

LABORATORINIŲ TYRIMŲ SVARBA GYDANT ALERGIŠKUS VAIKUS VILNIAUS MIESTO CENTRO POLIKLINIKOJE

LAIMA SKRICKIENĖ¹, ASTA MIŠKINIENĖ²

¹VšĮ Centro poliklinika, ²UAB „Grida“

Raktažodžiai: *alergija, specifiniai IgE, diagnostika.*

Santrauka

Alerginės ligos yra didėjanti vaikų ir suaugusių žmonių sveikatos problema visame pasaulyje. Šios ligos priskiriamos prie dažniausiai pasitaikančių lėtinis susirgimų, varginančių net iki 30 proc. gyventojų išsivysčiusiose šalyse. Dėl to smarkiai auga ir tiesioginiai, ir netiesioginiai medicininiai kaštai, blogėja pacientų ir jų šeimos narių gyvenimo kokybė. Taigi sveikatos priežiūros paslaugų teikimas pacientams, kenčiantiems nuo alerginių ligų, yra be galo svarbus socialiniu ir ekonominiu aspektu.

Kokybiška ir laiku atlikta šių ligų diagnostika yra vienas svarbiausių kriterijų, padedančių skirti tinkamą terapiją ir įvertinti ligos prognozę. Šio darbo metu ištirti 386 alerginėmis ligomis sergantys 2–8 metų amžiaus vaikai. Palyginti trys laboratoriniai diagnostiniai rodikliai: eozinofilų kiekis kraujyje, bendrojo IgE koncentracija bei specifiniai IgE antikūnai maisto ir įkvepiamiesiems alergenams.

Tyrimas vykdomas pagal programą „Sveikos gyvensenos ugdymas. Vaikų sensibilizacijos maisto ir įkvepiamiesiems alergenams nustatymas ir įvertinimas Vilniaus mieste 2009 m. Vaikų alerginių ligų profilaktika“.

Nustatyta, kad specifinių IgE ištyrimas kraujyje serume yra svarbus diagnostinis rodiklis siekiant įvertinti alergišku vaikų būklę ir numatyti tinkamą terapiją.

ĮVADAS

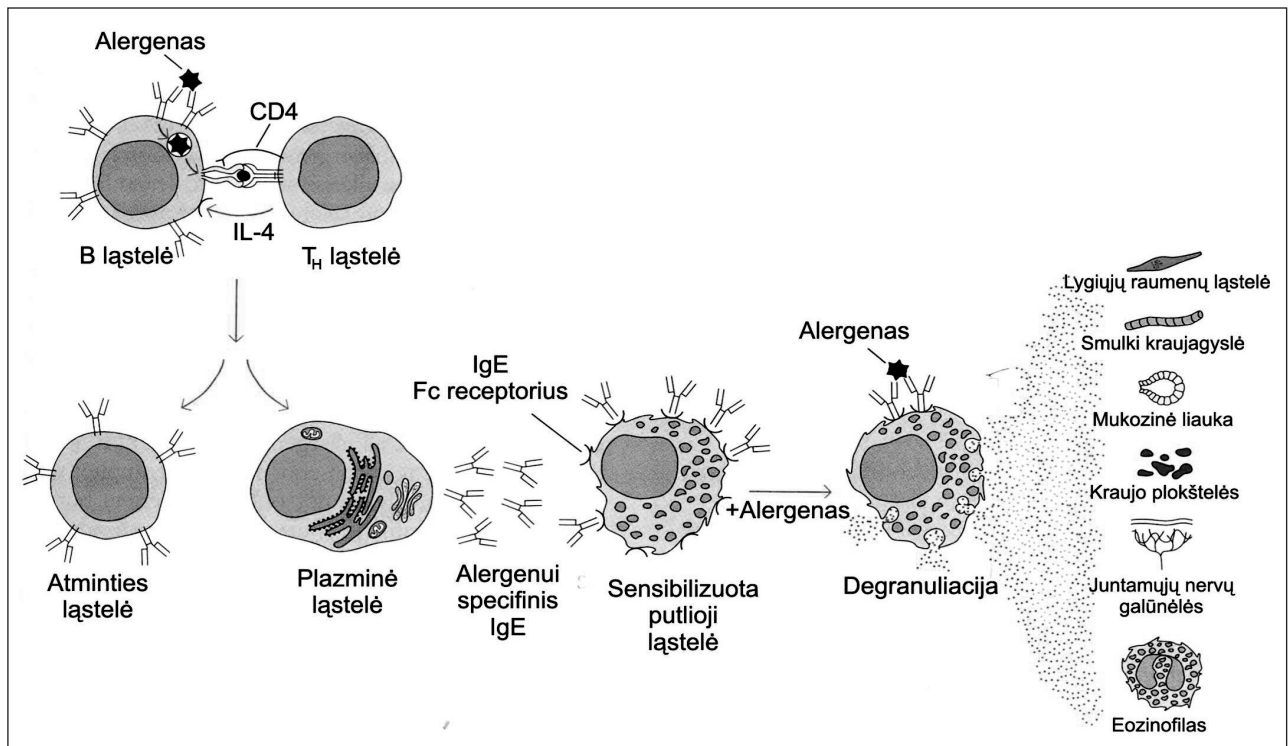
Daugybė epidemiologinių tyrimų tiek Europos, tiek kitose išsivysčiusiose pasaulio šalyse parodė, kad per pastaruosius tris–keturis dešimtmečius dramatiškai išaugo alerginių ligų, įskaitant sezoninį rinitą, alerginę astmą ir atopinį dermatitą, skaičius. Pagal Pasaulio sveikatos organizacijos duomenis apie 20 proc., t. y. daugiau nei 150 milijonų, Europos, JAV ir Japonijos gyventojų kenčia nuo alergijos. Nors kai kuriuose

šaltiniuose nurodoma, kad keliskart padidėjęs alerginėmis ligomis sergančių žmonių skaičius gali būti susijęs su geresne klinicine diagnostika ir su sergančiųjų sąmoningumu, vis dėlto objektyvūs kriterijai leidžia teigti ką kita. Geometrine progresija didėjantis alergijų dažnis tiek išsivysčiusiose, tiek besivystančiose šalyse per pastaruosius tris dešimtmečius yra susijęs su genetiškai modifikuotais produktais, didėjančiu aplinkos užterštumu, buities chemizavimu ir pan. kartu su socialiniais, ekonominiais, ekologiniais ir genetiniais veiksniais bei geografinės vietovės ypatumais [1, 2].

Keletas epidemiologinių tyrimų atskleidė padidėjusią industrializuotos visuomenės predispoziciją IgE sąlygojamam atopiniam įsijautrinimui. Atopija – tai individualus ir (ar) šeiminis polinkis ypač vaikystėje ar jaunystėje įsijautrinti ir gaminti IgE antikūnus, kaip atsaką į įprastinį alergenų, dažniausiai baltymų, poveikį. Taigi atopija yra didelio IgE antikūnų atsako klinikinis apibrėžimas. Atopijos terminas negali būti vartojamas tol, kol IgE sensibilizacija neįvertinta remiantis IgE antikūnais serume ar teigiamais odos dūrio mėginiais [3]. IgE sąlygojamas atsakas yra priskiriamas I tipo hiperjautrioms reakcijoms. Specifiniai IgE rišasi prie bazofilų ir putliųjų ląstelių per Fc receptorių, tokiu būdu sensibilizuodami šias ląsteles. Pakartotinai patekęs alergenai / antigenai atpažįsta specifinį IgE, ir dėl šios antikūnų–antigeno sąveikos ląstelės degranuliuoja, atpalaiduodamos keletą vazoaktyvių mediatorių (1 pav.).

Alergenas – tai medžiaga, sukianti alerginę reakciją. Dažniausiai tai būna baltyminės kilmės medžiagos, kurių molekulinė masė svyruoja nuo 5 000 iki 50 000 daltonų, sukeliančių nevienodo stiprumo imuninį atsaką.

Manoma, kad padidėjęs IgE sąlygojamas įsijautrinimas siekia iki 50 proc. alerginėmis ligomis sergančios populiacijos [4]. Šis išaugimas yra ypač stebimas tarp mokyklinio amžiaus vaikų ir paauglių. Todėl tinkama ir ankstyva alerginių susirgimų diagnostika reikalinga socialiniams ir ekonominiams kaštams mažinti. Apskaičiuota, kad Europos Sąjungos šalių išlaidos gydant vaikų astmą siekia iki 3 000 milijonų eurų [5]. Tiksliai ir ankstyva diagnostika gali padėti skiriant simptominių ir



1 pav. I hiperjautrumo tipo alerginės reakcijos schema

(ar) specifinį gydymą, kartu užkirsti kelią ligos progresavimui, pvz., alerginės astmos pradžią rinitu ar dermatitu sergantiems pacientams. Pagrindiniai diagnostiniai pacientų, sergančių alerginiu rinitu ar atopiniu dermatitu, rodikliai apima paciento istoriją, anamnezę, *in vivo* testus ir laboratorinius tyrimus – bendrojo IgE ir specifinių IgE nustatymą kraujo serume. Tarp įvairiausių tyrimų, šia dien naudojamų alerginiam rinitui ir atopiniam dermatitui nustatyti, alergeniui specifinių IgE nustatymas yra pripažintas kaip nepakeičiamas diagnostikos fragmentas. Pacientai įvairiai reaguoja į skirtingus antigenus, todėl alergenu kompozicijos parinkimas *in vitro* tyrimuose yra vienas lemiamų kokybiškos diagnostikos veiksmių. Čia auksiniu standartu pripažinta *ImmunoCAP (Phadia)* sistema. Pavienių alergenu tyrimas pasižymi dideliu jautrumu ir specifiškumu daugeliui alergenu ir suteikia platesnes galimybes gydytojui numatyti individualią pacientui tinkančią taktiką. Vis dėlto šis tyrimas yra ganėtinai brangus ir reikalauja nemažų paciento serumo kiekių. Kaip šio tyrimo alternatyvą, specifiniams IgE nustatyti galima naudoti fiksuotą alergenu rinkinį. Šiuo atveju alergenai yra imobilizuoti ant medvilninės membranos. Vokietijos universiteto mokslininkai atliko palyginamuosius pavienių alergenu ir alergenu rinkinio tyrimus, siekdami

nustatyti pastarųjų jautrumą, specifiškumą ir gautų rezultatų patikimumą. Lygintos MAST CLA ir *ImmunoCAP* sistemos. Daugelio alergenu CLA tyrimo jautrumas ir specifiškumas siekė > 0,9, palyginti su klasikiniu pavienių alergenu testu [6]. Šis tyrimas tenkina tiek kokybinius, tiek ir ekonominio efektyvumo rodiklius.

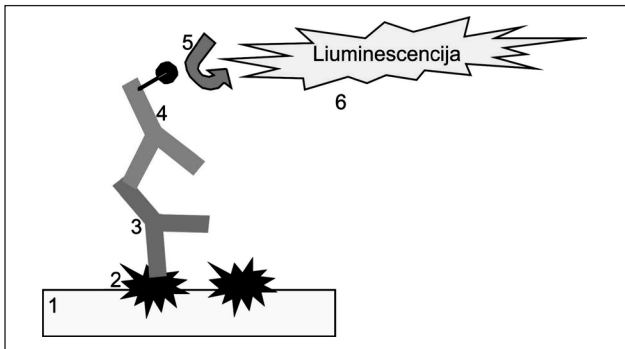
Savo darbe naudodami fiksuotą alergenu rinkinį ištyrėme 2–8 metų vaikų, sergančių alerginėmis ligomis, įsijautrinimą maisto ir įkvepiamiesiems alergenams. Gautus rezultatus palyginome su eozinofilų skaičiumi ir bendrojo IgE koncentracija kraujo serume.

Darbo tikslas – nustatyti specifinius IgE alerginėmis ligomis sergančių vaikų kraujo serume ir įvertinti šių laboratorinių rodiklių reikšmę minėtų pacientų gydymui.

TYRIMO KONTINGENTAS IR METODAI

Tirti 2–8 metų vaikai, sergantys alerginėmis ligomis (atopine egzema / dermatitu, bronchų astma, rinitu). Iš viso buvo ištirti 386 vaikai. Diagnozės nustatytos remiantis klinikiniais simptomais:

- alerginis rinitas: čiaudėjimas, nosies „užgulimas“, rinorėja, niežėjimas;
- alerginis konjunktyvitas: akių niežėjimas, paraudimas, ašarojimas;



2 pav. Specifinių IgE nustatymo reakcijos schema.
1 – medvilninė membrana, 2 – alergenų ekstraktas,
3 – specifinis IgE, 4 – anti-IgE, žymėtas peroksidaze,
5 – reakcijos substratas, 6 – liuminescencija

- bronchų astma: pasikartojantis kosulys, švokštimas, dusimas;
- atopinis dermatitas: – odos bėrimas, niežėjimas.

Ištirti trys laboratoriniai rodikliai: eozinofilų skaičius kraujyje, bendrojo IgE koncentracija serume bei maisto ir įkvepiamiesiems alergenams specifiniai IgE.

Eozinofilų kiekis pagal absoliučius skaičius kraujyje vertintas analizatoriumi *ABX Pentra 120*, (*Horiba ABX*, Japonija). Didesnė nei $0,52 \times 10^9/l$ vertė įvardyta kaip eozinofilija.

Bendrojo IgE koncentracija kraujo serume nustatyta analizatoriumi *MiniVidas* (*Biomerieux*, Prancūzija). IgE kiekis serume laikytas padidėjusiu, kai buvo didesnis nei šios normos: 2–5 metų – ≤ 60 IU/ml, 6–9 metų – ≤ 90 IU/ml. Specifiniams IgE nustatyti kraujo serume naudota *MAST CLA* (*Hitachi Chemical Diagnostic*, JAV) sistema. Šios sistemos principas pavaizduotas schemoje (2 pav.). Standartizuoti alergenų ekstraktai yra imobilizuoti ant medvilninės membranos. Jei tiriamame kraujo serume yra specifinių tam alergenai antikūnų, jie jungiasi prie alergeno sudarydami antígeno–antikūno kompleksą. Kompleksui išryškinti naudojami antriniai anti-IgE antikūnai, žymėti fermentu – krienų

peroksidaze. Įdėjus substrato vyksta chemiliuminescencinė reakcija, kuri užfiksuojama ir išmatuojama liuminometru. Gautų liumenų (LU) skaičius yra tiesiogiai proporcingas antikūnų koncentracijai kraujo serume.

Teigiamomis laikomos reakcijos, kurių įsijautrinimo laipsnis specifiniam alergenai buvo 2, 3, 4 klasių (pagal tarptautinę standartizuotą specifinių IgE vertinimo sistemą). Tyrimui naudotas mišrus 36 alergenų rinkinys, sudarytas iš pagrindinių maisto ir įkvepiamųjų alergenų. Šį mišrų alergenų rinkinį, į kurio sudėtį įtraukti pagrindiniai Lietuvoje alergiją dažniausiai sukeliantys alergenai, sudarė ir patvirtino Lietuvos mokslų akademijos Alergologų komisija. Alergenų sudėtis pavaizduota lentelėje (3 pav.).

TYRIMO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Atlikus bendrą kraujo tyrimą ir apskaičiavus tiriamų vaikų eozinofilų kiekį kraujyje pagal absoliučius skaičius padidėjimas nustatytas 97-iems iš 386-ių tirtų vaikų. Tai sudaro 25 proc. visų tirtų vaikų. Šio rodiklio padidėjimas siejamas su alerginėmis reakcijomis, helmintinėmis infekcijomis, maisto alergijomis, atipinėmis ūmiomis reakcijomis [7]. Kadangi eozinofilų funkcija yra fagocituoti antígeno–imunoglobulino E kompleksus, todėl laikoma, kad šio rodiklio diagnostinė vertė yra panaši į bendrojo IgE vertę.

Tačiau atlikus minėtų pacientų bendrojo IgE tyrimą nustatyta, kad šis rodiklis yra padidėjęs net 147-iems iš 386-ių tirtų vaikų; tai sudaro 38 proc. visos tiriamos grupės. Šie imunoglobulinai dalyvauja alerginių reakcijų patogenezėje. Jie suriša antigenus (alergenų) ir per Fc receptorių susijungia su bazofilais bei putliosiomis ląstelėmis. Dėl šios priežasties IgE patologinių reakcijų klinika primena serotonino ir histamino sukeltus reiškinius. Jo koncentracija šiek tiek koreliuoja su alerginio proceso aktyvumu. Vis dėlto nustačius normalią IgE koncentraciją serume ne visada galima atmesti alergijos diagnozę.

Ištyrus specifinius IgE vaikų kraujo serume net 171 vaikui nustatyti specifiniai IgE, o tai sudaro 44,3 proc. visų tiriamųjų.

MAISTO ALERGENAI	ĮKVEPIAMIEJI ALERGENAI				
	Medžių žiedadulkės	Žolių žiedadulkės	Mikroskopiniai grybai	Namų dulkių erkės	Naminių gyvūnų alergenai
Bananai; Citrusinių vaisių mišinys Pomidorai; Jautiena; Kiauliena; Sūris Pienas; Kiaušinio baltymas; Šokoladas; Menkė Migdolai; Žemės riešutai; Sojos pupelės Graikiniai riešutai; Kviečiai; Kepimo mielės	Beržas Lazdynas Platanas	Motiejukas Gyslotis Artemesia Dilgėlė Rapsas	Alternaria Aspergillus Candida Cladosporium Penicillium	D. farinae D. pteronyssinus	Plunksnų mišinys Katė Karvė Šuo Arklys

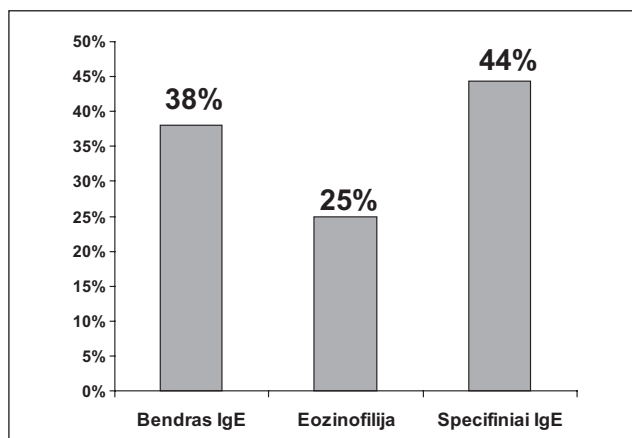
3 pav. MASTpette strypelyje imobilizuotų maisto ir įkvepiamųjų alergenų sudėtis

Apibendrinti rezultatai pavaizduoti diagramoje (4 pav.).

Kaip matome iš gautų rezultatų, specifinių IgE aptikimas kraujo serume nebūtinai yra susijęs su padidėjusiu eozinofilų kiekiu ar didesne bendrojo IgE koncentracija kraujo serume. Taigi net esant normaliam eozinofilų kiekiui ar normaliai bendrojo IgE koncentracijai nustatoma specifinių IgE antikūnų.

Vertinant sensibilizaciją maisto produktams nustatyti pagrindiniai alergizuojantys veiksniai: karvės pieno baltymai (10,53 proc.), kiaušinio baltymas (7,02 proc.), žemės riešutai (4,09 proc.) ir sojos baltymas (5,26 proc.).

Daugybė atliktų tyrimų rodo, kad vaikai, kuriems nustatyta alergija maistui ir astma, yra didesnės rizikos grupėje tiek grėsmingo astmos paūmėjimo, tiek ir anafilaksijos požiūriu. Maisto produktams specifinių IgE nustatymas padeda parinkti optimalų šios rizikos grupės vaikų gydymą, priežiūrą ir šitaip sumažinti riziką. Daugiau nei 8 proc. astma sergančių vaikų yra alergiški maisto produktams ir net 30–60 proc. vaikų, alergiškų maistui, serga astma. Mūsų gauti duomenys rodo, kad sensibilizacija maisto alergenams buvo nustatyta 9,25 proc. vaikų su bronchų astmos diagnoze. Kaip nurodoma literatūros šaltiniuose, alergija maisto produktams laikoma grėsmingu astmos rizikos veiksniu [8], o įjautrinimas maisto produktams gali tarnauti kaip ankstyvasis pasunkėjusios ligos eigos žymeklis [9]. Todėl padidėjusios rizikos grupėje esantys vaikai turi būti ypač rūpestingai prižiūrimi siekiant išvengti tiek galimo astmos paūmėjimo, tiek ir skubaus hospitalizavimo. Tam svarbu identifikuoti alergizuojančius maisto alergenų ir vengti tiesioginio bei netiesioginio sąlyčio su jais.



4 pav. Vaikų, kurių padidėjęs eozinofilų skaičius, bendrasis IgE kiekis ir įjautrinimas alergenams, skaičius

Įvertinus įjautrinimą įkvepiamiesiems alergenams nustatyta, kad įjautrinimas beržui siekė 18,71 proc., lazdyno riešutui – 12,28 proc., motiejukui – 27,49 proc., pelynui – 18,13 proc., katei – 25,15 proc., namų dulkių erkei *D. farinae* – 38,1 proc., *D. pteronyssinus* – 50,29 proc.

Daugybė nuoseklių tyrimų parodė, kad atopija, t. y. specifinių IgE antikūnų produkcija prieš aplinkos alergenų, yra stipriai susijusi su vaikų astma. Ankstyvas įjautrinimas, pasireiškęs 6–8 metų vaikams, yra stipresnis predisponuojantis astmos veiksnys nei vėlesniame amžiuje aptinkamas įjautrinimas. Taigi veiksniai, stiprinantys specifinių IgE gamybą, arba organizmo nesugebėjimas įgyti tolerancijos aplinkos alergenams ankstyvame amžiuje taip pat didina susirgimo astma riziką. Daugelyje tyrimų įjautrinimas namų dulkių erkėms įvardijamas kaip didžiausias vaikų astmos rizikos veiksnys. Kiti autoriai teigia, kad tokios pačios svarbos yra ir įjautrinimas katėms, šunims, tarakonams ir pelėsiams. Pastaruoju metu manoma, kad koreliacija tarp įjautrinimo vienam ar keliems alergenams ir astmai priklauso nuo toje šalyje dominuojančių alergenų.

Per pastaruosius porą dešimtmečių *in vitro* alerginių ligų diagnostika tapo vienu svarbiausių diagnostinių rodikliu. Pacientų įjautrinimo būdo nustatymas yra svarbus rodiklis tiek klinikiui, tiek praktiniam požiūriu. Diagnostika *in vitro* ypač svarbi kūdikiams ir vaikams, kadangi įvairūs odos mėginiai gali būti pernelyg traumuojantys, o ankstyvas įjautrinimo būdo nustatymas yra svarbus užkertant kelią atipiniam maršui ir individualios rizikos įvertinimui. Specifiniai IgE antikūnai prieš maisto produktų baltymus gaminasi jau kūdikystėje, tačiau specifiniam IgE atsako pasireiškimui prieš aplinkos alergenų reikia kelerių metų. Pastarųjų metų tyrimai rodo, kad perėjimas nuo kūdikių IgE atsako karvės pieno ir vištų kiaušinių baltymams prie specifinio IgE atsako vidaus ir išorės antigenams yra svarbus astmos vystymosi pranašas vaikystėje.

Žinoma, kad kai kurie vaikai, patiriantys pasikartojančius švokštimo epizodus, išauga šiuos simptomus. Šių pacientų identifikavimas yra svarbus atskiriant juos nuo grupės vaikų, kuriems šie simptomai išlieka. Tai padeda išvengti nereikalingo vaistų vartojimo ir alergenų vengimo. Specifinių IgE tyrimas itin svarbus diferencijuojant šias dvi grupes. Vaikai, kurie išaugo iš nuolat švokščiančių rizikos grupės, gali būti nustatomi iki 3 metų amžiaus tiriant jų specifinį IgE profilį pagrindiniams alergenams, tokiems kaip maistas, naminiai gyvūnai, namų dulkių erkės ir žiedadulkės [8, 10]. Apie

90 proc. švokščiančių, tačiau neįsijautrinančių vaikų praranda šiuos simptomus būdami mokyklinio amžiaus ir išsaugo normalią plaučių funkciją lytinio brendimo metu. Priešingai, vaikai, kurie yra įsijautrinę nuolatiniams alergenams, t. y. katei, šuniui ir namų dulkių erkėms ankstyvaisiais gyvenimo metais, linkę į chroniškos astmos išsivystymą su aštriais simptomais ir labai sumažėjusia plaučių funkcija mokykliniame amžiuje.

Ankstyvas įsijautrinimas maisto ar įkvėpjamiesiems alergenams kartu su kitais predispoziciniais veiksniais, kaip šeimos istorija, atopiniu dermatitu ir eozinofilija yra vertingi klinikiniai rodikliai nustatant padidėjusio rizikos vaikus.

Taigi žvelgiant iš pediatriinės perspektyvos ypač svarbu išsiaiškinti ir įvertinti vaikų, kuriems pasireiškia alerginės ligos simptomų, įsijautrinimo statusą.

Mūsų poliklinikoje atlikti minėti laboratoriniai diagnostiniai tyrimai pasitvirtino kaip ypač svarbūs tiek diagnozuojant, tiek ir skiriant gydymą alergiškiems vaikams. Remdamasis šiais tyrimais, ligos anamneze ir klinika gydytojas specialistas galėjo kiekvienam pacientui diagnozuoti ankstyvos stadijos ligą, patvirtinti alerginės ligos kilmę. Nustatytas konkretus alergenai leido gydytojui alergologui parodyti paciento tėvams nustatytų alergenų reikšmes ir jų pašalinimo svarbą bei rekomenduoti veiksmingas profilaktines priemones dėl alergizuojančių veiksmių mažinimo mityboje ir aplinkoje.

IŠVADOS

1. Specifiniai IgE nustatyti 44,3 proc. visų alerginėmis ligomis diagnozuotų vaikų kraujo serumuose. Bendras eozinofilų kiekio ir IgE koncentracijos padidėjimas nustatyti 25 proc. ir 38 proc. atvejų atitinkamai. Tai rodo, kad pastarųjų rodiklių reikšmių neužtenka alerginėms ligoms diagnozuoti.

2. Nustatyti konkretų alergeną svarbu numatant paciento gydymo taktiką ir prognozuojant ligos eigą. Maksimalus alergeno eliminavimas iš aplinkos lengviau ligos eigą bei gerina paciento savijautą.

3. Gautas vaikų įsijautrinimo alergenams profilis patvirtina daugiamečius statistinius Lietuvos duomenis.

Literatūra

1. American Academy of Allergy, Asthma and Immunology (AAAAI). The Allergy Report: Science Based Findings on the Diagnosis & Treatment of Allergic Disorders. 1996-2001.
2. Kemp AS. Allergy prevention – what we thought we knew. *MJA* 2003; 178:254-255.
3. Dubakienė R. Klinikinė alergologija. VU leidykla. 2011; 11.
4. Van Moeke Eds. D., De Weck A. European Allergy White Paper. ISBN 2-87301-081-5; 1997.
5. Van den Akker Marle. *Allergy* 2005; 60:140-49.
6. Ollert M. Atopic disease of the skin and the upper airways: concepts and rationale for the use of laboratory tests. EAACI 2001.
7. Zaleckis G. Pagrindinių laboratorinių tyrimų žinynas. UAB „Vaistų žinios“. 2010; 254.
8. Illi S. Perennial allergen sensitisation early in life and chronic asthma in children: a birth cohort study. *Lancet* 2006; 368:763-70.
9. Roberts G, Patel N, Levi-Schaffer F, Lack G. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112:168-174.
10. Simpson AB, Glutting J, Yousef E. *Pediatric Pulmonol* 2007; 42:489-95.

ROLE OF LABORATORY TESTS IN THERAPY OF ALLERGIC CHILDREN IN PUBLIC INSTITUTION „CENTRO POLIKLINIKA“

Laima Skrickienė, Asta Miškinienė

Summary

Key words: allergy, specific IgE, in vitro diagnosis.

Over the last few decades, in vitro diagnosis of allergic diseases has become an important corner stone. We have learned in recent years that the evaluation of patient's sensitization pattern is a useful and reproducible tool both clinically and in practice. It has also been found to be particularly useful for diagnosis of infants and children, where the performance of a variety of skin tests might be too traumatic and the description of early sensitization pattern is important for prediction of atopic march and individual risk assessment.

The aim of this study was to evaluate the role of specific IgE detection in children with asthma, rhinitis or dermatitis. 386 children in the age 2-8 year were tested for the eosinophil cell numbers in total blood, total IgE concentration in serum and specific IgE antibodies for 36 food and inhalant allergens. The results show that in 25% of patients was an increased number of eosinophils, 38% of children had an increased concentration of total IgE. In 44,3% of patients specific antibodies to one or several antigens were obtained. This shows that even patients with normal IgE levels and amounts of eosinophil cells can be sensitised to one or more allergens. Therefore an extended repertoire of diagnostic tests, including specific IgE determination helps to achieve the goal of successful management of allergic asthma, rhinitis and atopic dermatitis which is mainly based on accurate diagnosis and individualised treatment.

Correspondence to: laima.skrickiene@pylimas.lt

Gauta 2011-07-20