



Molekularna dijagnostika alergijskih bolesti

Molecular allergology in the management of allergic diseases

Blaženka Kljaić Bukvić^{1,2,3} , Mario Blekić^{1,2,3}, Marija Pečnjak¹

¹ Odjel za pedijatriju, Opća bolnica „Dr Josip Benčević“, Slavonski Brod

² Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek

³ Medicinski fakultet u Osijeku, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek

Ključne riječi

MOLEKULARNA ALERGOLOGIJA; ALERGIJSKA
SENZITIZACIJA; KRIŽNA REAKTIVNOST; GLAVNI ALERGEN

Keywords

MOLECULAR ALLERGOLOGY; ALLERGIC SENSITIZATION;
CROSS-REACTIVITY; MAJOR ALLERGEN

SAŽETAK. Novija saznanja i karakterizacija molekularne strukture alergenskih izvora koji su odgovorni za alergijsku senzitivaciju pridonijeli su etiološkom i individualno prilagođenom liječenju i nadzoru alergijskih bolesti. Molekularna alergologija omogućila je bolju standardizaciju alergenskih izvora u skladu s europskom legislativom. Također, poboljšala je etiološku dijagnozu uzročnog alergena. Na kraju, određeni profili senzitivacije vezani su uz određene kliničke fenotipove te se mogu primjenjivati za predviđanje ishoda kliničkih intervencija. U prvom redu to je planiranje provokacijskih pokusa te određivanje alergena za provođenje alergenske imunoterapije. Nazire se i moguća uloga molekularne alergologije kao biomarkera u progresiji alergijskih bolesti tijekom djetinjstva, što otvara mogućnost ranih preventivnih intervencija.

SUMMARY. The latest findings and characterization of the molecular structure of allergenic sources responsible for allergic sensitization have contributed to etiological and individually tailored treatment and monitoring of allergic diseases. Molecular allergology has enabled better standardization of allergenic sources in accordance with European legislation. It has also improved the etiological diagnosis of the causative allergen. Ultimately, certain sensitization profiles are associated with specific clinical phenotypes and can be applied to predict the outcomes of clinical interventions. Primarily, this includes planning provocation tests and determining allergens for allergen immunotherapy. The potential role of molecular allergology as a biomarker in the progression of allergic diseases during childhood is emerging, opening the possibility of early preventive interventions.

Dijagnoza alergijskih bolesti temelji se na iscrpnoj anamnezi uz pokušaj identifikacije uzročnog alergena kroz otkrivanje specifičnih imunoglobulina E (sIgE) u krvi ili koži. Konvencionalna dijagnostika za dokaz sIgE primjenjuje alergenske ekstrakte, dobivene iz različitih alergenskih izvora poput peludnih zrnaca, grinja iz kućne prašine ili dlake krznjenih životinja. Alergenski ekstrakti sadrže brojne komponente, molekule (glikozilirane i neglikozilirane proteine, lipide i druge), od kojih su samo neke odgovorne za alergijsku reakciju, a velika većina nebitna i za alergijsku reakciju i za dijagnozu alergija. Napredak molekularne biologije u posljednjih trideset godina omogućio je identifikaciju pojedinačnog alergena na molekularnoj razini. Do sada je identificirano i opisano više od 4.900 različitih alergenskih molekula, koje se nalaze u velikoj bazi alergena (www.allergome.org). Brojni navedeni alergeni već su dostupni ili će biti dostupni za *in vitro* dijagnostiku, kao prirodni ili rekombinantni alergeni. Primjena pojedinačnih molekula alergena, umjesto alergenskih ekstrakta, najavila je novu eru visokorazlučive molekularne dijagnostike alergija, definiranu s više naziva: komponentna dijagnostika (engl. *component resolved diagnostics*, CRD), dijagnostika komponentama alergena, kao i molekularna dijagnostika alergija (engl. *molecular allergy diagnosis*, MAD).¹ Razvoj molekularne alergologije

donio je napredak u obilježavanju i standardizaciji alergenskih ekstrakata s formiranjem detaljnijeg zakonodavnog okvira za njihovu pripremu, a omogućio je i precizniju dijagnozu alergija razlikovanjem alergijske senzitivacije i križne reaktivnosti. Osim toga, različiti profili senzitivacije vezani su uz različite fenotipove, rizike alergijskih reakcija te klinički odgovor na preporučenu alergensku imunoterapiju.²

Stoga se u istom smislu upotrebljava još i naziv *precizna molekularna dijagnoza alergija* (engl. *precision allergy molecular diagnostic applications*, PAMD@).³ Za iskorištavanje punog potencijala ove molekularne metode u kliničkoj praksi potrebna je, osim znanja, i racionalna primjena u dijagnostici („razmišljaj na molekularnoj razini; koristi molekule kada je potrebno“).

Definicija i pregled alergenskih molekula

Aergen je bilo koja molekula, koja veže IgE protutijelo.⁴ Većina, ali ne i svi alergeni, pokretači su senzitivacije, induciraju proizvodnju alergena sIgE antitijela.

✉ Adresa za dopisivanje:

Izv. prof. dr. sc. Blaženka Kljaić Bukvić, dr. med.,

<https://orcid.org/0000-0001-9189-2427>

Odjel za pedijatriju, OB „Dr Josip Benčević“, Andrije Štampara 42, 35000 Slavonski Brod,

e-pošta: blazenska.bukvic@gmail.com

Nesenzitizirajući alergeni mogu pokrenuti simptome alergije samo ako je prethodno uslijedio kontakt s križno-reaktivnim alergenom koji je pokrenuo senzitivaciju. Primjer je senzitivirajući alergen breze Bet v1 i križno-reaktivni, nesenzitizirajući holomogni alergen jabuke, Mal d1.⁵ *Glavni alergen* (engl. *major allergen*) jest alergen koji prepoznaju IgE protutijela više od 50% pacijenata alergičnih na alergenski izvor, dok *sporedni alergen* (engl. *minor allergen*) prepoznaje manje od 50% pacijenata. Većinom, glavni alergen veže velik dio sIgE te ima dominantnu kliničku važnost. Sporedni alergen obično veže manji dio sIgE. *Križna reaktivnost* obilježena je prisutnošću IgE protutijela koje prepoznaje oba alergena. Protutijelo obično pokazuje veći afinitet prema jednom alergenom.

Molekule alergena su proteini, odnosno glikoproteini, koji pripadaju obiteljima proteina zajedničkog podrijetla. Najveći broj klinički značajnih alergena biljnog podrijetla, više od 40%, pripada među šest proteinskih obitelji: 2S albumini, nespecifični lipidni transferirajući protein (engl. *non-specific lipid transfer proteins*, nsLTP), legumini, vicilini, profilini i patogenezi-povezan-10 protein (engl. *pathogenesis-related-10 protein*, PR-10 protein).

Druge obitelji proteina poput ekspanzima, polkalcinina, pektat liaza i defenzinu sličnog proteina imaju značajno manji broj klinički značajnih, glavnih alergena. Također nekolicina obitelji proteina životinjskog podrijetla (cistein proteaze, lipokalcini, tropomiozini i parvalbumini) sadrži više od 70% relevantnih alergena.⁶

Molekularna alergologija – precizna dijagnoza, procjena simptoma i provokacijski testovi

Više od jednog stoljeća dijagnostika i terapija alergijskih bolesti provodila se primjenom alergenskih ekstrakta iz prirodnih izvora. Sadržaj alergenskog ekstrakta teško je precizno odrediti, a može se razlikovati od serije do serije. Naime, različiti proizvođači primjenjuju različite tehnološke procese, imaju različite dodatke te različitu koncentraciju alergena u alergenskom ekstraktu. Unatoč preporukama o standardizacijskim postupcima i legislativi, standardizacija alergenskih ekstrakata koji se primjenjuju za kožni ubodni test (engl. *skin prick test*, SPT) ili sIgE još je jedno od otvorenih pitanja u alergologiji.⁷ Krajem osamdesetih godina prošlog stoljeća proizvedeni su prvi rekombinantni alergeni breze, grinje i stršljena. Od tada su proizvedene brojne prirodne i rekombinantne alergenske molekule. Određivanje pojedinačnih alergenskih molekula, glavnih i sporednih, omogućuje preciznu dijagnostiku alergijskih bolesti s definiranjem senzitivacije na glavne alergene odgovorne za kliničku reaktivnost i senzitivacije na sporedne alergene s malim ili nikakvim učinkom na alergijsku reakciju.

Osim identifikacije uzročnog alergena, omogućuje procjenu težine kliničke reakcije.

U djece alergične na bjelanjčevine kravljeg mlijeka određivanjem sIgE na molekule alergena omogućuje se razlikovanje djece senzitivirane na kazein (Bos d 8) s visokim rizikom za anafilaksiju i djece senzitivirane na beta-laktoglobulin (Bos d 5) i alfa-laktalbumin (Bos d 4), čiji je rizik za anafilaksiju niži i kod kojih možemo očekivati blaže simptome, u obliku kutanih ili gastrointestinalnih simptoma.⁶ Drugi primjer je alergija na jaje, kod koje nalaz povišenih vrijednosti sIgE na ovomukoid (Gal d 1) upućuje na rizik od anafilaksije. Molekularna alergologija omogućava i procjenu potencijalnog rizika u provokacijskim pokusima. Naime, širi raspon vrijednosti sIgE na kazein od 0,95 kU/L do 10,0 kU/L koji je različit ovisno o primjenjenim testovima u različitim istraživanjima prediktivan je za pozitivan provokacijski pokus.⁸⁻¹¹ Vrijednosti sIgE na ovomukoid iznad 4,4 Ku/l povezane su s pozitivnim provokacijskim pokusom u djece.¹² Druge molekule jaja, poput ovalbumina (Gal d 2) i ovotransferina (Gal d 3), vrlo su rijetko povezane s razvojem simptoma tijekom provokacijskog pokusa. Kazein i ovomukoid su termostabilni, alergogenost zadržavaju i nakon termičke obrade namirnica. Stoga MA omogućuje i planiranje ne samo provokacijskog pokusa, nego i odabira načina pripreme hrane za provokaciju (termički obrađena/svježa). SIgE na kazein i ovomukoid povezani su i s perzistencijom alergije.¹³ Na kraju, MA omogućuje prikaz križne reaktivnosti: u djece alergične na pelud breze senzitivacija na kikiriki može biti samo odraz klinički beznačajne križne reaktivnosti između PR-10 proteina Bet v1 (glavnog proteina alergena breze) i Ara h 8.

Molekularna alergologija – dijagnostički postupnik: „od simptoma do molekula“ i obrnuto

Preporučeni postupnik u identifikaciji uzročnog alergena pristup je koji započinje iscrpnom anamnezom i uvidom u kliničke simptome, a nastavlja se izvedbom *prick* testom i određivanjem sIgE na ekstrakte alergena („od simptoma do molekule“). Ukoliko ovim pristupom, identificiramo alergen, završavamo obradu. Međutim, najčešće uslijede rezultati s multiprim pozitivnim sIgE-om. Stoga u slijedećim situacijama, poželjno je završiti dijagnostički postupnik određivanjem sIgE na pojedine molekule alergena:

- multiple senzitivacije na različite vrste peludi s podudarnom sezonom polenacija
- simptomi na brojne vrste biljne hrane zbog moguće križne reaktivnosti
- multiple senzitivacije na alergene krznjenih životinja
- alergenski izvori s različitim pojedinačnim alergenima (venomi)
- propisivanje alergenske imunoterapije.

Drugi mogući pristup molekularnoj dijagnostici nazvan je „od molekule do simptoma“, kada bi započeli s probirom na IgE senzitivacijski profil na velik broj alergena i alergenskih molekula. Ovaj pristup ima ograničenu vrijednost u praćenju alergijskih bolesti iz više razloga: ograničeni paneli alergena, visoki novčani troškovi, ali i dobivanje velikog broja pozitivnih sIgE rezultata koji su klinički irelevantni. Opravdano ga je primijeniti u složenim dijagnostičkim slučajevima, kada prethodna dijagnostika nije dala jednoznačni rezultat, što se može očekivati kod polisenzitizacije ili otkrivanja/isključivanja klinički relevantnih križno-reaktivnih alergena. Nakon molekularne dijagnostike, slijedi još detaljnija anamneza te provokacijski pokus.⁶

Molekularna alergologija – biomarker za progresiju alergijskih bolesti

Određivanje molekula alergena može biti korisno za procjenu težine kao i daljnega kliničkog tijeka bolesti. Multicentrična studija o alergijama u Njemačkoj (engl. *Multicentric allergy study*, MAS) koja je prospektivno pratila kohortu djece od rođenja, pokazuje postupno širenje IgE odgovora na kompleksne alergene, što se naziva molekularnim širenjem (engl. *molecular spreading*). Naime, IgE odgovor započinje vrlo rano, s monomolekularnim stadijem, kroz oligomolekularne (2 – 4) do polimolekularne (>4) senzitivacije. Primjer za širenje senzitivacije jest senzitivacija na *Phelum pratense*. Molekula koja započinje senzitivaciju je Phl p 1, a samo manji broj djece razvija ekstremnu polimolekularnu senzitivaciju i producira sIgE na sve dijagnostički dostupne molekule *Phelum pratense* (Phl p 2, Phl p 4, Phl p 5, Phl p 6, Phl p 7, Phl p 11 i Phl p 12).¹⁴ Sličan obrazac molekularnog širenja uočen je i djece koja razvijaju senzitivaciju na *Dermatophagoides pteronyssinus*. Senzitivacija započinje molekulama Der p1, Der p2 i Der p 23, nastavlja se s Der p 4, Der p 5, Der p 7, Der p 21, a završava s Der p 11, Der p 14, Der p 15, Der p 18, Der p 16.¹⁵ Djeca s polimolekularnom senzitivacijom na *Phelum pratense* i pelud trava imala su veći rizik od razvoja astme, kao i ekcema i rinitisa.^{15,16} Stoga je razmatrana hipoteza kako bi rana primjena AIT-a u monomolekularnom ili oligomolekularnom stadiju bila učinkovitija nego u kasnijim stadijima.¹⁷ Može li određivanje pojedinačnih molekula alergena biti biomarker za klinički tijek alergijskih bolesti u djetinjstvu, ostaje otvoreno pitanje koje treba pomno istražiti u daljnjim kliničkim studijama.

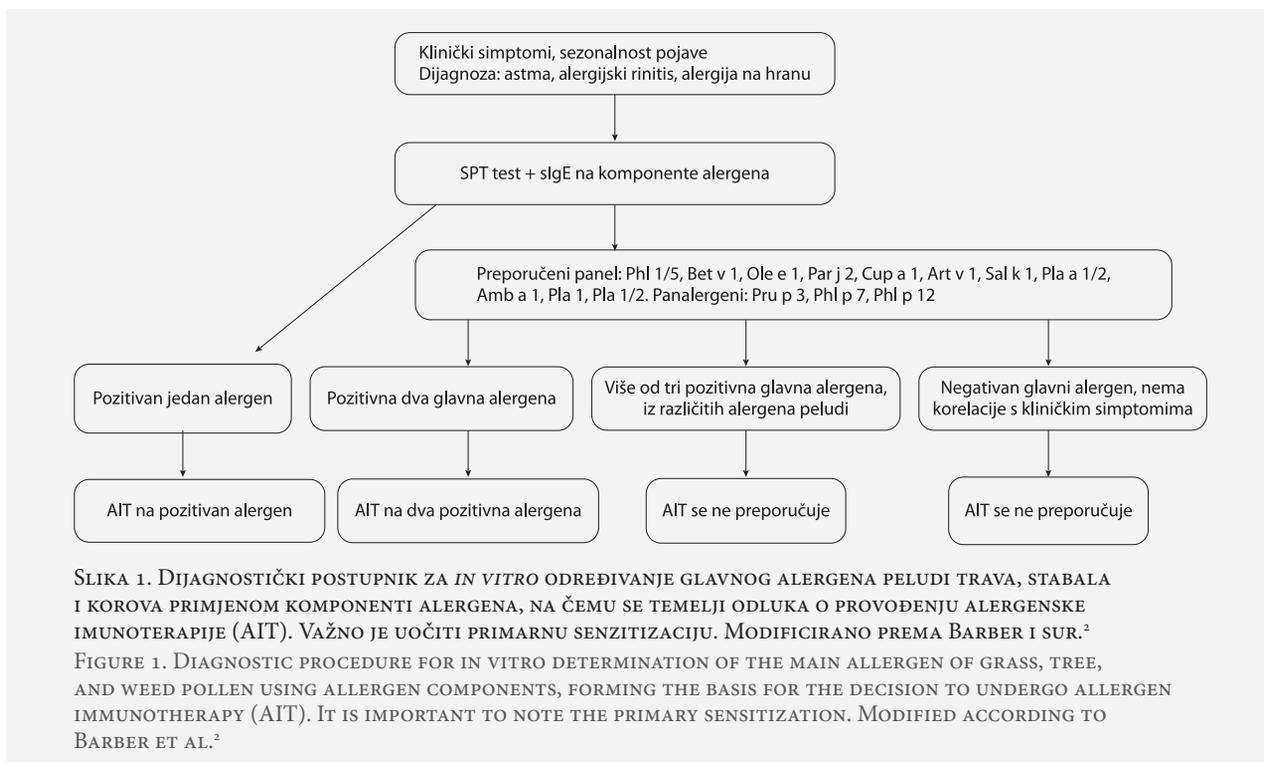
Molekularna alergologija i alergenska imunoterapija

Alergenska imunoterapija (AIT) može se preporučiti u bolesnika s alergijskim bolestima čiji simptomi nisu kontrolirani primjenom simptomatskog liječenja, a potvrđena je uzročna veza između izlaganja alergenu

i pojave simptoma, uz pozitivne *in vivo* i *in vitro* testove (SPT, sIgE). Sastoji se u ponavljanoj primjeni standardiziranih, postupno rastućih doza alergenskog ekstrakta s ciljem ublažavanja alergijske upale, ublažavanja simptoma i modifikacije IgE posredovane alergijske bolesti. Prvenstveno se preporučuje pacijentima s alergijskim rinitisom/rinokonjuktivitisom. Od 2017. godine, Globalna inicijativa za astmu (engl. *Global initiative for asthma*, GINA), preporučuje dodavanje AIT-a za pacijente s blagom do umjereno teškom astmom, praćenom alergijskim rinitisom/rinokonjuktivitisom, sa senzitivacijom na alergene grinje iz kućne prašine. Budući da molekularna dijagnostika (MAD) poboljšava preciznost dijagnostike uzročnog alergena, omogućava i individualni odabir alergena za provođenje AIT-a. Naime, uočeno je kako odabir alergena za AIT temeljen samo na SPT-u dovodi do drugih zaključaka u odnosu na odabir temeljen na molekularnoj dijagnostici.¹⁸ MAD omogućava identifikaciju pojedinačne alergenske molekule koja je odgovorna za senzitivaciju te posljedične simptome, što je posebno korisno u pacijenata s polisenzitizacijom, senzitivacijom na panalergene i u pacijenta koji žive u podneblju s preklapanjem polinacijskih ciklusa.¹⁹ Precizan odabir alergena povećava i učinkovitost AIT-a.

Alergija na pelud trava

S obzirom na široku zastupljenost, alergija na pelud trava predmet je brojnih istraživanja. Naime, ako se analizira sadržaj ekstrakta peludi *Phelum pratense*, livadne mačice, uočava se kako su nazastupljeniji alergenski proteini Phl p5 i Phl p6, koji predstavljaju više od 50% proteina. Za razliku od njih, Phl p1 predstavlja manje od 10% u ukupnom sastavu proteina, a čini najrelevantniji, pojedinačni, primarni senzitivator u odraslih pacijenata i djece alergičnih na pelud trava.² Naime, Phl p1 pripada obitelji ekspanzina, koja se nalazi i u drugim dijelovima biljaka. U jesen, nakon ugi-banja biljaka, aerosolizirane biljne čestice mogu biti prezentirane zajedno sa sporama *Alternarie* te započinju inicijalni senzitivirajući proces. AIT na pelud trava preporučuje se u pacijenta sa senzitivacijom na Phl p1 i/ili Phl p 5 zbog dokazanoga kliničkog učinka.²⁰ Značajan broj pacijenata alergičnih na pelud trava senzitiviran je na profilin, panalergen visoko zastupljen u biljkama. Upravo je senzitivacija na profilin zbunjujući čimbenik, koji rješava MAD. Pacijenti senzitivirani na profilin obično nemaju reakcije potaknute hranom, imaju eventualno blage, oralne reakcije. U pacijenata s dvostrukom senzitivacijom na polkalcin i profilin, te na Phl p7 i Phl p 12, a bez senzitivacije na glavne alergene Phl p1 i/ili Phl p5, učinkovitost AIT-a nije dokazana. Zaključiti se može kako senzitivacija na Phl p1 i/ili Phl p5, uz kliničke simptome, opravdava i indicira primjenu AIT-a na pelud trava. U pacijenata sa senzitivacijom samo na sporedne molekule alergena peludi nije dokazana učinkovitost AIT-a.



Alergija na pelud stabala

Alergeni *breze* i *hrasta* pripadaju obitelji PR10 proteina i primarni su senzitizeri. Primjena AIT-a na pelud breze, s dokazanim Bet v1, glavnim alergenom, pokazuje učinkovitost i kod osoba osjetljivih na pelud hrasta u Sjevernoj Americi. Ova učinkovitost se temelji na križnoj reaktivnosti među homologima PR10 (breza, hrast). Alergijska preosjetljivost na pelud biljaka iz porodice *čempresa* (*Cupressaceae*) dominantna je u dijelovima Sjedinjenih Američkih Država (SAD) te u južnoj Europi. Glavni alergeni pripadaju obitelji pektat liaza (Cup a1, Cup s1, Jun a 1 i Cry j1) i pokazuju visoku križnu reaktivnost. Učinkovitost AIT-a na pelud *masline*, uz pozitivan SPT, sIgE na pelud masline, povećava i senzitivizacija na glavni alergen Ole e 1. Senzitivizacija na minor alergen Ole e 7 visoko je zastupljena među osobama koje žive u područjima s velikom ekspozicijom peludi maslina te je povezana s težim kliničkim oblicima bolesti. Međutim, pacijenti sa senzitivizacijom samo na Ole e 7 ne pokazuju učinkovitost AIT-a na pelud masline.

Alergija na pelud ambrozije

Alergija na pelud ambrozije je najdominantnija alergija na pelud korova u Sjevernoj Americi i u Europi. Glavni alergen Amb 1a iz obitelji pektat liaza marker je senzitivizacije i pokazuje nisku križnu reaktivnost s drugim molekulama peludi.²¹ Međutim, visoka je križna reaktivnost s drugim alergenskim molekulama vrste *Ambrosie*.² Primjena MA ima terapijsku primje-

nu, naime, proizvodi za AIT koji sadrže glavni alergen Amb 1a dostupni su na tržištu i imaju dokazanu kliničku učinkovitost.^{22,23}

Postupak odabira AIT-a kod multiplih senzitivizacija

Prvi korak je korelacija kliničkih simptoma koja, ako se podudara s monosenzitivizacijom u SPT-u i/ili sIgE, indicira primjenu pojedinačnog alergena u AIT-u. Ako su simptomi prisutni tijekom cijele peludne sezone, a u SPT-u uočavamo polisenzitivizaciju, tada se preporučuje primjena molekularne dijagnostike (ovisno o geografskom području): Phl p1/5, Bet v1, Ole e 1, Par j2, Cup a1, Art v1, Sal k1, Pla a 1/2, Amb a1, Pla 1, uz panalergene: Pru p3, Phl p7, Phl 12. Ako su u MAD-u pristupni glavni alergeni, tada treba razmotriti AIT na maksimalno dva alergenska ekstrakta. Ako nema dokaza o senzitivizaciji na glavne alergene, niti korelacije sa simptomima, AIT se ne preporučuje. Također senzitivizacija na profilin Phl p7 i Phl p12 te profilin isključuje učinkovitu primjenu AIT-a (slika 1 prema ref. 2).

Alergija na alergene mačke i psa

Primjena AIT-a u osoba alergičnih na mačku ili psa rijetko se preporučuje u kliničkoj praksi. Dominantni, glavni alergen mačke jest Fel d1, a senzitivizacija na ovu molekulu uz kliničke simptome indicira primjenu AIT-a. Senzitivizacija samo na sporedne alergene poput Fel d4 i Fel d7 ne opravdava primjenu AIT-a. Glavni alergeni psa su Can f1, Can f2 i Can f5 te prisutnost

sIgE na ove alergene uz kliničke simptome indicira AIT. Iako su dokazi ograničeni, AIT s ekstraktom alergena mačke pokazuje veću kliničku učinkovitost u odnosu na AIT alergenima psa.^{24,25}

Alergija na grinje

Der p 1/Der f 1 i Der p 2/Der f 2 glavni su alergeni grinja koji senzitiviraju većinu pacijenata alergičnih na grinje. Visoka je križna reaktivnost između *Dermatophagoides pteronissinus* i *Dermatophagoides farinae*. Senzitivizacija na Der p 1/Der f 1 češće je zastupljena u djece, sugerirajući inicijacijsku ulogu povezanu s proteolitičkom aktivnošću.²⁶ Druge vrste grinja, poznate kao skladišne grinje, međusobno pokazuju visoku križnu reaktivnost, dok je ograničena križna reaktivnost s glavnim alergenima. Pri odluci za AIT važno je uz kliničke simptome, SPT dokazati i prisutnost sIgE Der p 1/ Der p 2/ Der p 23. Ako su ove molekule negativne, a nalazimo samo sIgE Der p 10, takav nalaz upućuje na križnu reaktivnost kojom se ne može opravdati primjena AIT-a.⁶

Alergija na venome

Alergija na otrov pčele (*Apis mellifera*) široko je rasprostranjena i najbolje proučena. Do sada je opisano dvanaest alergenskih molekula. Najzastupljenije su glavni alergen fosfolipaza A2 (Api m 1) i sporedni peptidni alergen melittin (Api m 4).²⁷ Druge molekule, iako rjeđe zastupljene, imaju status glavnog alergena Api m 2 (hijaluronidaza), Api m 3 (acidna fosfataza), Api m 5 (dipeptidilpeptidaza IV) i Api m 10 (icarapin). Neke molekule su marker težih kliničkih fenotipova poput Api m 4 ili neuspjeha AIT-a, kao što je Api m 10.^{28,29} Dominantne alergene ose (*Vespa spp*) čine fosfolipaza A1 (Ves v 1), hijaluronidaza (Ves v 2) i antigen 5 (Ves v 5). Najznačajni alergeni papirne ose (*Polistes dominula*) jesu fosfolipaza A1 (Pol d 1), dipeptidil peptidaza IV (Pol d 3) i antigen 5 (Pol d 5). Molekularna dijagnostika omogućava razlikovanje dvostruke senzitivizacije i križne reaktivnosti i omogućuje precizniju AIT kod alergije na pčelu, osu ili papirnu osu. Jasni dominantni alergeni pčele jesu Api m 1, Api m 3, Api m 4 i Api m 10, dok križno reagiraju Api m 2, Api m 5 i Api m 12 s alergenima ose. Glavni alergeni ose Ves v 1 i Ves v 5 pokazuju križnu reaktivnost s alergenima papirne ose Pol d 1 i Pol d5. Nove molekule su neophodne u dijagnostici alergije na papirnu osu, pogotovo u slučaju dvostruke senzitivizacije. MAD je koristan i u dijagnostici anafilaksije uzrokovane pčelom ako nije dokazana senzitivizacija na ekstrakt venoma, a što se može vidjeti u pacijenata s mastocitozom.³⁰

Alergija na kikiriki

Alergijske reakcije na kikiriki, pogotovo životno ugrožavajuće, mogu biti potaknute skladišnim proteinima, kao što su Ara h1, Ara h 2, Ara h 3 i Ara h 6. Blaže

kliničke slike izazivaju križno reaktivni proteini, poput Ara h 5, profilin povezan s alergijom na trave, Ara h 8, pripadnik PR10 obitelji koji je povezan s alergijom na pelud breze i Ara h 9, nsLTP povezan s lipotransferin sindromom. Reakcije povezane s Ara h 5 i Ara h 8 blage su, ograničene na orofarinks, poznate kao oralni alergijski sindrom. Ara h 2 dominantni je 2S globulin; kao skladišni protein može pokrenuti sistemne alergijske reakcije i anafilaksiju. Koncentracija sIgE na Ara h 2 dobar je marker težine alergijske reakcije te predviđa alergijsku reakciju u provokacijskom pokusu.

Senzitivizacija na Ara h1, Ara h 2 i Ara h 6 uz kliničke simptome omogućava procjenu rizika anafilaksije te indicira primjenu oralne imunoterapije na kikiriki. Proizvod za oralnu imunoterapiju na kikiriki odobren je od strane regulativnih tijela Europe i Amerike te se očekuje njegova šira primjena.^{31,32}

Molekularna dijagnostika i sigurnost AIT-a

Ograničeni su dokazi o mogućim pokazateljima rizika za neželjene reakcije tijekom AIT-a. Jedan od njih je i karakteristični obrazac senzitivizacije. Najbolje proučeni model jest alergija na trave. Učestalost neželjenih reakcija na supkutanu primjenu AIT-a, lokalnih i sistemnih, u korelaciji je s progresijom senzitivizacije (Phl p 1+5+12>Phl p1+ 5>Phl p 1 ili Phl p 5).³³ I kod sublingvalne primjene AIT-a neželjene reakcije vezane su uz visoke razine sIgE na Phl p 1 ili Phl p 5.³⁴ Izloženost visokim koncentracijama peludi trava u okolini vezana je uz senzitivizaciju na profilin i teže neželjene reakcije na hranu uzrokovane profilinom. Upravo ove reakcije slične su rijetkim reakcijama uočenim nakon primjene sublingvalne imunoterapije (SLIT) i predstavljaju model za njihovo detaljno izučavanje.²

Dijagnoza alergije i identifikacija uzročnog alergena započinje praktičnim, jeftinim i široko dostupnim pristupom primjene *prick* testa s ekstraktom alergenskog izvora. Alergenski ekstrakti, unatoč poznatim nedostacima, i dalje su temelj dijagnostike, ali i alergenske imunoterapije. Uvođenje i daljnji razvoj molekularne dijagnostike omogućava precizno otkrivanje profila senzitivizacije (razlikovanje glavnog alergena koji je pokretač alergijske reakcije te sporednog alergena koji je izvor senzitivizacije), procjenu razvoja i težine alergijskih reakcija te individualizaciju u propisivanju alergenske imunoterapije s ciljem poboljšanja njene učinkovitosti. Jeftiniji je i opravdan pristup „od klinike do molekule“ s ciljanim odabirom molekula inkriminiranog alergena. Suprotan pristup, „od molekule do klinike“ s prvotnom primjenom *multiplex* testova (brojni alergenski ekstrakti i molekule alergena), nakon koje slijedi izvođenje *prick* testa, može biti opravdan u pacijenta s multiplim alergijama i neobjašnjivim kliničkim simptomima. Stoga je pred nama primjena molekularne dijagnostike alergijskih bolesti u eri precizne, paci-

jentu prilagođene medicine kroz dijagnostiku, liječenje i intervencijske mjere.

LITERATURA

1. Valenta R, Lidholm J, Niederberger V, Hayek B, Kraft D, Grönlund H. The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CRD and CRIT). *Clin Exp Allergy*. 1999;29(7):896–904.
2. Barber D, Diaz-Perales A, Escribese MM, Kleine-Tebbe J, Matricardi PM, Ollert M i sur. Molecular allergology and its impact in specific allergy diagnosis and therapy. *Allergy*. 2021;76(12):3642–58.
3. A WAO – ARIA – GA(2)LEN consensus document on molecular-based allergy diagnosis (PAMD@): Update 2020. *World Allergy Organ J*. 2020;13(2):100091.
4. Aalberse RC. Structural biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;106(2):228–38.
5. Aalberse RC, Akkerdaas J, van Ree R. Cross-reactivity of IgE antibodies to allergens. *Allergy*. 2001;56(6):478–90.
6. Dramburg S, Hilger C, Santos AF, de Las Vecillas L, Aalberse RC, Acevedo N i sur. EAACI Molecular Allergology User's Guide 2.0. *Pediatr Allergy Immunol*. 2023;34 Suppl 28:e13854.
7. Matricardi PM, Dramburg S, Skevaki C, Renz H. 'Molecular extracts' for allergy diagnostics and therapy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2019;30(1):55–8.
8. Rubio A, Vivinus-Nébot M, Bourrier T, Saggio B, Albertini M, Bernard A. Benefit of the basophil activation test in deciding when to reintroduce cow's milk in allergic children. *Allergy*. 2011;66(1):92–100.
9. Kilic M, Çilkol L, Taşkın E. Evaluation of some predictive parameters for baked-milk tolerance in children with cow's milk allergy. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2021;49(2):53–9.
10. Ayats-Vidal R, Valdesoiro-Navarrete L, García-González M, Asensio-De la Cruz O, Larramona-Carrera H, Bosque-García M. Predictors of a positive oral food challenge to cow's milk in children sensitized to cow's milk. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2020;48(6):568–75.
11. Santos AF, Brough HA. Making the Most of In Vitro Tests to Diagnose Food Allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017;5(2):237–48.
12. Ando H, Movérare R, Kondo Y, Tsuge I, Tanaka A, Borres MP i sur. Utility of ovomucoid-specific IgE concentrations in predicting symptomatic egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122(3):583–8.
13. Dang TD, Peters RL, Koplin JJ, Dharmage SC, Gurrin LC, Ponsonby AL i sur. Egg allergen specific IgE diversity predicts resolution of egg allergy in the population cohort HealthNuts. *Allergy*. 2019;74(2):318–26.
14. Hatzler L, Panetta V, Lau S, Wagner P, Bergmann RL, Illi S i sur. Molecular spreading and predictive value of preclinical IgE response to Phleum pratense in children with hay fever. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(4):894–901.e5.
15. Posa D, Perna S, Resch Y, Lupinek C, Panetta V, Hofmaier S i sur. Evolution and predictive value of IgE responses toward a comprehensive panel of house dust mite allergens during the first 2 decades of life. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139(2):541–549.e8.
16. Custovic A, Sonntag HJ, Buchan IE, Belgrave D, Simpson A, Prospero MCF. Evolution pathways of IgE responses to grass and mite allergens throughout childhood. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;136(6):1645–52.e8.
17. Matricardi PM. Allergen-specific immunoprophylaxis: toward secondary prevention of allergic rhinitis? *Pediatr Allergy Immunol*. 2014;25(1):15–8.
18. Zubchenko S, Sharikadze O, Maruniak S. Allergen component testing – a new era in diagnostics of patients with pollen allergy. *Wiad Lek*. 2019;72(3):391–4.
19. Caimmi D, Manca E, Carboni E, Demoly P. How molecular allergology can shape the management of allergic airways diseases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2020;20(2):149–54.
20. Nolte M, Barber D, Maloney J, Li Z, Kaur A, Galan A i sur. Timothy specific IgE levels are associated with efficacy and safety of timothy grass sublingual immunotherapy tablet. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2015;115(6):509–515.e2.
21. Alvaro-Lozano M, Akdis CA, Akdis M, Alviani C, Angier E, Arasi S i sur. EAACI Allergen Immunotherapy User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol*. 2020;31 Suppl 25(Suppl 25):1–101.
22. Creticos PS, Maloney J, Bernstein DI, Casale T, Kaur A, Fisher R i sur. Randomized controlled trial of a ragweed allergy immunotherapy tablet in North American and European adults. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(5):1342–1349.e6.
23. Nolte H, Bernstein DI, Nelson HS, Ellis AK, Kleine-Tebbe J, Lu S. Efficacy and Safety of Ragweed SLIT-Tablet in Children with Allergic Rhinoconjunctivitis in a Randomized, Placebo-Controlled Trial. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2020;8(7):2322–2331.e5.
24. Uriarte SA, Grönlund H, Wintersand A, Bronge J, Sastre J. Clinical and Immunologic Changes due to Subcutaneous Immunotherapy With Cat and Dog Extracts Using an Ultrarush Up-Dosing Phase: A Real-Life Study. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2022;32(2):133–40.
25. Asarnoj A, Hamsten C, Wadén K, Lupinek C, Andersson N, Kull I i sur. Sensitization to cat and dog allergen molecules in childhood and prediction of symptoms of cat and dog allergy in adolescence: A BAMSE/MeDALL study. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(3):813–821.e7.
26. Barber D, Arias J, Boquete M, Cardona V, Carrillo T, Gala G i sur. Analysis of mite allergic patients in a diverse territory by improved diagnostic tools. *Clin Exp Allergy*. 2012;42(7):1129–38.
27. Radauer C, Nandy A, Ferreira F, Goodman RE, Larsen JN, Lidholm J i sur. Update of the WHO/IUIS Allergen Nomenclature Database based on analysis of allergen sequences. *Allergy*. 2014;69(4):413–9.
28. Spillner E, Blank S, Jakob T. Hymenoptera allergens: from venom to 'venome'. *Front Immunol*. 2014;5:77.
29. Michel Y, McIntyre M, Ginglinger H, Ollert M, Cifuentes L, Blank S i sur. The putative serine protease inhibitor Api m 6 from *Apis mellifera* venom: recombinant and structural evaluation. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22(7):476–84.
30. Schiener M, Hilger C, Eberlein B, Pascal M, Kuehn A, Revets D i sur. The high molecular weight dipeptidyl peptidase IV Pol d 3 is a major allergen of *Polistes dominula* venom. *Sci Rep*. 2018;8(1):1318.
31. Michel J, Brockow K, Darsow U, Ring J, Schmidt-Weber CB, Grunwald T i sur. Added sensitivity of component-resolved diagnosis in hymenoptera venom-allergic patients with elevated serum tryptase and/or mastocytosis. *Allergy*. 2016;71(5):651–60.
32. Vickery BP, Vereda A, Casale TB, Beyer K, du Toit G, Hourihane JO i sur. AR101 Oral Immunotherapy for Peanut Allergy. *N Engl J Med*. 2018;379(21):1991–2001.
33. Sastre J, Rodríguez F, Campo P, Laffond E, Marín A, Alonso MD. Adverse reactions to immunotherapy are associated with different patterns of sensitization to grass allergens. *Allergy*. 2015;70(5):598–600.
34. Calderón MA, Simons FER, Malling HJ, Lockey RF, Moingeon P, Demoly P. Sublingual allergen immunotherapy: mode of action and its relationship with the safety profile. *Allergy*. 2012;67(3):302–11.