodika

Ėminiai ir mėginių paruošimas. *In vitro* tyrimai buvo atlikti tiriant veninio kraujo mėginius, paimtus vakuuminė kraujo paėmimo sistema į mėgintuvėlius be antikoagulianto, su skiriamuoju geliu. Veninio kraujo mėginiai po paėmimo laikyti kambario temperatūroje 30 min. kol kraujas sukrešės. Centrifuguoti 20 °C temperatūroje, prie 2000xg, 10 min. Tiriamųjų serumo mėginiai iki tyrimo laikyti 5 °C temperatūroje. Tyrimai atlikti tik iš serumo mėginių be hemolizės ir/ar lipemijos požymių.

Atrankinis tyrimas. Parenkant alergenų kompoziciją ištyrimui ImmunoCAP (Phadia) sistema, buvo atliktas pacientų kraujo serumo mėginių ištyrimas OPTIGEN®CLA (Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.) sistema. Ją sudaro CLA® *Pette* bandymo kameros, su šulinėliuose imobilizuotais alergenais, pusiau automatinis procesorius AP 720STM, kuriame vyksta serumo mėginių ir reagentų įtraukimas į *Pette* bandymo kameras ir jų inkubacija, MAST CLA-1™ liuminescencinis analizatorius, kuris išmatuoja chemiliuminescencinės šviesos intensyvumą *Pette* bandymo kameroje, po reakcijos su šulinėliuose esančiais alergenais. Skleidžiamos šviesos kiekis kiekviename šulinėlyje yra tiesiogiai proporcingas alergenui specifinių IgE kiekiui kraujo serume. Mėginių ištyrimui buvo naudota OPTIGEN®CLA mišrių 36 alergenų paletė (2 lentelė) [63]. Alergenui specifinių IgE nustatymas šia sistema paremtas imunobloto principu, nustatomas

fiksuotas alergenų kiekis. Vienos paletės, 36 alergenai sIgE ištyrimui užtenka 500 µL paciento kraujo serumo. MAST CLA-1™ liuminescencinis analizatorius matuoja liuminescenciniais vienetais (LU), rezultatai pateikiami suskirstyti į klases: 0 klasė (<26 LU), 1 klasė (27–65 LU), 2 klasė (66–142 LU), 3 klasė (143–242 LU), 4 klasė (>242 LU).

OPTIGEN®CLA teigiamų pacientų serumai toliau buvo tiriami ImmunoCAP Phadia® 100 diagnostine sistema, parenkant alergenų, kuriems nustatytas 1 klasės ir didesnis (>27 LU) išsijautrinimas.

2 lentelė. OPTIGEN®CLA mišrių 36 alergenų paletė.

Įkvepiamieji alergenai:	Maisto alergenai:
Pelynas	Vištiena
Rapsas (žolė)	Kazeinas
Dilgėlė	Miežiai
Baltasis beržas	Rugiai
Pelėsinis grybas <i>Alternaria</i>	Obuolys
Pelėsinis grybas <i>Aspergillus</i>	Mielės
Pelėsinis grybas <i>Cladosporium</i>	Kviečiai
Pelėsinis grybas <i>Penicillium</i>	Apelsinas
Tarakonų mišinys	Menkė
Motiejukas	Jautiena
Vištos plunksnos	Kiauliena
Šuns pleiskanos	Pomidoras
Arklės pleiskanos	Krevetės
Katė (kailis, oda, pleiskanos)	Pienas
Namų dulkių erkė (<i>D. farinae</i>)	Lazdyno riešutai
Namų dulkių erkė (<i>D. Pteronyssinus</i>)	Sojos pupelės
Kiti:	Žemės riešutai
Lateksas	Žirniai
	Kiaušinio baltymas

Tyrimai ImmunoCAP Phadia® 100 laboratorine sistema. Atsižvelgiant į aprašytos tyrimo eigos rezultatus, parinkus tinkamiausią alergenų kompoziciją, pacientų serumai buvo ištirti su

ImmunoCAP Phadia® 100 sistema. Tai mažiausia iš Phadia laboratorinių sistemų, pritaikyta universaliajam naudojimui mažose laboratorijose. Šie įrenginiai gali nustatyti įsijautrinimą iki 650 alergenų ir iki 90 alergenų komponentų. ImmunoCAP technologija yra visuotinai pripažinta auksiniu laboratorinės diagnostikos standartu. Jos naudojami alergenai ir alergenų komponentai yra pagaminti iš aukštos kokybės žaliavų: išgryninti baltyminiai komponentai išgaunami iš jų natūralaus šaltinio arba sintetiniai rekombinantiniai, genų inžinerijos metodais. Šios technologijos dėka galima nustatyti specifinius IgE antikūnus prieš alergenų ekstraktus ar atskirus molekulinis alergenus paciento serume ar plazmoje. Tai automatizuotas, kiekybinis tyrimas, pasižymintis dideliu jautrumu (93 proc.), specifiškumu (89 proc.) ir mažu variacijos koeficientu, tinkamas įsijautrinimo stebėsenai, leidžiantis atskirti pirminį įsijautrinimą nuo kryžminių reakcijų. Vienu Phadia 100 analizatoriaus paleidimu galima atlikti iki 48 tyrimų. Tyrimai atliekami taikant fluoroimunofermentinį metodą, o rezultatai pateikiami kiekybine išraiška nuo 0,1 kIU/L iki 100 kIU/L. Analizatorius priskiria koncentracijų klases, nurodytas 3 lentelėje [64, 65].

3 lentelė. sIgE koncentracijų klasės.

Klasė	Koncentracija (kIU/L)
0	<0,35
1	0,35–0,7
2	0,7–3,5
3	3,5–17,5
4	17,5–50
5	50–100
6	>100

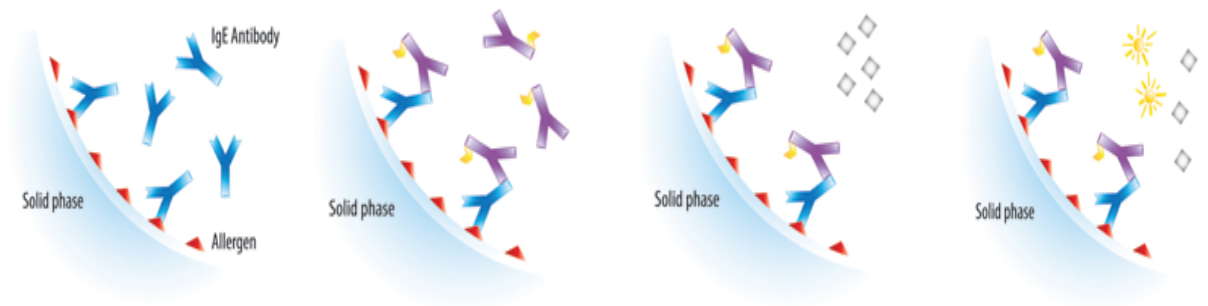
2.2.1. Specifinių IgE nustatymas ImmunoCAP metodu

Metodas paremtas „sumuštinio“ tipo ELISA (angl. *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) metodo principu.

ImmunoCAP yra nedidelės „taurelės“ (angl. *Cap*), kuriose prie kietos fazės (celiuliozės darinio) kovalentinėmis jungtimis prijungti pavieniai alergenai ar jų komponentai. Reakcija vyksta keliais etapais:

- „Taurelėse“ alergenai reaguoja su specifiniais IgE esančiais paciento kraujo serume. Nesusijungę su alergenais, nespecifiniai IgE nuplaunami.
- Inkubacija su antriniai antikūnais: prijungiami fermentu beta-galaktozidazę žymėti antriniai antikūnai prieš sIgE ir susidaro jų kompleksas. Po inkubacijos nesurištų antrinių antikūnų perteklius nuplaunamas.

- Susidarę stabilūs alergeno ir alergenui specifinių IgE ir žymėto antrinio antikūno kompleksai inkubuojami su „išryškinamuoju“ tirpalu (angl. *development solution*) – beta-galaktozidazės substratu 4-metilbelliferil- β -D-galaktozidaze.
- Sustabdžius reakciją matuojama fluorescencija tirpale. Ji tiesiogiai proporcinga serumo sIgE koncentracijai [66, 67]. sIgE koncentracija mėginiuose apskaičiuoja prietaiso programinės įrangos modulis, pagal kalibravimo kreivę. ImmunoCAP sistemos veikimo principas pavaizduotas 1 paveiksle.



1 pav. ImmunoCAP sistemos veikimo principas [66].

2.3 Statistinė analizė

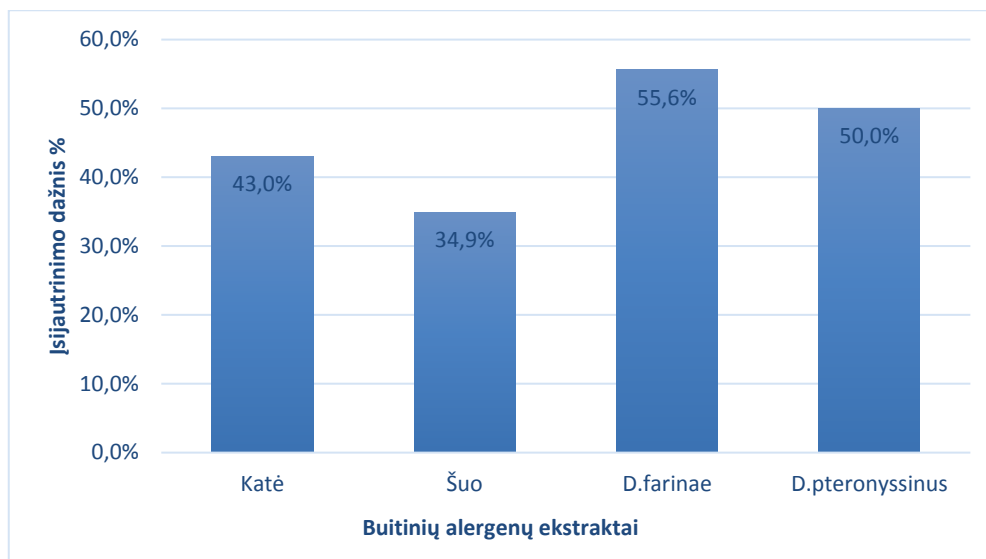
Tyrimo duomenų apdorojimo analizė atlikta naudojant *SPSS-17.0 for Windows* (*Statistical Package for Social Sciences for Windows*) ir *Microsoft Office Excel 2016* paketus. Skaičiuota aprašomoji statistika (dažniai, procentinis pasiskirstymas). Duomenys vizualiai pateikti naudojant lenteles ir diagramas. χ^2 kriterijus („*chi-kvadratas*“) buvo naudojamas tikrinti hipotezes apie dviejų požymių nepriklausomumą. Mažoms imtims – papildomai taikytas tikslusis *Fisher* testas. Skirtumai laikyti statistiškai reikšmingais, kai $p < 0,05$.

3. TYRIMO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Šiame darbe buvo ištirti 106 asmenys, dalyvavę alergiškų žmonių biomediciniame tyrime. Iš jų 65,1 proc. (n=69) buvo moterys ir 34,9 proc. (n=37) vyrai. Pagal amžių pacientai buvo suskirstyti į tris amžiaus grupes: 18-30 metų (n=53, 50,0 proc.), 30-40 metų (n=32, 30,2 proc.) ir 40 metų amžiaus ir vyresni (n=21, 19,8 proc.). Vyriausia tiriamoji buvo 87 metų. Visi 106 asmenys buvo ištirti OPTIGEN®CLA (Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.) diagnostine sistema 36 alergenams (alergenų sąrašas pateiktas skyriuje „Tyrimo metodai ir apimtis“). 103 pacientams buvo nustatytas 1 klasės ir didesnis (>27 LU) įsijautrinimas bent vienam OPTIGEN®CLA paletės alergenui. Toliau OPTIGEN®CLA teigiamų pacientų serumai buvo tiriami ImmunoCAP Phadia® 100 diagnostine sistema, parenkant alergenų, kuriems nustatytas 1 klasės ir didesnis (>27 LU) įsijautrinimas. ImmunoCAP Phadia® 100 diagnostine sistema rezultatai laikyti teigiamais, kai nustatyta specifinių IgE koncentracija paciento kraujo serume buvo $\geq 0,35$ kIU/L (≥ 1 klasė). Šiame darbe buvo analizuojami katės, šuns ir namų dulkių erkių (NDE) (*D. pteronyssinus* ir *D. farinae*) alergenų ekstraktų ir jų komponentų tyrimai, vertintas jų paplitimas. Taip pat buvo tiriamas pacientų įsijautrinimo tirtiems buitiniams alergenams ryšys su amžiumi ir lytimi.

3.1 Įsijautrinimo buitinių alergenų ekstraktams tyrimai

Išanalizavus įsijautrinimo buitinių alergenų ekstraktams specifinių IgE kiekio nustatymo kraujo serumo mėginiuose tyrimų rezultatus, gautus ImmunoCAP diagnostine sistema, nustatyta, kad tiriamojoje grupėje (n=106) namų dulkių erkės *D. farinae* alergenų ekstraktui buvo įsijautrinę 55,6 proc. (n=59) tiriamųjų, NDE *D. pteronyssinus* alergenų ekstraktui buvo įsijautrinę 50,0 proc. (n=53), katės alergenų ekstraktui 43,0 proc. (n=46), šuns alergenų ekstraktui 34,9 proc. (n= 37) tiriamųjų. Todėl galime teigti, kad tarp šiame tyrime dalyvavusių pacientų, NDE yra labiausiai paplitę tarp tirtų buitinių alergenų. Įsijautrinimo buitiniams alergenams rezultatai pateikti 1 paveiksle.



1 pav. Įsijautrinimo dažnis (%) buitinių alergenų ekstraktams.

2009 m. Heinzerling L. M. ir kt. aprašė įsijautrinimo dažnio įvairiems įkvepiamiems alergenams tyrimus Europoje. Paplitimo tyrimai buvo atlikti odos dūrio testais, 14-os Europos valstybių pacientams, kuriems buvo įtariami alerginiai susirgimai [68]. Buvo nustatyta, kad įsijautrinimas katės alergenams siekia 26,3 proc. Didžiausias įsijautrinimas nustatytas Danijoje (49,3 proc.) ir Šveicarijoje (42,1 proc.), mažiausias Austrijoje (16,8 proc.). Šuns alergenams įsijautrinimas Europoje sudarė 27,2 proc., didžiausias nustatytas Danijoje (56,0 proc.) ir Suomijoje (36,5 proc.), mažiausias – Austrijoje (16,1 proc.). *D. pteronyssinus* paplitimas Europoje nustatytas 31,3 proc., didžiausias buvo Portugalijoje (68,8 proc.) ir Danijoje (51,5 proc.), mažiausias – Suomijoje (16,8 proc.). Europoje *D. farinae* paplitimas sudarė 28,9 proc., didžiausias nustatytas taip pat, kaip ir *D. pteronyssinus*: Portugalijoje (68,0 proc.) ir Danijoje (51,8 proc.), mažiausias – Suomijoje (15,5 proc.). Iš Heinzerling et al. 2009 publikacijoje pateiktų duomenų matome, kad didžiausias įsijautrinimo dažnis buitiniams alergenams Europoje yra Danijoje [68]. Mūsų tyrimo duomenimis, gauti tirtų buitinių alergenų paplitimo rezultatai yra didesni nei nustatyti Europoje, tačiau nelenkia labiausiai įsijautrinusių Europos valstybių.

Lietuvoje, 2011 m. Vilniaus miesto centro poliklinikoje buvo atlikti įsijautrinimo mišriems 36 alergenams tyrimai su MAST CLA (Hitachi Chemical Diagnostic, JAV) diagnostine sistema, imunobloto metodu. Šiuose tyrimuose buvo tirti 2-8 metų vaikai, ir nustatytas 25,2 proc. įsijautrinimo dažnis katės alergenams, 38,1 proc. *D. farinae*, o *D. pteronyssinus* 50,3 proc. Publikacijoje nenurodyti duomenys apie įsijautrinimą šuns alergenams [9]. Skirtumus tarp tyrimų rezultatų galėjo lemti, jog šiame darbe buvo tirti suaugusieji, o Vilniaus miesto centro poliklinikoje buvo tirti vaikai. Alerginių ligų vystymasis yra labai susijęs su amžiumi. Maži vaikai dažniausiai

būna įsijautrinę maisto alergenams, tačiau šią alergiją dauguma vaikų išauga ir toliau alerginė liga vystosi į alergiją įkvepiamiesiems alergenams. 2000 m. atliktame tyrime, kuriame tirti 94 vaikai sergantys atopiniu dermatitu ir stebimi iki 7 metų amžiaus, nustatyta, kad egzema išaugo 82 vaikai, tačiau net 43 proc. tirtų vaikų išsivystė astma ir 45 proc. alerginis rinitas [69]. Švedijoje atliktas ImmunoCAP diagnostine sistema tyrimas “BAMSE“ (angl. *Barn/Children, Allergy, Milieu, Stockholm, Epidemiological survey*) parodė, jog įsijautrinimas katės ir šuns alergenams vaikų amžiuje su metais didėja: atitinkamai padidėjo įsijautrinimas katės alergenui nuo 4 iki 16 metų (nuo 6,4 proc. iki 19,0 proc.), o šuns alergenui (nuo 4,8 proc. iki 22,6 proc.), 1699 ištirtų vaikų tarpe [61]. Tai paaiškina šiame darbe nustatytus didesnius įsijautrinimo tirtiems buitiniams alergenams rezultatus suaugusiųjų tarpe lyginant su vaikams nustatytu įsijautrinimu Vilniaus miesto centro poliklinikoje. Taip pat rezultatų skirtumus tarp tyrimų galėjo lemti tai, jog darbuose naudotos skirtingos diagnostinės sistemos, nustatančios specifinius IgE kraujo mėginiuose. Šiame darbe naudota ImmunoCAP diagnostinė sistema pasižymi didesniu jautrumu ir specifiškumu lyginant su MAST CLA diagnostine sistema (daugelio alergenų CLA tyrimo jautrumas ir specifiškumas >0,9, lyginant su ImmunoCAP) [9]. Skirtumus tarp diagnostinių sistemų lemia ir skirtingi alergenų ekstraktai naudojami diagnostiniuose testuose. Gamintojai juos standartizuoja, tačiau neįmanoma gauti vienodos sudėties ekstraktų dėl biologinės įvairovės ir įvairių priemonių [70].

Ištyrus visų tyrimo dalyvių kraujo serumo mėginius monosensibilizuotų pacientų šuns alergenams buvo 2, *D. farinae* – 2, *D. pteronyssinus* - 1 pacientas. Katės alergenams monosensibilizuotų pacientų nebuvo. Polisensibilizuoti visiems buitiniams alergenams buvo net 26 tiriamieji – 24,5 proc. 1 tiriamasis buvo įsijautrinęs tik katės ir šuns alergenams, taip pat 1 tiriamasis buvo įsijautrinęs tik katės ir NDE alergenams ir 1 šuns ir NDE alergenams. 6 pacientai polisensibilizuoti tik NDE alergenams (1 lentelė).

1 lentelė. Monosensibilizacija ir polisensibilizacija buitiniams alergenams.

Monosensibilizacija		Polisensibilizacija	
Šuns alergenams	1,9 % (n=2)	Katės ir šuns alergenams	0,9 % (n=1)
Katės alergenams	0 % (n=0)	Katės ir abiejų NDE alergenams	0,9 % (n=1)
<i>D. pteronyssinus</i>	0,9 % (n=1)	Šuns ir abiejų NDE alergenams	0,9 % (n=1)
<i>D. farinae</i>	1,9 % (n=2)	NDE alergenams	5,6 % (n=6)
		Visiems buitiniams alergenams	24,5 % (n=26)

3.2 Įsijautrinimo buitiniams alergenams pasiskirstymas tarp vyrų, moterų ir amžiaus grupių

106 tiriamųjų imtyje, moterys įsijautrinusios katės alergenams sudarė ženkliai didesnę dalį (49,3 proc. (n=34)) nei vyrai (32,4 proc. (n=12)). Įsijautrinusių šuns alergenams moterų dalis taip pat buvo didesnė (39,1 proc. (n=27)) nei vyrų (27,0 proc. (n=10)). Namų dulkių erkėms *D. farinae* ir *D. pteronyssinus* įsijautrinimas tarp lyčių buvo panašus, tačiau *D. farinae* šiek tiek labiau buvo įsijautrinę vyrai (56,8 proc. (n=21)), o *D. pteronyssinus* moterys (50,7 proc. (n=35)). Išanalizavus rezultatus, įvertinant ir lyčių pasiskirstymą bendroje imtyje, nustatyta jog daugumai buitinių alergenų labiau įsijautrinusios moterys nei vyrai. Statistiškai reikšmingų skirtumų tarp lyčių nebuvo nustatyta ($p>0,05$) (2 lentelė). Kito Lietuvoje atlikto tyrimo duomenimis, kuriame vertintas inhaliacinės ir maisto alergijos paplitimas gauti kitokie duomenys: tarp tų, kuriems nustatytas padidėjęs sIgE lygis, statistiškai reikšmingai didesnę dalį sudarė vyrai [10]. Pietų Kinijoje atliktame tyrime, kuriame ištirta 4523 vyrų (64,18 proc.) ir 2524 moterys (35,82 proc.), tiriamųjų imtyje buvo daugiau vyrų, tačiau nenustatyta statistiškai reikšmingo skirtumo tarp įsijautrinimo daugumai įkvepiamųjų alergenų (buvo tirti *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *B. tropicalis*, *B. germanica*, katės ir šuns alergenai) ir tiriamųjų lyties. Tačiau aptikta, kad vyrai statistiškai reikšmingai daugiau įsijautrinę namų dulkių erkei *D. farinae* [71]. Įsijautrinimo buitiniams alergenams pasiskirstymas tarp lyčių nurodytas 2 lentelėje.

2 lentelė. Įsijautrinimo buitiniams alergenams pasiskirstymas tarp lyčių.

	Įsijautrinimas katės alergenams (p=0,08)		Įsijautrinimas šuns alergenams (p=0,06)		Įsijautrinimas <i>D. farinae</i> (p=0,07)		Įsijautrinimas <i>D. pteronyssinus</i> (p=0,45)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Moterys	34	49,3 %	27	39,1 %	38	55,1 %	35	50,7 %
Vyrai	12	32,4 %	10	27,0 %	21	56,8 %	18	48,6 %
Iš viso	46	43,4 %	37	34,9 %	59	55,6 %	53	50,0 %

Analizuojant įsijautrinimo buitiniams alergenams pasiskirstymą tarp amžiaus grupių pastebėta, kad su amžiumi mažėja įsijautrinusių NDE asmenų skaičius. Daugiausiai įsijautrinusių NDE 18-30 metų amžiaus grupėje. Įsijautrinimas šuns ir katės alergenams visose amžiaus grupėse buvo labai panašus. Statistiškai reikšmingo skirtumo tarp įsijautrinimo buitiniams alergenams ir amžiaus nustatyta nebuvo ($p>0,05$) (3 lentelė). Pietų Kinijoje atliktame tyrime, kuriame ištirta

7077 pacientų su alerginiais simptomais taip pat nustatyta, kad su amžiumi (nuo 18 iki >60 metų) įsijautrinimas NDE *D. pteronyssinus* ir *D. farinae* tendencingai mažėja. Įsijautrinimas šuns alergenams nustatytas didesnis 18 metų amžiaus tiriamiesiems, katės alergenams 21 metų amžiaus tiriamiesiems. >21->60 metų pacientams įsijautrinimas šuns ir katės alergenams publikacijoje nustatytas panašus. Mūsų tyrime amžiaus intervalas buvo didesnis (18-30 metų), todėl tokio įsijautrinimo padidėjimo nenustatyta [71].

3 lentelė. Įsijautrinimo buitiniams alergenams pasiskirstymas tarp amžiaus grupių.

	Įsijautrinimas katės alergenams (p=0,75)		Įsijautrinimas šuns alergenams (p=0,07)		Įsijautrinimas <i>D. farinae</i> (p=0,95)		Įsijautrinimas <i>D. pteronyssinus</i> (p=0,96)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<30	23	43,4 %	18	34,0 %	32	60,4 %	28	52,8 %
30-40	14	43,8 %	11	34,4 %	17	53,1 %	16	50,0 %
>40	9	42,9 %	8	38,1 %	10	47,6 %	9	42,9 %
Viso:	46	43,4 %	37	34,3 %	59	55,6 %	53	50,0 %

3.3 Įsijautrinimo buitinių alergenų komponentams tyrimai

Šiame baigiamajame darbe ImmunoCAP Phadia® 100 diagnostine sistema buvo atlikti įsijautrinimo alergenų molekulėms tyrimai. Šiems tyrimams buvo pasirinktos kliniškai reikšmingiausios alergenų molekulės – alergenų komponentai. Darbe analizuojamiems, buitinių alergenų komponentų tyrimams panaudoti komponentai išvardinti 4 lentelėje.

4 lentelė. Tyrimams panaudoti alergenų ekstraktai ir komponentai.

Ekstraktai	e5	Šuns alergenų ekstraktas	e1	Katės alergenų ekstraktas	d1	<i>D. pteronyssinus</i> ekstraktas	d2	<i>D. farinae</i> ekstraktas
Komponentai	e101	rCan f 1	e94	rFel d 1	d202	rDer p 1	-	-
	e102	rCan f 2	e220	rFel d 2	d203	rDer p 2		
	e226	nCan f 3	e228	rFel d 4	d205	rDer p 10		
	e221	rCan f 5			d209	rDer p 23		

r - rekombinantinis alergeno komponentas,

n – natūralus alergeno komponentas.

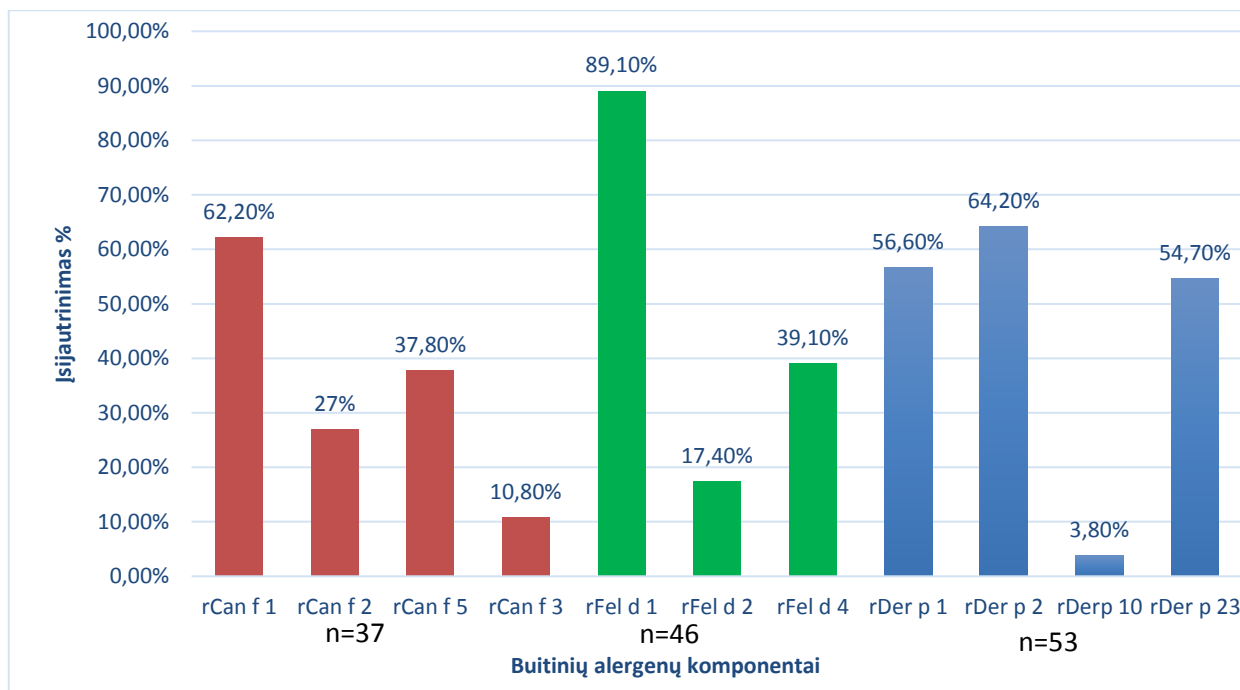
Pacientų įsijautrinimas buvo vertinamas teigiamu, kai sIgE koncentracija $\geq 0,35$ kIU/l (≥ 1 klasė). Iš katės alergenų ekstraktui įsijautrinusių pacientų (iš 106 pacientų 46 buvo įsijautrinę katės ekstraktui), dauguma (89,1 proc., n=41) buvo įsijautrinę pagrindiniam katės alergenų komponentui Fel d 1. Tai - sekretinis baltymas, kurio biocheminis pavadinimas yra uteroglobinas. Jis yra rūšiai specifinis įsijautrinimo žymuo, išskiriamas seilių liaukų ir odos ląstelių. Nustatytas įsijautrinimo dažnis Fel d 1 komponentui sutapo, su literatūroje nurodomu įsijautrinimo dažniu: 60-100 proc. [7], 90-95 proc. [22], 80-95 proc. [42], 95 proc. [72]. Fel d 2 komponentui įsijautrinusių pacientų dalis sudarė 17,4 proc. (n=8) ir buvo artimas literatūroje nurodomiems 14-54 proc. [7], 20 proc. [22], 20-35 proc. [73], 20-35 proc. [42], 15-25 proc. [72] įsijautrinimo intervalams. Fel d 2 yra serumo albuminai, randami katės epidermyje (pleiskanose), seilėse, serume. Skirtingų gyvūnų albuminų molekulės pasižymi dideliu panašumu, todėl Fel d 2 komponentą svarbu nustatyti norint įvertinti kryžminio reagavimo riziką. Kryžminių reakcijų nustatymas leidžia prognozuoti su kokiais kitais gyvūnais kontakto metu gali pacientui pasireikšti klinikiniai simptomai. Žmogaus įsijautrinusio Fel d 2 komponentui IgE gali kryžmiškai sąveikauti su kitais serumo albuminiais, pvz.: su šuns serumo albuminu Can f 3 ar arklio Equ c 3. Įsijautrinimas katės komponentui Fel d 4 sudarė 39,1 proc. (n=18) ir buvo mažesnis nei rašoma literatūroje 63 proc. [42], 63 proc. [7], 60 proc. [73], 63 proc. [72]. Fel d 4 yra lipokalinų šeimos baltymas, randamas katės seilėse ir pleiskanose. Šios šeimos baltymai, kaip ir albuminai yra būdingi įvairiems gyvūnams, ir yra tarpusavyje labai panašūs, todėl asmenys įsijautrinę katės komponentui Fel d 4, taip pat gali reaguoti į kitus lipokalinų šeimos baltymus, pavyzdžiui į šuns lipokalinų šeimos komponentus Can f 1, Can f 2. Taip pat Fel d 4 turi vidutinę kryžminio reaktyvumo riziką su kitais lipokalinų šeimai priklausančiais komponentais: šuns Can f 6 ir arklio Equ c 1 [7, 42, 73].

Įsijautrinimas NDE komponentams Der p 1 ir Der p 2, *D. pteronyssinus* ekstraktui įsijautrinusių pacientų grupėje (iš 106 pacientų 53 buvo įsijautrinę *D. pteronyssinus* ekstraktui), buvo atitinkamai 56,6 proc. (n=30) ir 64,2 proc. (n=34) ir buvo mažesnis nei nurodomas literatūroje: Der p 1: 70-100 proc. [7], 70-100 proc. [74], 64-100 proc. [75] ir Der p 2: 80-100 proc. [7], 70-100 proc. [74], 62-91 proc. [75] įsijautrinimas. Der p 1 ir Der p 2 pagrindiniai NDE komponentai. Įsijautrinimas šiems komponentams sukelia didelę riziką pacientams susirgti astma. NDE komponentui Der p 10 nustatytas tik 3,8 proc. (n=2) įsijautrinimo dažnis. Literatūros duomenimis, šio komponento įsijautrinimo dažnis yra 5-18 proc. [7], 10 proc. [42], 6-59 proc. [75]. Der p 10 yra tropomiozinas, randamas namų dulkių erkių išmatų dalelėse. Tropomiozino amino rūgščių sekos yra labai homologiškos tarp NDE, moliuskų ir kitų bestuburių kas paaiškina aukštą šių baltymų kryžminį reaktyvumą – pacientai įsijautrinę Der p 10 komponentui neretai gali būti įsijautrinę krevetėms bei įvairiems moliuskams. Simptomai atsirandantys prarijus ar įkvėpus

tropomiozinių baltymų šeimai priklausančių alergenų gali būti nuo menkų iki sukeliančių anafilaksinę reakciją. NDE alergiškiems pacientams Europoje nėra būdingas didelis įsijautrinimo paplitimas Der p 10 komponentui, kas paaiškina ir šiame tyrime gautus rezultatus [76]. Stebimi įsijautrinimai gali būti traktuojami kaip kryžminio reagavimo efektai, bet gali būti ir plataus įsijautrinimo indikatoriai. NDE komponentui Der p 23 nustatytas 54,7 proc. (n=29) įsijautrinimo dažnis ir jis nedaug mažesnis nei įsijautrinimo dažniai pagrindiniams NDE komponentams Der p 1 ir Der p 2. Der p 23 yra peritrofino tipo baltymas, randamas NDE išmatų dalelių paviršiuje. Literatūros duomenimis, NDE alergiškų pacientų tarpe įsijautrinimas Der p 23 komponentui siekia net 74 proc. [7, 77]. Kitų autorių duomenimis nustatyta, kad dalis pacientų yra įsijautrinę išskirtinai Der p 23 komponentui. Tai naujas – neseniai identifikuotas alergenas, svarbus NDE komponentas, kuris gali paaiškinti pacientams pasireiškiančius klinikinius simptomus, kai įsijautrinimas pagrindiniams NDE komponentams Der p 1 ir Der p 2 nėra nustatomas. Todėl jis taip pat priskiriamas prie pagrindinių NDE komponentų [7, 42, 77].

Įsijautrinimas šuns alergenų komponentams Can f 1 ir Can f 2, šuns pleiskanų ekstraktui įsijautrinusių pacientų grupėje (iš 106 pacientų 37 buvo įsijautrinę šuns pleiskanų ekstraktui) nustatytas atitinkamai 62,2 proc. (n=23) ir 27,0 proc. (n=10). Šie komponentai priklauso lipokalinų baltymų šeimai. Tai viena pagrindinių kryžmiškai reaguojančių šuns ir katės alergenų baltymų šeimų. Komponentai randami šuns seilėse ir epidermyje. Literatūros duomenimis įsijautrinimas šiems komponentams sutampa su šiame tyrime nustatytu įsijautrinimu (Can f 1: 50-76 proc., Can f 2: 22-35 proc.) [7], (Can f 1: 45-55 proc., Can f 2: 20-30 proc.) [42], (Can f 1: 52-75 proc., Can f 2: 20-30 proc.) [78]. Can f 1 yra pagrindinis šuns alergenas, kuris yra rūšiai specifinis įsijautrinimo indikatorius. Be jau aprašytos kryžminio reaktyvumo rizikos su katės komponentu Fel d 4, Can f 1 turi vidutinę riziką kryžmiškai reaguoti su kitu katės komponentu Fel d 7 [7].

Įsijautrinimas Can f 3 komponentui nustatytas 10,8 proc. (n=4). Tai serumo albuminų šeimos baltymas, randamas šuns pleiskanose, serume, seilėse. Literatūros duomenimis, įsijautrinimas šiam komponentui yra 25-59 proc. [7], 15-35 proc. [42], 35 proc. [78], ir yra didesnis nei nustatytas šiame tyrime. Šuns prostatos kalikreinui Can f 5, nustatytas 37,8 proc. (n=14) įsijautrinimas. Tai kryžmiškai nereaguojantis komponentas, kurio šaltinis yra prostata ir alergeniui aplinką patenka su šuns šlapimu. Pacientams, kurie yra įsijautrinę tik šiam komponentui, alergines reakcijas sukels patinai, o kontaktas su patelėmis klinikinių požymių nesukels. Literatūros duomenimis įsijautrinimo Can f 5 dažnis yra 71 proc. [7], 70 proc. [42, 79] ir yra gerokai didesnis nei nustatyta šiame tyrime. Šio tyrimo metu gauti panašūs ar mažesni įsijautrinimo buitiniams alergenams ir jų komponentams rezultatai lyginant su literatūros duomenimis. Įsijautrinimas tirtų buitinių alergenų komponentams pateikiamas 2 paveiksle.



2 pav. Įsijautrinimas buitinių alergenų komponentams (>0,35 kIU/L).

Šiame darbe buvo analizuojama monosensibilizacija ir polisensibilizacija buitinių alergenų komponentams. Vertinant įsijautrinimą katės alergenų komponentams, daugumai iš įsijautrinusių katės alergenų ekstraktui (n=46) buvo būdinga monosensibilizacija Fel d 1 komponentui, net 56,5 proc. (n=26). Literatūros duomenimis, komponentas Fel d 1 yra puikus alergijos katėms žymuo [80]. Kitiems katės alergenų komponentams Fel d 2 ir Fel d 4 monosensibilizacija buvo nedidelė ir sudarė tik 2,2 proc. (n=1). 21,7 proc. (n=10) tiriamųjų buvo polisensibilizuoti Fel d 1 ir Fel d 4 komponentams. Visiems katės komponentams polisensibilizuoti buvo net 13,0 proc. (n=6) tiriamųjų. Įsijautrinimas komponentams Fel d 2 ir Fel d 4 yra siejamas su kryžminėmis reakcijomis su kitais serumo albuminų ir lipokalinių šeimų komponentais [7, 81, 82].

Analizuojant įsijautrinimą šuns alergenų komponentams, nustatyta, kad dauguma tiriamųjų buvo monosensibilizuoti Can f 1 komponentui ir sudarė 13,5 proc. (n=5) nuo visų pacientų įsijautrinusių šuns alergenų ekstraktui. Šuns prostatos kalikreinui Can f 5 nustatyti du monosensibilizuoti tiriamieji (5,4 proc.). Kitiems tirtiems šuns alergenų komponentams Can f 2 ir Can f 3 monosensibilizuotų pacientų nebuvo. Daugiausiai polisensibilizuotų tiriamųjų buvo įsijautrinę Can f 1 ir Can f 5 (13,5 proc. (n=5)) šuns alergenų komponentams, taip pat panašiai buvo įsijautrinusių Can f 1 ir Can f 2 (10,8 proc. (n=4)). Komponentinė diagnostika nustatant įsijautrinimą šuns alergenų komponentams Can f 1, Can f 2, Can f 3 ypač svarbi, nes padeda išsiaiškinti ar yra pirminis įsijautrinimas ar specifinių IgE kryžminės reakcijos su kitais serumo

albuminų ir lipokalinų šeimų komponentais. Literatūros duomenimis, asmenys, įsijautrinę išskirtinai Can f 1 ir Can f 2 komponentams turi daugiau galimybių pasiekti teigiamą terapinį efektą gydant SIT [83]. Taip pat svarbu nustatyti ar yra įsijautrinimas Can f 5 komponentui. Ispanijos populiacijoje Can f 5 yra pagrindinis komponentas, kuriam įsijautrinę 70 proc. šunims alergiškų asmenų [81]. Kitame tyrime nustatyta, kad Can f 5 komponentui buvo įsijautrinę 67 proc. tiriamųjų, o iš jų 37 proc. buvo monosensibilizuoti tik Can f 5 komponentui (ir nejautrūs, kartu tirtiems Can f 1, Can f 2, Can f 3 komponentams) [84]. Todėl pacientams įsijautrinusiems Can f 5 ir ypač tiems kurie yra monosensibilizuoti šiam komponentui, prieš taikant SIT svarbu išsiaiškinti ar vakcinos sudėtyje yra šio komponento, tam, kad būtų pasiektas terapinis efektas [81, 83]. Taip pat asmenys monosensibilizuoti tik Can f 5 komponentui gali auginti moteriškos lyties šunis, kurie tikėtina neturėtų sukelti alerginių reakcijų [79].

Vertinant įsijautrinimą NDE *D. pteronyssinus* komponentams, daugiausiai tiriamųjų buvo monosensibilizuoti Der p 23 komponentui (9,4 proc. (n=5)) ir Der p 2 (7,5 proc. (n=4)) komponentui. Der p 1 monosensibilizuotas buvo tik 1 tiriamasis (1,9 proc.), o Der p 10 monosensibilizuotų pacientų nebuvo. Daugiausiai polisensibilizuotų tiriamųjų buvo Der p 1 ir Der p 2 komponentams, ir sudarė 11,3 proc. (n=6). Nemažai tiriamųjų buvo polisensibilizuoti Der p 1 ir Der p 23 (5,7 proc. (n=3)) komponentams, taip pat Der p 2 ir Der p 23 (5,7 proc. (n=3)) komponentams. Visiems NDE *D. pteronyssinus* komponentams buvo įsijautrinęs 1 tiriamasis (1,9 proc.). Kitų autorių duomenimis nustatyta, kad 31 proc. pacientų buvo monosensibilizuoti tik NDE Der p 23 komponentui. Dauguma komercinių vakcinų skirtų imunoterapiniam gydymui NDE alergiškiems pacientams yra standartizuotos pagrindiniams NDE Der p 1, Der p 2 ir Der f 1 komponentams, todėl pacientams, įsijautrinusiems kitiems NDE komponentams nepasiekiamas laukiamas terapinis efektas. Todėl autoriai rekomenduoja prieš skiriant imunoterapinį gydymą NDE alergiškiems pacientams būtinai atlikti įsijautrinimo komponentams diagnostiką [77].

Tarp tirtų buitinių alergenų komponentų, kryžmiškai reaguojantys (n=27) buvo serumo albuminų šeimai priklausantys katės Fel d 2 ir šuns Can f 3 komponentai ir lipokalinų šeimai priklausantys šuns Can f 1, Can f 2 ir katės Fel d 4 komponentai. Fel d 2 ir Can f 3 komponentams nustatytas 11,1 proc. (n=3) kryžminis įsijautrinimas. Tarp lipokalinų šeimos baltymų Fel d 4 ir Can f 1 kryžminis įsijautrinimas nustatytas 51,9 proc. (n=14), o tarp Fel d 4 ir Can f 2 komponentų buvo perpus mažesnis ir sudarė 25,9 proc. (n=7). Be jau minėtų buitinių alergenų sukeliamų simptomų, kryžmiškai reaguojantys serumo albuminai susiję su vadinamu „katės-kiaulės“ sindromu: pacientams, įsijautrinusiems katės serumo albuminui, pasireiškia klinikiniai požymiai valgant kiaulieną [81]. Alerginių ligų diagnostikoje alergeno identifikavimas iki molekulinio lygmens yra labai svarbus, jo dėka galima nustatyti ar pacientas yra įsijautrinęs kryžmiškai reaguojantiems alergenų komponentams ir prognozuoti su kokiais kitais gyvūnais kontakto metu

gali pacientui pasireikšti klinikiniai simptomai. Monosensibilizacija ir polisensibilizacija buitinių alergenų komponentams pateikiama 5 lentelėje, kryžminės reakcijos - 6 lentelėje.

5 lentelė. Monosensibilizacija ir polisensibilizacija buitinių alergenų komponentams.

Monosensibilizacija		Polisensibilizacija	
Buitinių alergenų komponentams			
Katės komponentams			
Fel d 1	56,5 % (n=26)	Fel d1 ir Fel d 2	2,2 % (n=1)
Fel d 2	2,2 % (n=1)	Fel d1 ir Fel d 4	21,7 % (n=10)
Fel d 4	2,2 % (n=1)	Fel d 2 ir Fel d 4	0 % (n=0)
		Visiems	13,0 % (n=6)
Šuns komponentams			
Can f 1	13,5 % (n=5)	Can f 1 ir Can f 2	10,8 % (n=4)
Can f 2	0,0 % (n=0)	Can f 1 ir Can f 5	13,5 % (n=5)
Can f 5	5,4 % (n=2)	Can f 1 ir Can f 3	2,7 % (n=1)
Can f 3	0 % (n=0)	Can f 2 ir Can f 5	0 % (n=0)
		Can f 2 ir Can f 3	0 % (n=0)
		Visiems	0 % (n=0)
<i>D. pteronyssinus</i> komponentams			
Der p 1	1,9 % (n=1)	Der p 1 ir Der p 2	11,3 % (n=6)
Der p 2	7,5 % (n=4)	Der p 1 ir Der p 10	0 % (n=0)
Der p 10	0 % (n=0)	Der p 1 ir Der p 23	5,7 % (n=3)
Der p 23	9,4 % (n=5)	Der p 2 ir Der p 10	0 % (n=0)
		Der p 2 ir Der p 23	5,7 % (n=3)
		Visiems	1,9 % (n=1)

6 lentelė. sIgE kryžminės reakcijos su alergenų komponentais.

Įsijautrinimas tarp serumo albuminų šeimos komponentų	
Fel d 2 ir Can f 3	11,1 % (n=3)
Įsijautrinimas tarp lipokalinų šeimos komponentų	
Fel d 4 ir Can f 1	51,9 % (n=14)
Fel d 4 ir Can f 2	25,9 % (n=7)

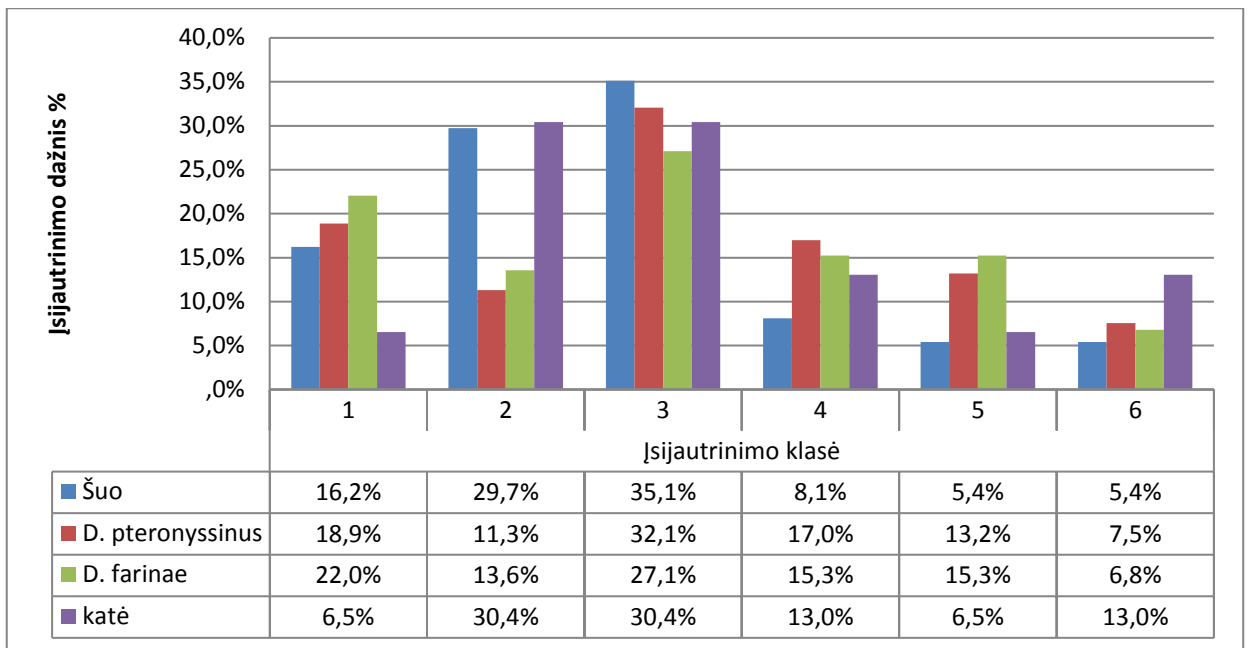
3.4 Įsijautrinimas alergenams ir jų molekuliniais komponentams pagal nustatytą įsijautrinimo klasę

Tiriamųjų įsijautrinimo buitiniams alergenams stiprumas, buvo analizuojamas atsižvelgiant į nustatytą įsijautrinimo klasę. Klasės nustatytos ImmunoCAP sistema. Alergenams sIgE koncentracijų klasės pateiktos 7 lentelėje.

7 lentelė. sIgE koncentracijų klasės.

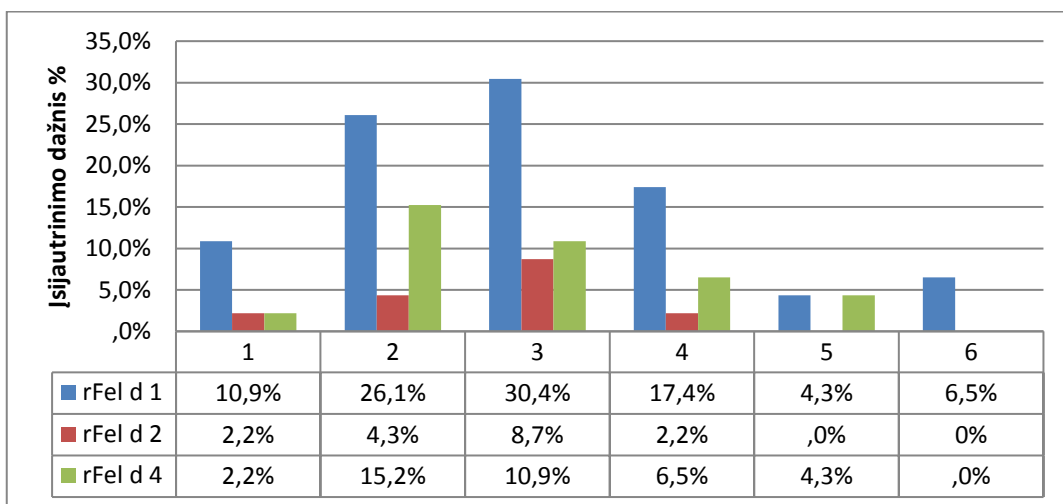
Klasė	Koncentracija (kIU/L)
0	<0,35
1	0,35–0,7
2	0,7–3,5
3	3,5–17,5
4	17,5–50
5	50–100
6	>100

Vertinant įsijautrinimo stiprumą buitinių alergenų ekstraktams, buvo nustatyta, kad daugiausia tiriamųjų buvo įsijautrinę 3 klasei (sIgE koncentracija kraujo serumo mėginiuose nustatyta 3,5-17,5 kIU/L). 6 klasė nustatyta net 13 proc. (n=6) katės alergenams įsijautrinusių pacientų. Tiriamųjų pasiskirstymas pagal įsijautrinimo buitinių alergenų ekstraktams klases, pateikiamas 3 paveiksle.



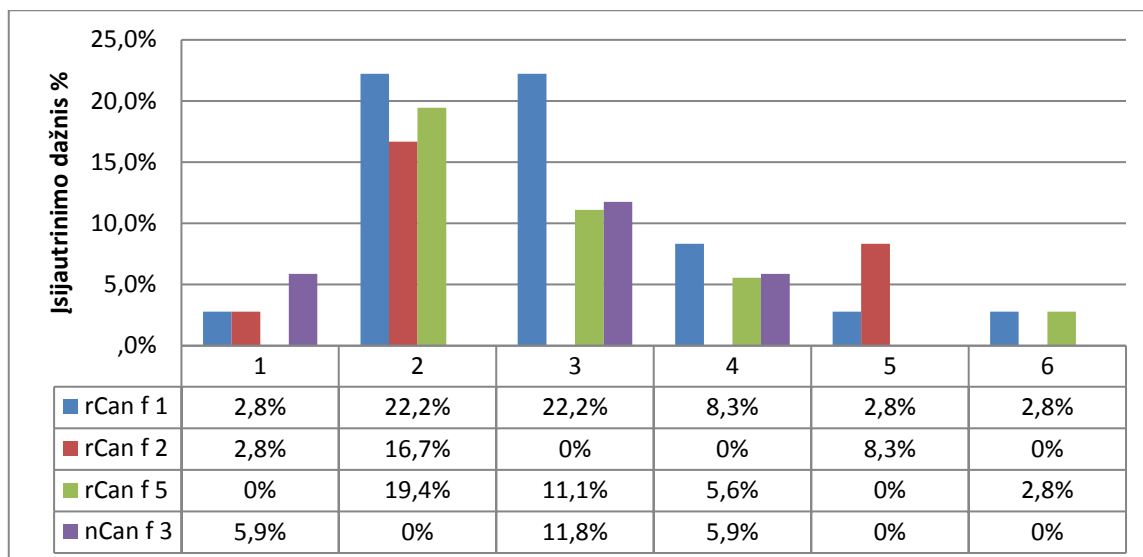
3 pav. Įsijautrinimo buitiniams alergenams stiprumas pagal nustatytą įsijautrinimo klasę.

Katės komponentams Fel d 1 ir Fel d 2 daugiausiai tiriamųjų nustatyta 3 klasė, o komponentui Fel d 4 daugiausiai tiriamųjų buvo įsijautrinę 2 klasei. Net 6,5 proc. tiriamųjų, įsijautrinusių Fel d 1 komponentui nustatyta 6 įsijautrinimo klasė. Tiriamųjų pasiskirstymas pagal įsijautrinimo katės alergenų komponentams klases, pateikiamas 4 paveiksle.



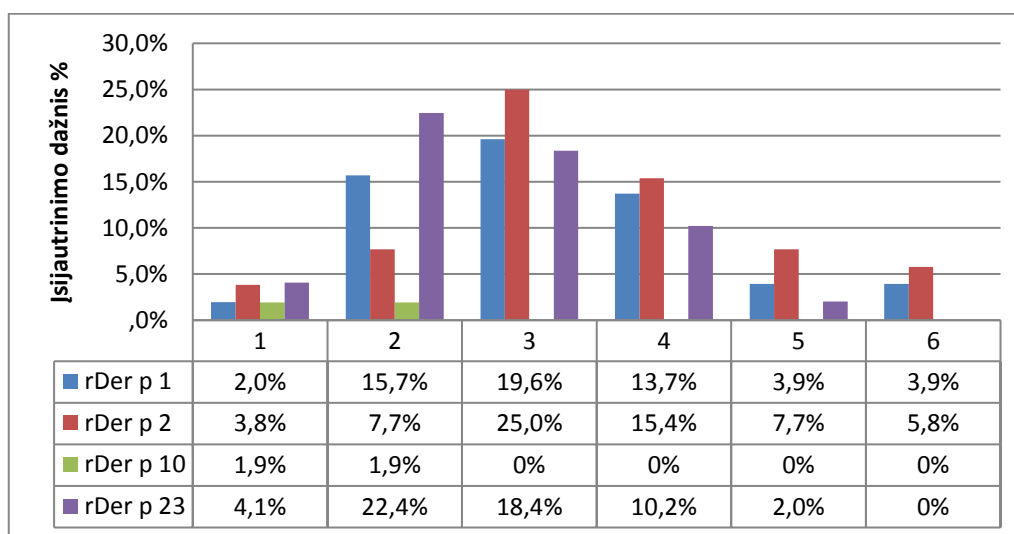
4 pav. Įsijautrinimo katės alergenų komponentams stiprumas pagal nustatytą įsijautrinimo klasę.

Daugiausiai tiriamųjų, įsijautrinusių šuns alergenų komponentams nustatyta 2 įsijautrinimo klasė. Net 22,2 proc. tiriamųjų įsijautrinusių Can f 1 komponentui nustatyta 3 klasė, o 2,8 proc. įsijautrinusių Can f 1 ir Can f 5 nustatyta 6 įsijautrinimo klasė. Tiriamųjų pasiskirstymas pagal įsijautrinimo šuns alergenų komponentams klases, pateikiamas 5 paveiksle.



5 pav. Įsijautrinimo šuns alergenu komponentams stiprumas pagal nustatytą įsijautrinimo klasę.

Įsijautrinusių NDE *D. pteronyssinus* komponentams tarpe stipriausiai tiriamieji buvo įsijautrinę komponentui Der p 2, net 5,8 proc. tiriamųjų nustatyta 6 klasė. Daugiausiai tiriamųjų buvo įsijautrinę 3 klasei. Komponentui Der p 10 stipraus įsijautrinimo nebuvo, tiriamiesiems nustatytas įsijautrinimas tik 1 ir 2 klasėms. Tiriamųjų pasiskirstymas pagal įsijautrinimo *D. pteronyssinus* alergenu komponentams klases, pateikiamas 6 paveiksle.



6 pav. Įsijautrinimo *D. pteronyssinus* alergenu komponentams stiprumas pagal nustatytą įsijautrinimo klasę.

Pagal nustatytą įsijautrinimo klasę, pacientų įsijautrinusių buitiniams alergenams ir jų molekuliniais komponentams tarpe dominavo įsijautrinimas 2 ir 3 klasei. 6 įsijautrinimo klasė nustatyta visiems buitinių alergenų ekstraktams ir pagrindiniams buitinių alergenų komponentams: Fel d 1, Can f 1, Can f 5, Der p 1 ir Der p 2. Įsijautrinimo klasė parodo alergenui sIgE koncentraciją paciento kraujo serume ir dažnai koreliuoja su pacientui pasireiškiančių klinikinių simptomų

sunkumu. Tačiau negalima vertinti vien tik pagal nustatytą sIgE koncentraciją, nes skirtingų alergenų komponentų alergizuojantis poveikis yra nevienodai stiprus. Tai įtakoja kokios baltymų šeimos priklauso alergenų komponentas ir nuo individualaus organizmo atsako, pvz.: sIgE kiekis prieš Der p 23 komponentą pacientų kraujo serume yra 5 kartus mažesnis nei pagrindinių NDE komponentų Der p 1 ir Der p 2, tačiau šis komponentas net 10 kartų stipriau aktyvuoja organizmo uždegiminius procesus [62]. Todėl alergijų diagnostika turi būti kompleksinė, susidedanti iš paciento anamnezės įvertinimo, klinikinės apžiūros, ir laboratorinių *in vivo*, *in vitro* tyrimų rezultatų interpretavimo.

3.5 Apibendrinimas

Tai yra pirmą studiją, kurioje buvo tiriami Lietuvos pacientai ir įvertintas įsijautrinimas buitinių alergenų komponentams. Šiame darbe tiriamųjų imtis buvo 106 asmenys, tačiau išsamesniems tyrimams reikėtų daug didesnės imties. Buitiniai alergenai, kaip ir visoje Europoje, taip ir Lietuvoje yra labai paplitę. Dominuoja specifiniai komponentai, tokie, kaip Fel d 1, Can f 1, Can f 5, Der p 1, Der p 2, Der p 23. Monosensibilizacijos Can f 5 komponentui atveju, pacientams nereikia vengti visų šunų, nes kontaktas su patelėmis klinikinių simptomų nesukels. Alergeno identifikavimo iki molekulinio lygmens dėka galima nustatyti ar pacientas yra įsijautrinęs kryžmiškai reaguojantiems alergenų komponentams, prognozuoti su kokiais kitais gyvūnais kontakto metu gali pacientui pasireikšti klinikiniai alergijos simptomai. Molekulinė alergijos diagnostika svarbi ligos diagnozės nustatymui, alerginių reakcijų rizikos įvertinimui, taip pat prieš taikant gydymą alergenui specifinę imunoterapiją. Šiai dienai tai vienintelis gydymo būdas, kuris ne tik malšina ligos simptomus, bet veikia į ligos etiopatogenezę. Siekiant gero terapinio efekto svarbu iširti paciento įsijautrinimą iki molekulinio lygmens, kad tolerancija būtų vystoma tikrajam alergenui. Komponentinė diagnostika suteikia galimybę pacientams tikslingiau vengti alergijos šaltinio, sumažėja provokacinių mėginių poreikis, efektyviau taikoma specifinė imunoterapija.

IŠVADOS

1. Įsijautrinimo buitiniams alergenams dažnis ištirtas 106 asmenų, kuriems įtariami alerginiai susirgimai, kraujo serumo mėginiuose. Nustatyta, kad įsijautrinimas šuns alergenų ekstraktui yra 34,9 proc., katės alergenų ekstraktui - 43,0 proc., *D. farinae* alergenų ekstraktui - 55,6 proc., *D. pteronyssinus* alergenų ekstraktui - 50,0 proc. Didžiausias įsijautrinimas buvo nustatytas namų dulkių erkių ekstraktams. Tyriamoje asmenų grupėje vyravo polisensibilizacija visiems šiame darbe tirtiems buitiniams alergenams (24,5 proc.). Monosensibilizuotų pacientų šuns alergenams buvo 2, *D. farinae* – 2, *D. pteronyssinus* - 1 pacientas. Katės alergenams monosensibilizuotų pacientų nebuvo nustatyta.
2. Ištirtas įsijautrinimo buitiniams alergenams dažnis skirtingo amžiaus grupėse bei tarp lyčių. Statistiškai reikšmingų skirtumų skirtingose amžiaus grupėse bei tarp lyčių nebuvo ($p>0,05$).
3. Ištirtas įsijautrinimo buitinių alergenų komponentams dažnis. Įsijautrinimo tyrimas, Lietuvoje surinktuose mėginiuose su ImmunoCAP Phadia® 100 diagnostine sistema atliktas pirmą kartą.
 - Nustatyta, kad iš 46 katės alergenams įsijautrinusių asmenų, 89,1 proc. įsijautrinę Fel d 1 komponentui, 17,4 proc. - Fel d 2, 39,1 proc. - Fel d 4. Iš 37 šuns alergenams įsijautrinusių asmenų, 62,2 proc. įsijautrinę Can f 1 komponentui, 27,0 proc. - Can f 2, 10,8 proc. - Can f 3, 37,8 proc. - Can f 5. Iš 53 namų dulkių erkių *D. pteronyssinus* alergenams įsijautrinusių asmenų 56,6 proc. įsijautrinę Der p 1 komponentui, 64,2 proc. Der p 2, 54,7 proc. Der p 23. Mažiausiai tiriamųjų buvo įsijautrinę *D. pteronyssinus* komponentui Der p 10 (3,8 proc.).
 - Daugiausiai tiriamųjų buvo monosensibilizuoti Fel d 1 (56,5 proc.), Can f 1 (13,5 proc.) ir Der p 23 (9,4 proc.) komponentams. Polisensibilizuoti: Fel d 1 ir Fel d 4 - 21,7 proc. komponentams. Nustatytas kryžminis įsijautrinimas tarp Fel d 2 ir Can f 3 komponentų buvo 11,1 proc., tarp Fel d 4 ir Can f 1 buvo 51,9 proc., tarp Fel d 4 ir Can f 2 – 25,9 proc.
4. Pagal nustatytą įsijautrinimo klasę, pacientų įsijautrinusių buitiniams alergenams ir jų molekuliniais komponentams dominavo įsijautrinimas 2 ir 3 klasei. 6 klasės įsijautrinimas buvo nustatytas buitinių alergenų ekstraktams ir pagrindiniams buitinių alergenų komponentams: Fel d 1, Can f 1, Can f 5, Der p 1 ir Der p 2.

SUMMARY

Inga Aukštikalnė. “Research on the sensitization effects of indoor allergens and their molecular components”.

Aim of the work: to find out the frequency of sensitization to indoor allergens and their components in a group of patients from Lithuania who are suspected to have allergic diseases.

Objectives: to evaluate the prevalence of specific IgE (sIgE) to indoor allergens and their specific components. To investigate the frequency and the distribution of monosensitization, polysensitization, sIgE cross-reactivity reactions to allergen components. The results should present information about strengths of sensitization for indoor allergens including sensitization classes. The frequencies and differences of sensitization to the indoor allergen extracts in different genders and age groups should be evaluated.

Methods: During the period between August 2017 and April 2018, a study was performed on 106 patients who were suspected to have allergic diseases. sIgE against cat, dog and house dust mites (HDM) *D. pteronyssinus* ir *D. farinae* were measured using OPTIGEN®CLA with a mixture of 36 allergens palette and the ImmunoCAP Phadia® 100 diagnostic systems. The sensitization to allergens was accepted as positive starting from 1st class (for OPTIGEN®CLA system >27 LU, for ImmunoCAP Phadia® 100 diagnostic system $\geq 0,35$ kIU/L. Statistical analysis was performed using *SPSS-17.0 for Windows* and *Microsoft Office Excel 2016*.

Results: Among patients from Lithuania that were suspected to have allergic diseases 34,9 % were sensitized to dog, 43,0 % to cat, 55,6 % to *D. farinae* and 50,0 % to *D. pteronyssinus* allergens extracts. The results revealed that there is no relevant differences between analyzed gender and age groups ($p > 0,05$). Patients sensitized to cat allergen extract had 89,1 % sensitization to Fel d 1, 17,4 % to Fel d 2, 39,1 % to Fel d 4. For patients sensitized to dog allergen extract had 62,2 % sensitization to Can f 1, 27,0 % to Can f 2, 10,8 % to Can f 3, 37,8 % to Can f 5. The sensitization to house dust mite *D. pteronyssinus* components was found 56,6 % to Der p 1, 64,2 % to Der p 2, 3,8 % to Der p 10 and 54,7 % to Der p 23. The highest frequency of patients were monosensitized to Fel d 1 (56,5 %), Can f 1 (13,5 %) and Der p 23 (9,4 %) components. There were identified 11,1 % cross-reactivity frequencies between Fel d 2 and Can f 3, 51,9 % between Fel d 4 and Can f 1, 25,9 % between Fel d 4 and Can f 2. Between identified sensitization classes, most common sensitization classes was 2nd and 3rd.

Conclusions: HDM allergens has the most prevalence between researched indoor allergens. Most patients are sensitized to Fel d 1, Can f 1, Can f 5, Der p 1, Der p 2, Der p 23 components. The findings were that there is no relevant difference between gender and age groups ($p > 0,05$).

Keywords: allergy, indoor allergens, allergen components, sIgE, diagnostics.

PADĖKA

Dėkoju dr. Astai Miškinienei ir UAB “Imunodiagnostika” kolektyvui už pagalbą ir suteiktą galimybę atlikti šį tyrimą.

LITERATŪROS ŠALTINIAI

1. Europos imunoterapijos deklaracija.
[naujienos.vu.lt/wp-content/uploads/2012/02/IT_deklaracija_galutinis.pdf]
2. Alerginiai susirgimai Lietuvoje - Higienos institutas.
[www.hi.lt/uploads/pdf/leidiniai/.../Ligotumasproc.20alergijomisproc.20Lietuvoje.pdf]
3. Kuehn A, Hilger Ch. Animal allergens: common protein characteristics featuring their allergenicity. *Front. Immunol.* 2015
4. Zahradnik E, Raulf M. Animal allergens and their presence in the environment. *Frontiers in Immunology.* 2014, Volume 5
5. Konradsen JR, Fujisawa T, van Hage M, et al. Allergy to furry animals: New insights, diagnostic approaches, and challenges. *J Allergy Clin Immunol.* 2015; 135: 616–25.
6. Borres MP, Ebisawa M, Eigenmann PA . Use of allergen components begins a new era in pediatric allergology. *Pediatr Allergy Immunol.* 2011.
7. Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R et al. EAACI Molecular Allergology User's Guide. 2016.
8. Steveling-Klein E H. Allergen-specific immunotherapy. *European medical journal.* 2016
9. Skrickienė L, Miškiniekė A. Laboratorinių tyrimų svarba gydant alergiškus vaikus Vilniaus miesto Centro poliklinikoje. *Sveikatos mokslai*, 2011, Volume 21, Number 6, p. 5-9, ISSN 1392-6373
10. Dapkevičiūtė A, Einikytė R, Norkūnienė J, Skrickienė L et al. Ambulatorinių pacientų inhaliacinės ir maisto alergijos paplitimo vertinimas pagal sIgE tyrimus. *Vaikų pulmonologija ir alergologija.* 2016 m. gegužė, XIX tomas, Nr. 1 (6041–6048)
11. Johansson SG, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 May;113(5):832-6.
12. Ėmužytė R, Firantienė R, Kinčinionė O, Kalibatienė D. Alergenams specifinių imunoglobulinų E klinikinė reikšmė diagnozuojant alergiją: nuo alergenų šaltinio iki jų komponentų nustatymo molekulinės alergologijos metodais. *Medicinos teorija ir praktika.* 2013 - T. 19 (Nr. 3.2), 7–14 p.
13. Bagdonaitė L. Klinikinės imunologijos praktikos užduotys. *Mokomoji knygelė.* Vilnius, 2013. 17-21 p.
14. Gell PGH, Coombs RRA, eds. *Clinical Aspects of Immunology.* 1st ed. Oxford, England: Blackwell; 1963. Section IV, Chapter 1.

15. Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, et al. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition. New York: Garland Science and IgE., 2001.
16. Ishizaka K, Ishizaka T, Hornbrook MM. Physico-chemical properties of human reaginic antibody. IV. Presence of a unique immunoglobulin as a carrier of reaginic activity. *J. Immunol.* 1966. 97 (1): 75–85.
17. Johansson SG, Bennich H. Immunological studies of an atypical (myeloma) immunoglobulin. *Immunology.* 1967,13:381-94.
18. Buterlevičiūtė N, Paltarackienė V, Marčiukaitienė V, Cirtautas S et al. Šiuolaikinis požiūris į bendrojo imunoglobulino E reikšmę diagnozuojant alergines ligas. *Vaikų pulmonologija ir alergologija.* 2015 m. gruodis, XVIII tomas, Nr. 2 (5922–5929) ISSN 1392–5261.
19. Winter WE, Hardt NS, Fuhrman S. Immunoglobulin E: importance in parasitic infections and hypersensitivity responses. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2000, 124 (9): 1382–5.
20. Novak N, Kraft S, Bieber T. IgE receptors. *Curr. Opin. Immunol.* 2000, 13 (6): 721–6.
21. Tamošiūnas V, Pumputienė I, Kvietkauskaitė R. Imunologijos ir imunotechnologijos pagrindai. Vadovėlis, VDU, Versus Aureus, 2015.
22. Gerald W, Volcheck MD. *Clinical Allergy. Diagnosis and Management.* Mayo Clinic, USA, 2009.
23. Dubakienė R. *Klinikinė alergologija.* Vilniaus universiteto leidykla. Vilnius, 2011.
24. Walker S, Morton C, Sheikh A. Diagnosing allergy in primary care: are the history and clinical examination sufficient? *Prim Care Respir J.* 2006 Aug;15(4):219-21.
25. Rudzevičienė O. *Vaikų alergija maistui. Mokomoji knyga.* VU leidykla, 2015, I SBN 978-609-459-604-9
26. *Skin prick testing for the diagnosis of allergic disease: A manual for practitioners.* Australasian Society of Clinical Immunology and Allergy, ASCIA 2016 [https://www.allergy.org.au/images/stories/pospapers/ASCIA_SPT_Manual_March_2016.pdf]
27. Van der Spuy D A et al. Diagnosis of food allergy: History, examination and in vivo and in vitro tests. *S Afr Med J,* 2015.
28. Heinzerling et al. The skin prick test – European standards. *Clinical and Translational Allergy,* 2013.

29. Bernstein DI, Wanner M, Borish L, Liss GM et al. Twelve-year survey of fatal reactions to allergen injections and skin testing. *J Allergy Clin Immunol.* 113:1129-36, 2004.
30. Savi E, Peveri S, Cavaliere C, Masieri S et al. Laboratory tests for allergy diagnosis. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2018 Jan-Feb;32(1 Suppl. 1):25-28.
31. Schwindt CD, Hutcheson PS, Leu S-Y, Dykewicz MS. Role of intradermal skin tests in the evaluation of clinically relevant respiratory allergy assessed using patient history and nasal challenges. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2005 ir 94:627–633.
32. Lazzarini R, Duarte I, Ferreira A L. Patch tests. *An Bras Dermatol.* 2013;88(6):879-88
33. Agache I et al. In vivo diagnosis of allergic diseases—allergen provocation tests. *Allergy.* 2015.
34. Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. *Clin Exp Allergy.* 2010 Oct;40(10):1442-60.
35. Tanno L K, Calderon M A, Li J, Casale T, Demoly P. Updating Allergy and/or Hypersensitivity Diagnostic Procedures in the WHO ICD-11 Revision. *J allergy clin immunol pract,* 2016.
36. Noon L, Cantab BC. Prophylactic inoculation against hay fever. *Lancet,* 1911,1572–3.
37. Voorhorst R, Spieksma-Boezeman MIA, Spieksma FT. Is a mite (*Dermatophagoides* sp.) the producer of the house-dust allergen? *Allerg Asthma.* 1964;10:329-34.
38. Caraballo L, Puerta L, Martínez B, Moreno L. Identification of allergens from the mite *Blomia tropicalis*. *Clin Exp Allergy.* 1994: 24: 1056–60.
39. Arruda LK, Fernandez-Caldas E, Naspitz CK, Montealegre F et al. Identification of *Blomia tropicalis* allergen Blo t 5 by cDNA cloning. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1995: 107: 456–7.
40. Tovey ER, Chapman MD, Wells CW, Platts-Mills TA. The distribution of dust mite allergen in the houses of patients with asthma. *Am Rev Respir Dis.* 1981: 124: 630–5.
41. Tovey ER, Chapman MD, Platts-Mills TA. Mite faeces are a major source of house dust allergens. *Nature* 1981: 289: 592–3.
42. EAACI Global atlas of allergy. Published by the European Academy of Allergy and Clinical Immunology, 2014
43. Sporik R, Holgate ST, Platts-Mills TA, Cogswell JJ. Exposure to house-dust mite allergen (*Der p I*) and the development of asthma in childhood. A prospective study. *N Engl J Med.* 1990 Aug 23; 323(8):502-7. m.

44. Demoly P, Matucci A, Rossi O, Vidal C. A year-long, fortnightly, observational survey in three European countries of patients with respiratory allergies induced by house dust mites: Methodology, demographics and clinical characteristics. *BMC Pulm Med.* 2016; 16: 85.
45. Calderón MA, Linneberg A, Kleine-Tebbe J, De Blay F et al. Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? *P. J Allergy Clin Immunol.* 2015 Jul; 136(1):38-48.
46. Colloff M.J. Dust mites. Springer, CSIRO Publishing, (Dordrecht, The Netherlands). 2009.
47. Moisés A. Calderón MA, Linneberg A, Kleine-Tebbe J et al. Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? *Journal of Allergy and Clinical Immunology* Volume 136, Issue 1, July 2015, Pages 38-48.
48. Bousquet PJ, Chinn S, Janson C, Kogevinas M et al. Geographical variation in the prevalence of positive skin tests to environmental aeroallergens in the European Community Respiratory Health Survey. *Allergy*, 62 (2007), p. 301-309.
49. Wahn U, Lau S, Bergmann R, Kulig M et al. Indoor allergen exposure is a risk factor for sensitization during the first three years of life. *J Allergy Clin Immunol*, 99 (1997), p. 763-769.
50. Worm M, Lee HH, Kostev K. J. Prevalence and treatment profile of patients with grass pollen and house dust mite allergy. *Dtsch Dermatol Ges.* 2013 Jul; 11(7):653-61.
51. Downie SR, Andersson M, Rimmer J, Leuppi JD et al. Symptoms of persistent allergic rhinitis during a full calendar year in house dust mite-sensitive subjects. *Allergy.* 2004 Apr; 59(4):406-14.
52. Moingeon P. Progress in the development of specific immunotherapies for house dust mite allergies. *Expert Rev Vaccines.* 2014,1473., 13:1463.
53. Batard T, Baron-Bodo V, Martelet A, Le Mignon M, et al. Patterns of IgE sensitization in house dust mite-allergic patients: implications for allergen immunotherapy. 2016, 71(2):220-9.
54. Canonica GV, Baena Cagnani CE, Bousquet J, Bousquet PJ et al. Recommendations for standardization of clinical trials with Allergen Specific Immunotherapy for respiratory allergy. A statement of a World Allergy Organization (WAO) taskforce. *Allergy.* 2007: 62: 317–324.
55. Chapman M. D, Wood R. A. The role and remediation of animal allergens in allergic diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001, Suppl. 107 : S414 – S421

56. Almquist C, Wickman M, Perfetti L, et al. Worsening of asthma in children allergic to cats, after indirect exposure to cat at school. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 163: 694–8.
57. Ritz BR, Hoelscher B, Frye C, Meyer I et al. Allergic sensitization owing to ‘second-hand’ cat exposure in schools. *Allergy* 2002; 57: 357–61.
58. Brunekreef B, Von Mutius E, Wong G, Odhiambo J et al. Exposure to cats and dogs, and symptoms of asthma, rhinoconjunctivitis, and eczema. *Epidemiology*. 2012, 23:742-750.
59. Haftenberger M, Laußmann D, Ellert U, et al. Prevalence of sensitisation to aeroallergens and food allergens. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2013; 56: 687–97.
60. Schmitz R, Ellert U, Kalcklosch M, Dahm S et al. Patterns of sensitization to inhalant and food allergens – findings from the German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013, 162: 263–70.
61. Wickman M, Asarnoj A, Tillander H, et al. Childhood-to-adolescence evolution of IgE antibodies to pollens and plant foods in the BAMSE cohort. *J Allergy Clin Immunol*. 2014. 133: 580–2.
62. Laboratorijos naujienos: naujas namų dulkių erkių molekulinis alergenai. [<https://allergomedica.lt/2017/11/05/laboratorijos-naujienos-naujas-namu-dulkiu-erkiu-molekulinis-alergenai/>]
63. Hitachi Chemical Diagnostics, Inc. [http://www.hcdiagnostics.com/idc/groups/hcd/documents/supportingdocumentpdf/poc_007152.pdf]
64. ImmunoCAP Specific IgE [http://www.phadia.com/Global/Aproc.20Documentproc.20Library/Allergy/Promotionproc.20Material/Productproc.20andproc.20Assayproc.20Sheets/Assays/AssaySheet_ImmunoCAP_Specific_IgE.pdf]
65. Product catalog 2016. [<http://www.phadia.com/Global/Aproc.20Documentproc.20Library/Productproc.20Catalogues/Product-Catalog-2015.pdf>]
66. ImmunoCAP - Sanford Laboratories.doc [www.sanfordlaboratories.org/ClassLibrary/Page/.../ImmunoCAP.doc; Specific IgE / Total IgE - CDC https://www.cdc.gov/.../al_ige_d_met_specific_ige_total_ige.pdf ; Test Principle ImmunoCAP Specific IgE. <http://www.phadia.com/Products/Allergy-testing-products/ImmunoCAP-Lab-Tests/sIgE/Test-Principle/>]

67. Goikoetxea MJ, Sanz ML, García BE, Mayorga C et al. Recommendations for the Use of In Vitro Methods to Detect Specific Immunoglobulin E: Are They Comparable? *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2013; Vol. 23(7): 448-454
68. Heinzerling L M, Burbach G J, Edenharter G, Bachert C et al. GA2LEN skin test study I: GA2LEN harmonization of skin prick testing: novel sensitization patterns for inhalant allergens in Europe. *Allergy*. 2009; 64: 1498–1506
69. Gustafsson D, Sjo berg O, Foucard T. Development of allergies and asthma in infants and young children with atopic dermatitis ± a prospective follow-up to 7 years of age. *Allergy*. 2000; 55: 240±245
70. Alergenų ekstraktų sudėtis – raktas į teisingą diagnozę. [<https://allergomedica.lt/2017/05/31/alergenu-ekstraktu-sudetis-raktas-i-teisinga-diagnoze/>]
71. Sun B, Zheng P, Zhang Xi et al. Prevalence of allergen sensitization among patients with allergic diseases in Guangzhou, Southern China: a four-year observational study. *Multidisciplinary Respiratory Medicine*. 2014, 9:2
72. Eder K, Becker S, San Nicol  M, Berghaus A. Usefulness of component resolved analysis of cat allergy in routine clinical practice. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2016, 12:58
73. Grönlund H, Saarne T, Gafvelin G, van Hage M. The Major Cat Allergen, Fel d 1, in Diagnosis and Therapy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010;151:265–274
74. Bouaziz A, Walgraffe D, Bouillot C, Herman J. et al. Development of recombinant stable house dust mite allergen Der p 3 molecules for component-resolved diagnosis and specific immunotherapy. *Clinical & Experimental Allergy*, 2015, 45, 823–834
75. Bronnert M, Mancini J, Birnbaum J, Agabriel C, et al. Component-resolved diagnosis with commercially available D. pteronyssinus Der p 1, Der p 2 and Der p 10: relevant markers for house dust mite allergy. *Clinical & Experimental Allergy*, 2012; 42, 1406–1415
76. ImmunoCap rDer p 10. [http://www.phadia.com/Global/ImmunoCAPproc.20Allergens/Productproc.20Leaflets/Product_Leaflet_d205_rDer_p_10.pdf]
77. Becker S, Schlederer T, Kramer MF, Haack M et al. Real-Life Study for the Diagnosis of House Dust Mite Allergy – The Value of Recombinant Allergen-Based IgE Serology. *Int Arch Allergy Immunol*. 2016; 170(2):132
78. Curin M, Reininger R, Swoboda I, Focke M et al. Skin Prick Test Extracts for Dog Allergy Diagnosis Show Considerable Variations Regarding the Content of Major and Minor Dog Allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;154:258–263

79. Schoos AM, Bønnelykke K, Chawes BL, Stokholm J, Bisgaard H, Kristensen B. Precision allergy: Separate allergies to male and female dogs. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2017;5:1754-1756.
80. Grönlund H, Saarne T, Gafvelin G, van Hage M. The Major Cat Allergen, Fel d 1, in Diagnosis and Therapy. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;151:265–274
81. Luengo O, Cardona V. Component resolved diagnosis: when should it be used? *Clinical and Translational Allergy.* 2014, 4:28
82. Pomés A, Chapman M D, Wünschmann S. Indoor Allergens and Allergic Respiratory Disease. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2016,16:43
83. Liccardi G, Calzetta L, Milanese M, Lombardi C et al. Critical aspects in dog allergen immunotherapy (DAI). May Component Resolved Diagnosis (CRD) play a role in predicting the efficacy? *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 2018 DOI:10.1080/21645515.2018.1434383
84. Basagaña M , Luengo O , Labrador M , Garriga T et al. Component-Resolved Diagnosis of Dog Allergy. *J Invest Allergol Clin Immunol.* 2017; Vol. 27(3): 185-187