

Praktikum 6

I-IV. typ hypersenzitivity podle Coombse Gella
Alergické choroby podmíněné IgE. Atopie. Prevalence
alergických chorob v populaci. Běžné alergeny.
Diagnostika alergických chorob

Ústav klinické imunologie a alergologie

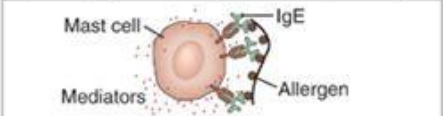
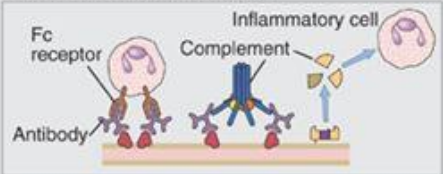
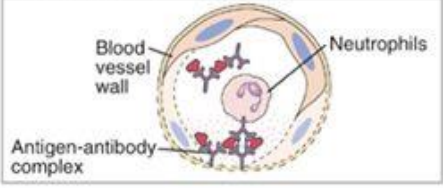
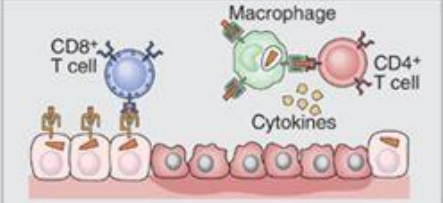
Imunopatologické reakce

rozpoznání antigenu protilátkami, B lymfocyty nebo efektorovými T lymfocyty může být doprovázeno vedlejším poškozením tkání

reakce vedoucí k vedlejšímu poškození tkání se označují jako
„REAKCE HYPERSENZITIVITY“

většina hypersenzitivních reakcí se ale neomezuje jen na jeden typ, ale jednotlivé mechanismy se mezi sebou vzájemně prolínají nebo mohou prolínat

Types of Hypersensitivity Reactions

Type of hypersensitivity	Pathologic immune mechanisms	Mechanisms of tissue injury and disease	
Type I Immediate hypersensitivity (Type I)	<p>T_H2 cells, IgE antibody, mast cells, eosinophils</p> 	<p>Mast cell-derived mediators (vasoactive amines, lipid mediators, cytokines)</p> <p>Cytokine-mediated inflammation (eosinophils, neutrophils)</p>	} Antibody mediated
Type II Antibody-mediated diseases (Type II)	<p>IgM, IgG antibodies against cell surface or extracellular matrix antigens</p> 	<p>Complement and Fc receptor-mediated recruitment and activation of leukocytes (neutrophils, macrophages)</p> <p>Opsonization and phagocytosis of cells</p> <p>Abnormalities in cellular function, e.g. hormone receptor signaling</p>	
Type III Immune complex-mediated diseases (Type III)	<p>Immune complexes of circulating antigens and IgM or IgG antibodies deposited in vascular basement membrane</p> 	<p>Complement and Fc receptor-mediated recruitment and activation of leukocytes</p>	
Type IV T cell-mediated diseases (Type IV)	<p>1. $CD4^+$ T cells (delayed type hypersensitivity) 2. $CD8^+$ CTLs (T cell-mediated cytotoxicity)</p> 	<p>1. Macrophage activation, cytokine-mediated inflammation</p> <p>2. Direct target cell lysis, cytokine-mediated inflammation</p>	} T cell mediated

„Allergie“ 1906

„allos“ (jiný) + „ergon“ (reakce, reaktivita) = „odlišná reaktivita“

Clemens von Pirquet
*12. května 1874
†28. února 1929

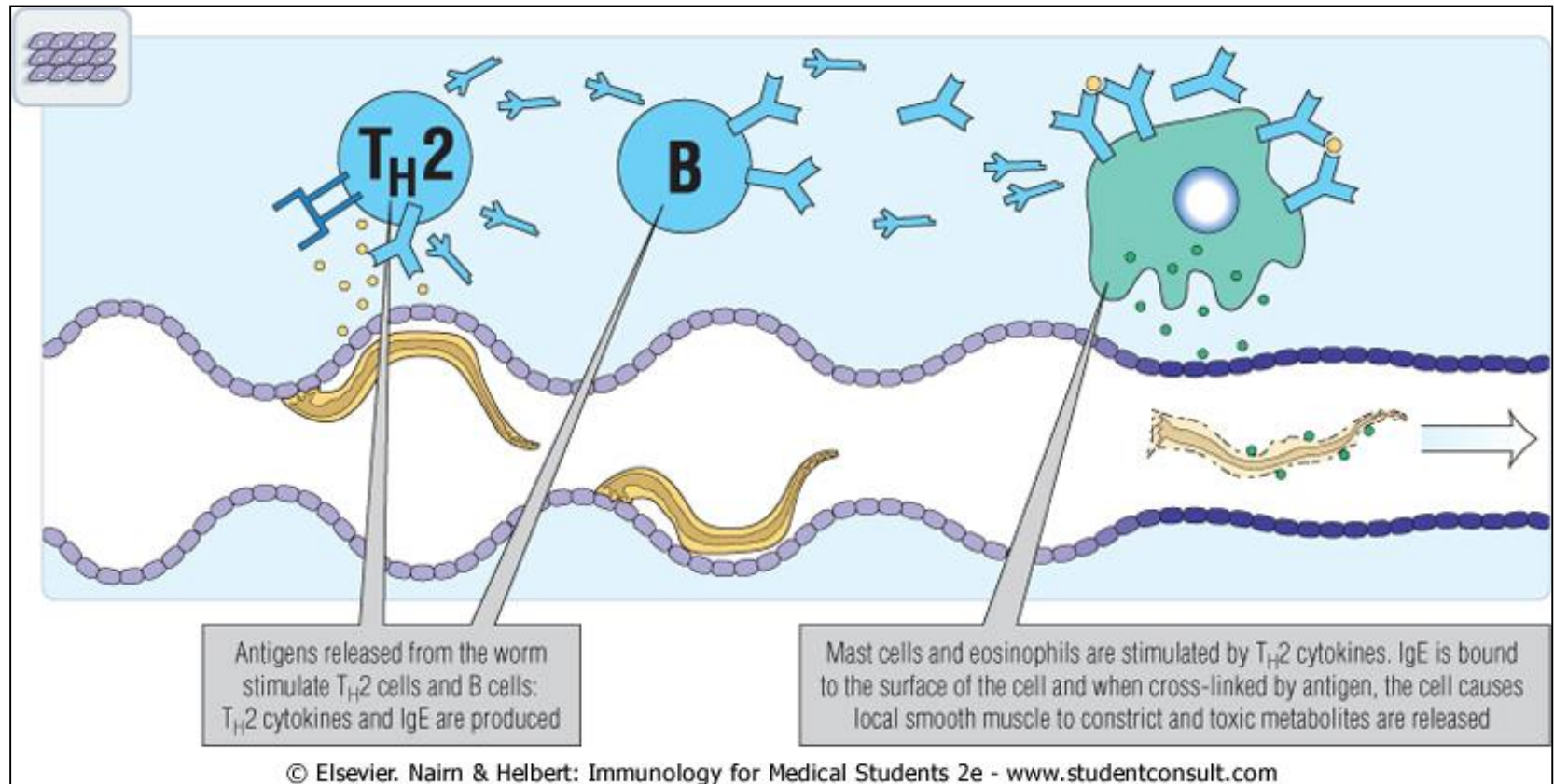
Alergické choroby podmíněné IgE

Ishizaka, K. & T. Ishizaka (1967) Identification of gamma-E-antibodies as a carrier of reaginic activity. *J Immunol*, 99, 1187-98.

Johansson, S. G., H. Bennich & L. Wide (1968) A new class of immunoglobulin in human serum. *Immunology*, 14, 265-72.

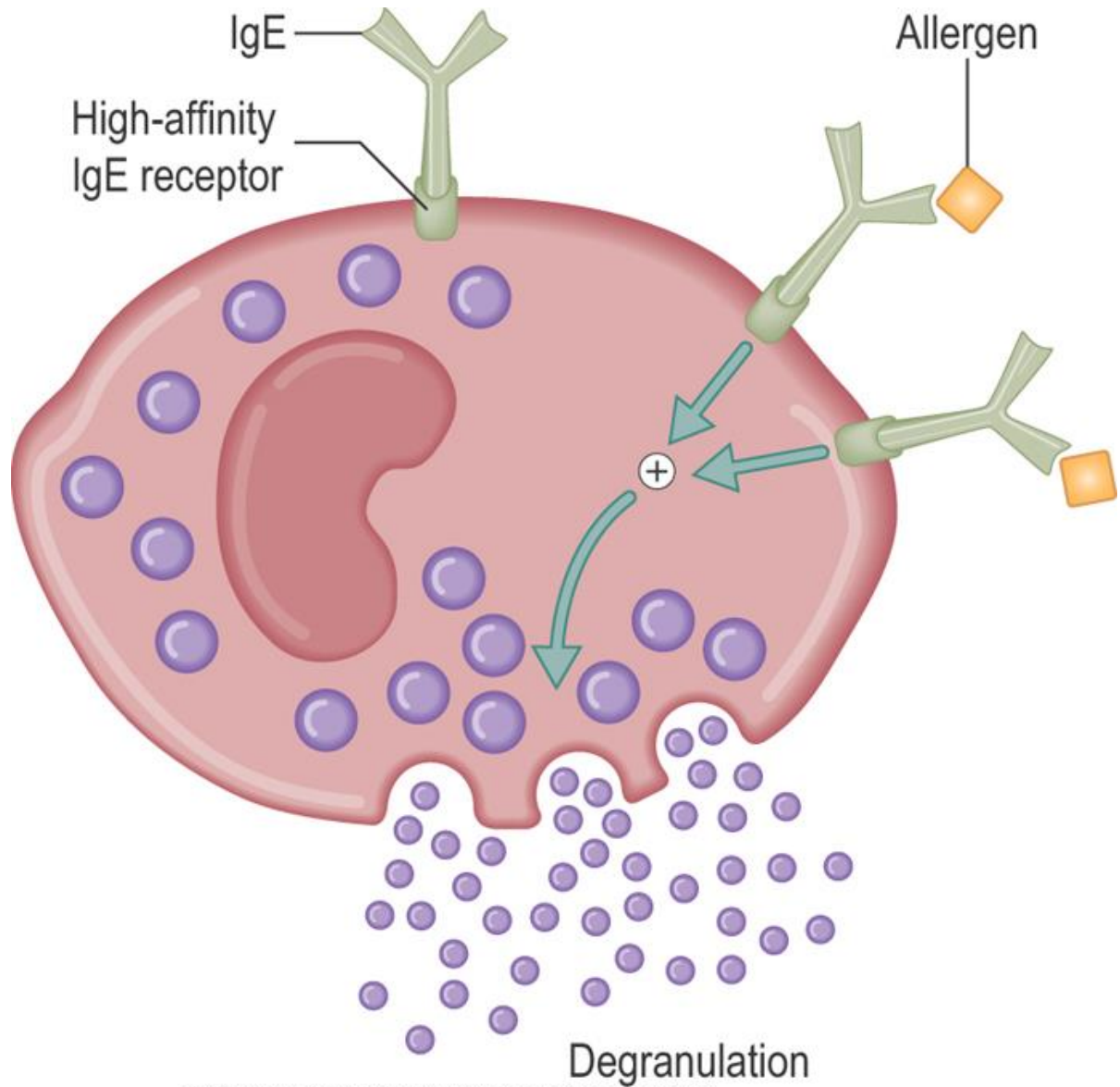
Bennich, H. H., K. Ishizaka, S. G. Johansson, D. S. Rowe, D. R. Stanworth & W. D. Terry (1968) Immunoglobulin E. A new class of human immunoglobulin. *Immunochemistry*, 5, 327-8.

Fyziologický význam systému IgE-mastocyt-eosinofil



Eosinofilní granulocyty

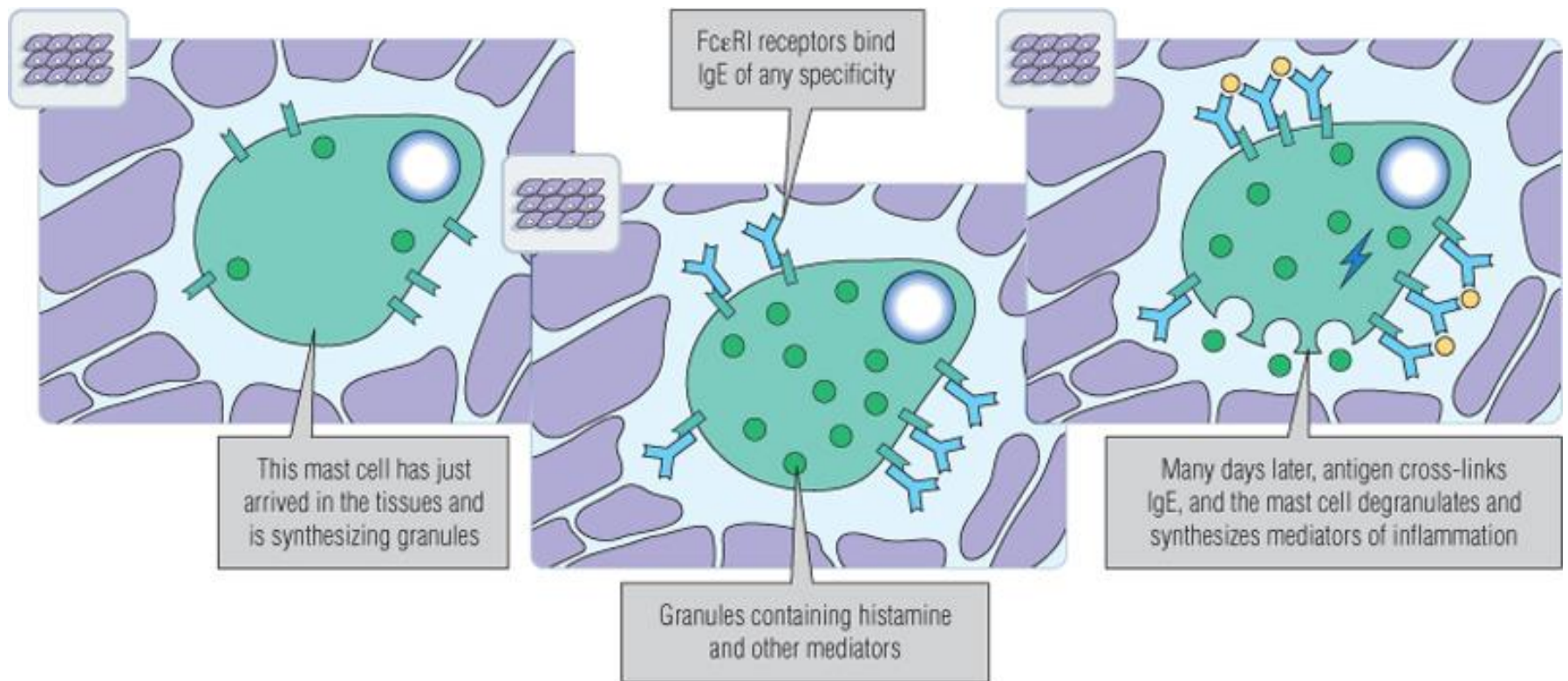
- Hypersenzitivitu I. typu doprovází většinou eosinofilní zánět tkání.
- Eosinofily produkují řadu toxických produktů: major basic protein (MBP), eosinophil cationic protein (ECP), eosinophil-derived neurotoxin (EDNT), eosinophil peroxidase (EPO) - jedná se o proteiny toxické pro řadu buněk, včetně epitelí dýchacích cest.

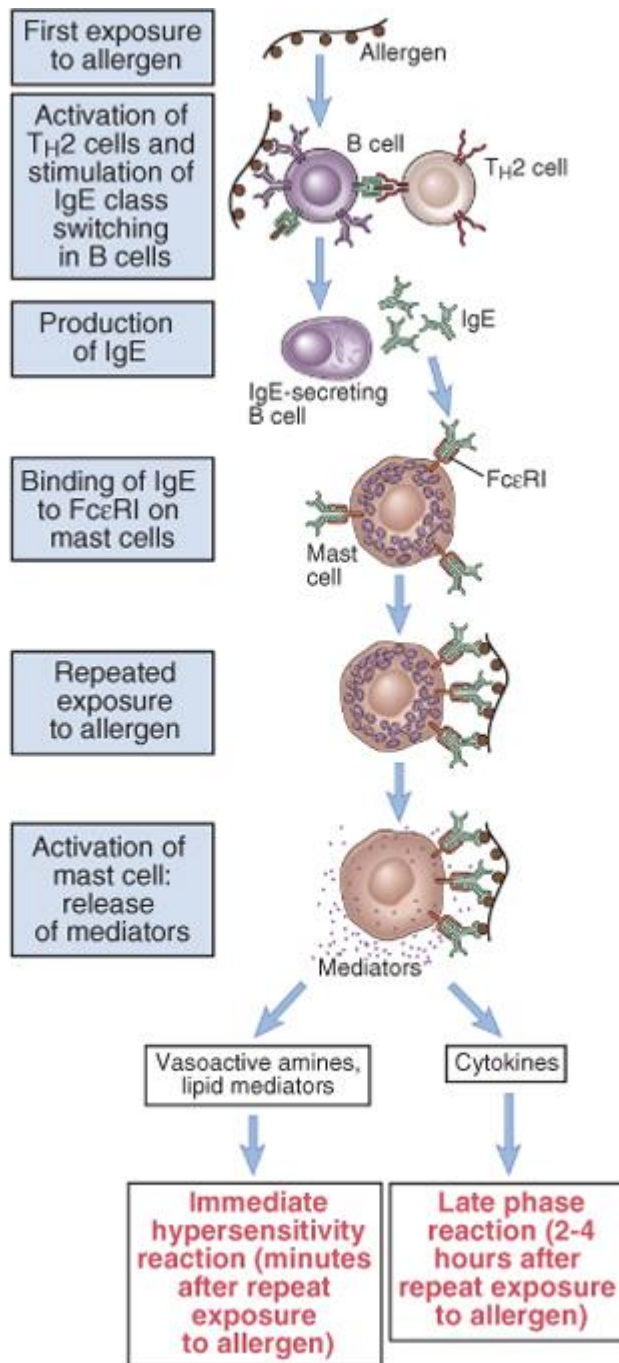


IgE
High-affinity
IgE receptor

Allergen

Degranulation





Atopie

Atopie

genetická predispozice odpovídat tvorbou specifického IgE po stimulaci některými cizorodými antigeny, ty pak označujeme jako alergeny.

Alergen

Alergen

- exogenní antigen schopný u vnímavých jedinců vyvolat patologickou imunitní reakci
- spektrum alergenů je velmi široké
- chemicky převážně glykoproteiny a proteiny

Alergeny

- **Inhalační:**
 - Pyly – traviny, stromy, plevele
 - Roztoči domácího prachu
 - Zvířecí alergen
 - Plísně
- **Potravinové**
 - Mléko
 - vejce
 - Ořechy
 - Mořské plody
- **Léky**
 - Penicilinová antibiotika, lokální anestetika
- **Injekční**
 - Jed blanokřídlého hmyzu

aminokyselinové uspořádání alergenů
umožňuje rozlišit hlavní a vedlejší alergeny

- **Hlavní alergen** látka, na kterou reaguje více než 50 % jedinců přecitlivělých na daný alergen tvorbou specifických protilátek, nejčastěji třídy IgE
- **Vedlejší alergen**

Zkřížená reaktivita alergenů

Shodnost (identita) nebo podobnost (homologie) bílkovin

Významnost shody AK sekvencí přes 50%

Optimální je 70-80% „překrytí“

Nad 80% panalergeny-profiliny BETv2, tropomyoziny....

Nejdůležitější zkřížené reakce:

Bříza(čeled břízovité: bříza, olše lískovité: líska, habr bukovité: buk, dub)ořechy, "české stromové ovoce" jablko, slupka brambor, kiwi, broskev, kořenová zelenina-mrkev, celer, bodavý hmyz,

Platan: ořech, broskev, kukuřice

Trávy: rajče, slupka brambor, arašidy

Pelyněk: celer, koření: muškátový oříšek, pepř, bazalka, estragon, fenykl, kmín, kopr, slunečnicový olej

Ambrozie: banán, okurka, meloun

Jitrocel: meloun

Oliva: broskev, ořechy

Soja: arašidy, čočka

Latex:(latex fruit syndrom) mango, kiwi, papaja, banán, ananas, avokádo, meloun, plísň

Peří: bílek, drůbeží maso

Kravné mléko: kozí mléko, ovčí mléko, hovězí maso

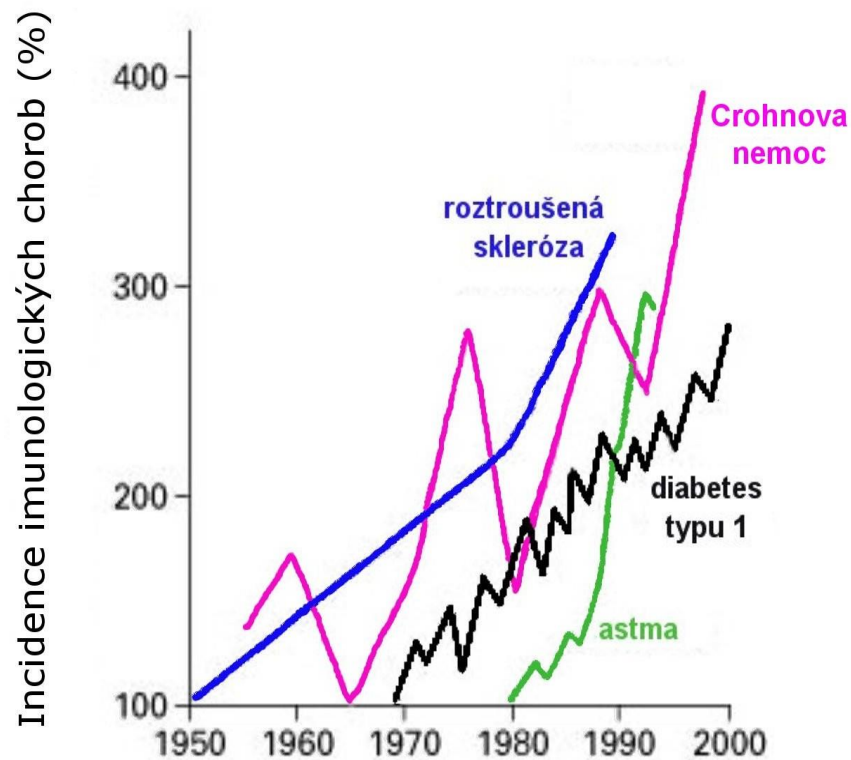
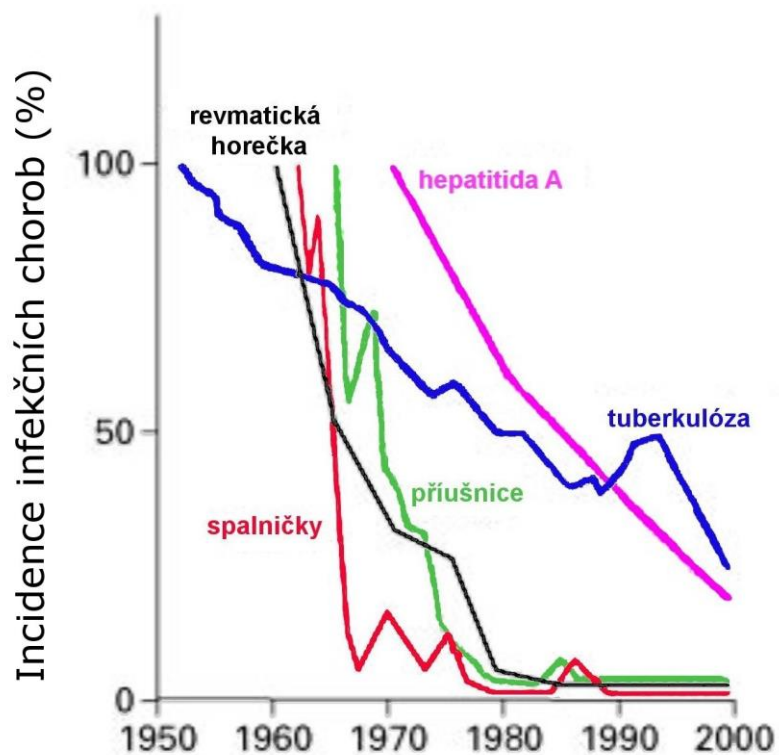
Kočka: vepřové maso

Roztoči domácího prachu: "dary, plody moře" : korýši: humr, krab, kreveta langusta a měkkýši: chobotnice, mušle, sépie, škeble, ústřice a suchozemští hlemýždi

Prevalence alergických chorob v populaci

Prevalence v ČR 1996-2006 v populaci dětí a
dospívajících nárůst 17-32%

Incidence infekčních a imunologických chorob v letech 1950 - 2000



K rozvoji alergie v organismu, musí být splněny základní předpoklady, působící ve vzájemné součinnosti:

- Genetická predispozice
- Senzibilizace vůči alergenům
- Působení nespecifických adjuvantních vlivů

- Pravděpodobnost atopie u dítěte :
 - jsou-li oba rodiče atopici je asi 80%,
 - je-li jeden atopikem: 50%,
 - není-li nikdo atopik: 15%.
- Konkordance astmatu u monozygotních dvojčat je pouze 50-69%

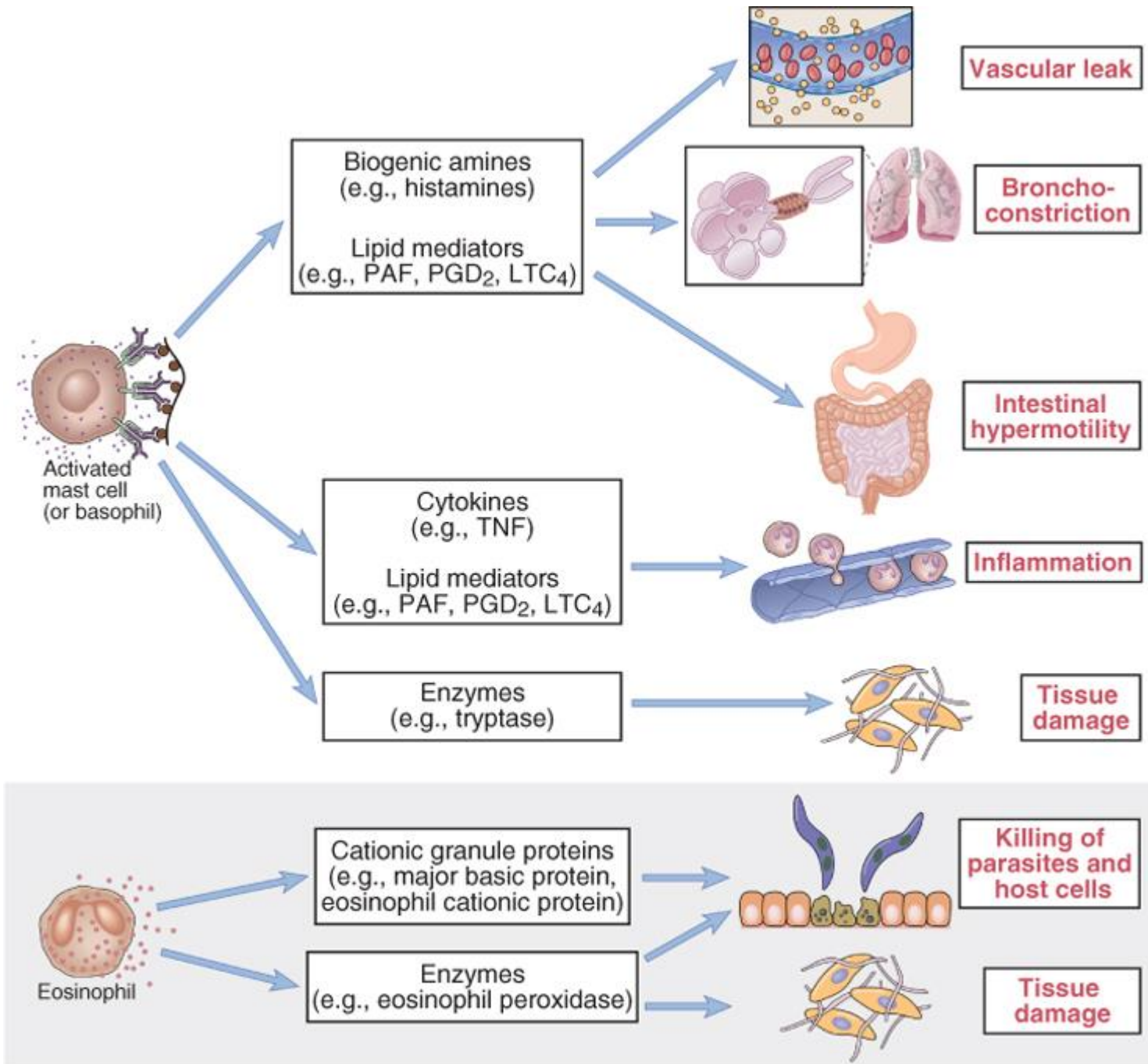
Kandidátní oblasti lokusů atopických chorob

- 5q31-33 : cytokiny a jejich receptory: IL-4, IL-5, IL-9, IL-13
- 11q13: vysokoafinitní receptor pro IgE
- 6p: geny HLA, TNF- α
- 1q, 4q, 7q31, 12q14.3-q24.31, 14q11.2-g13, 16p21, 17q, 19q

Hygienická hypotéza

Nedostatek expozice infekčním činitelům, symbiotickým mikroorganismům (např. střevní flóře nebo probiotikům) a parazitům zvyšuje náchylnost k alergickým onemocněním, prostřednictvím utlumeného vývoje imunitního systému.... David P. Strachan 1989

Diagnostika alergických chorob



Mediátory žírných buněk

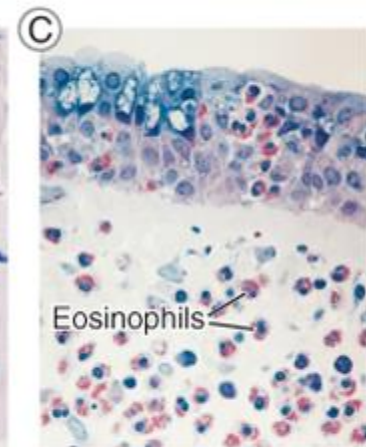
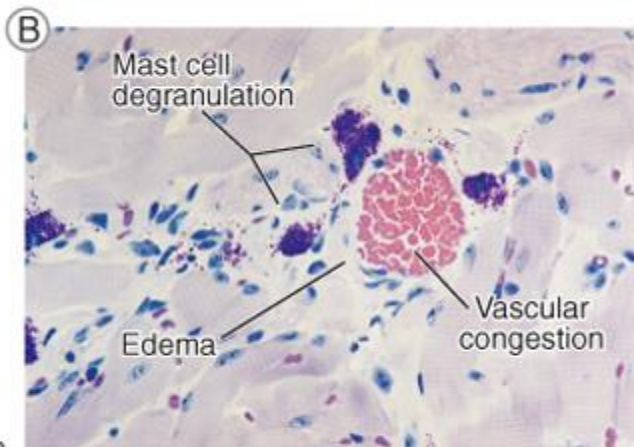
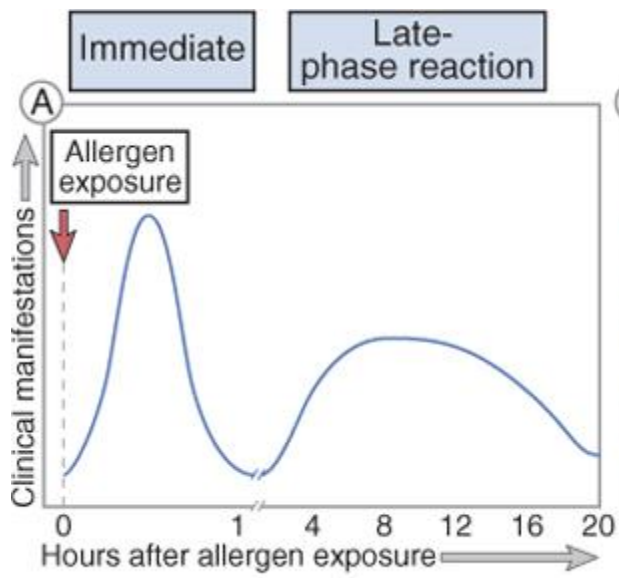
- Preformované: Histamin, heparin, chondroitinsulfát, chymáza, tryptáza, faktor chemotaktický pro eozinofily
- Nově syntetizované: leukotrieny, prostaglandiny, PAF
- Cytokiny: TNF- α (aktivace fagocytů), TGF- β (fibrotizace stěny bronchů), IL-5 (stimulace tvorby eozinofilů) , IL-6 (mj stimulace tvorby imunoglobulinů, včetně IgE).

Mediátory pozdní fáze alergického zánětu

- Prostaglandiny: PGD_2 - zarudnutí, zvýšená permeabilita kapilár, bronchokonstrikce
- Leukotrieny: LTB_4 : chemotaxe granulocytů
- LTC_4 a LTD_4 : kontrakce hladké svaloviny cév, spasmus průdušek
- Destičky aktivující faktor (PAF): stimulace makrofágů k tvorbě IL-1 a $\text{TNF-}\alpha$. Aktivace destiček, neutrofilů a eozinofilů. Nejúčinnější chemoatraktant pro eozinofily.
- RANTES (regulated on activation, normal T cell expressed and secreted)- produkován T-lymfocyty. Působí chemotakticky na lymfocyty a eozinofily.

Buňky účastníci se zánětu při alergické reakci

- Eozinofily - produkce leukotrienů, PAF, Th2 cytokinů, toxických produktů, TGF- β
- Žírné buňky - produkce histaminu a mediátorů pozdní zánětlivé reakce
- Neutrofily - tvorba kyslíkových radikálů, cytokinů, chemokinů
- Makrofágy - tvorba zánětlivých cytokinů, ale i TGF- β a dalších růstových faktorů pro fibroblasty
- Epiteliální buňky - mj. produkce eotaxinu
- Th2 lymfocyty
- Fibroblasty - fibrotická přestavba zánětlivé tkáně



- Důkladná anamnéza
- Fyzikální vyšetření
- Alergologické testy: in vivo / in vitro
provokační / eliminační

„Zlatý standard“ kožní test poprvé provedl Charles Harrison Blackley (†5.4.1820, †4.9.1900) roku 1870.

Blackley, C. H. (1873)

*Experimental Researches on the Causes and Nature of
Catarrhus*

Aestivus (Hay-Fever or Hay-Asthma).

Blackley, C. H. (1880).

*Hay Fever: Its Causes, Treatment, and
Effective Prevention.*

Alergie diagnostika in vivo

- Použití standardizovaných extraktů
- Pozitivní a negativní kontrola
- Provedení testů na normální kůži
- Zhodnocení dermografismu
- Medikace užívaná pacientem
- Odečtení za 15 min
- Měření pupenu

Alergie diagnostika in vivo

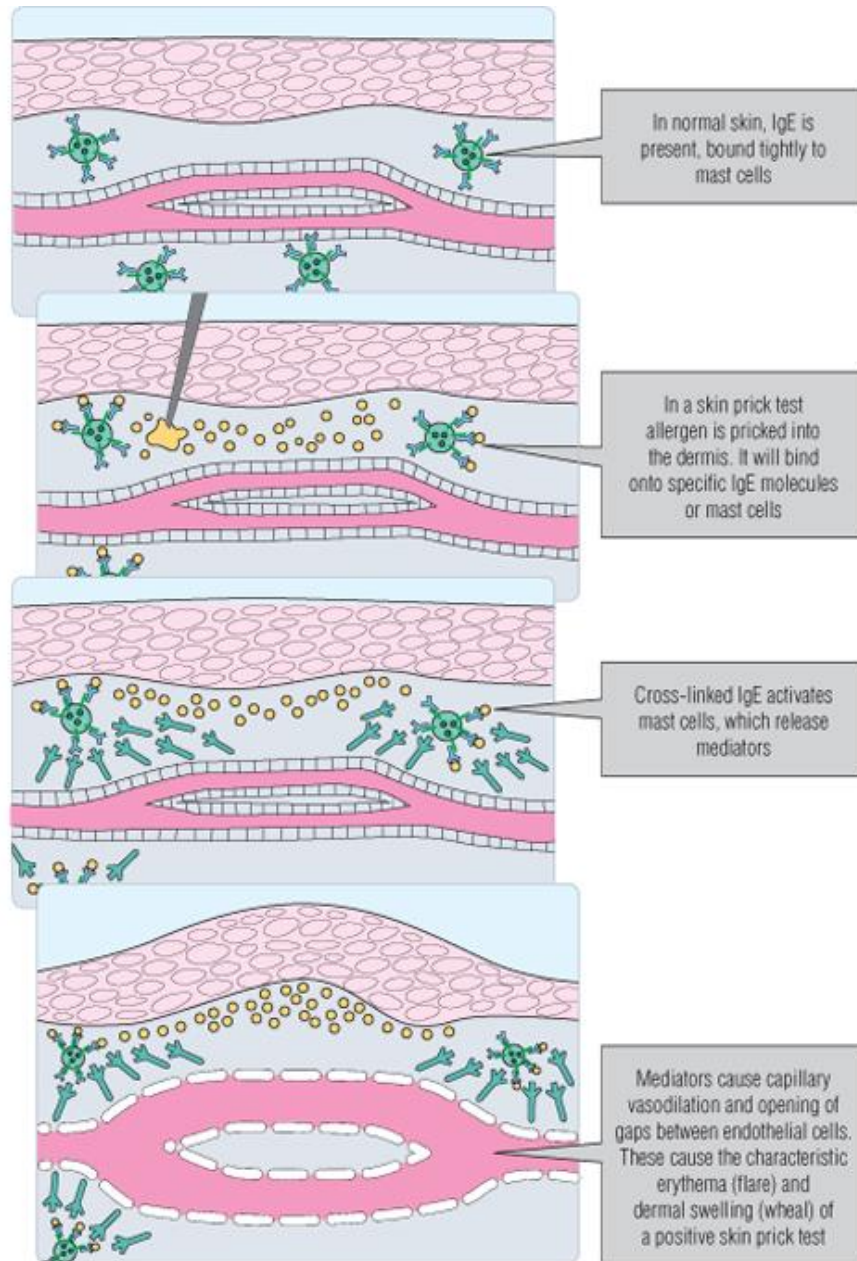
Princip : zavedení malého množství dobře charakterizovaného alergenového extraktu do epidermis

Žírné buňky 5-12 000/mm³ v závislosti na lokalizaci, věku

+ reakce : Alergenové přemostění alergen-specifických molekul IgE na povrchu kožních žírných buněk → indukce signálu → degranulace, uvolnění histaminu + novotvorba dalších mediátorů (vazodilatace, ↑cévní permeability)

→ tkáňový otok, pupen

- Prick test (inhalační alergeny, potravinové alergeny)
- Intradermální test (hymenoptera)



In normal skin, IgE is present, bound tightly to mast cells

In a skin prick test allergen is pricked into the dermis. It will bind onto specific IgE molecules or mast cells

Cross-linked IgE activates mast cells, which release mediators

Mediators cause capillary vasodilation and opening of gaps between endothelial cells. These cause the characteristic erythema (flare) and dermal swelling (wheal) of a positive skin prick test

- Stanovení celkového a specifického IgE
- Eozinofilie v KO
- Test aktivace bazofilů
- Testy uvolnění mediátorů
- Testy aktivace a transformace lymfocytů po stimulaci alergenem



Komponentová diagnostika

- Moderní „in vitro metoda“, umožňující stanovení přecitlivělosti časného typu vůči přesně definovaným molekulám, které jsou v příčinné souvislosti s alergickým onemocněním
- Produkce specifických IgE protilátek proti 1 epitopu alergenu
- Upřesnění a zkvalitnění diagnostiky alergie (nepracujeme se směsí, ale se známou a přesně definovanou molekulou)
- Hlavní /vedlejší alergeny

Celkové IgE

Primární materiál krev

IgG 11,200 g/l

IgA 1,540 g/l

IgM 1,000 g/l

IgE <19 kU/l

Specifické IgE

Primární materiál krev

GP1 trávy raně kvetoucí < 0,10 kU/l

TP5 stromy raně kvetoucí 1,18 kU/l

G6 bojínek luční < 0,10 kU/l

T3 bříza bradavičnatá 24,50 kU/l

W1 ambrózie pelyňkolistá < 0,10 kU/l

W6 pelyněk černobýl < 0,10 kU/l

D1 Dermatophag. pteronyssinus 0,16 kU/l

D2 Dermatophagoides farinae < 0,10 kU/l

D3 Dermatophagoides microceras < 0,10

D74 Euroglyphus maynei < 0,10

MP1 plísně (M1, M2, M3, M6) < 0,10 kU/l

E2 pes - epitel < 0,10 kU/l

E5 pes - srst < 0,10 kU/l

E70 husa - peří < 0,10 kU/l

Hodnocení:

koncentrace	třída	interpretace
<0.10	0	negativní
0.10 - 0.34	H	hraniční
0.35 - 0.69	I	pozitivní
0.70 - 3.49	II	silně pozitivní
3.50 - 17.49	III	silně pozitivní
17.50 - 52.49	IV	silně pozitivní
52.50 - 100.00	V	silně pozitivní
>100.00	VI	silně pozitivní

RAL IgE

Primární materiál krev

r Bet v 1 9,96 kU/l

r Bet v 2 0,00 kU/l

r Phl p 1 0,00 kU/l

r Phl p 5b 0,00 kU/l

Terapie

- Eliminace alergenů
- Farmakoterapie úlevová/profylaktická terapie
- Imunoterapie alergenem = jediná kauzální léčba alergie

Terapie

alergenová imunoterapie, desenzibilizace,
hyposenzibilizace AIT

Imunoterapie alergenem je jediný léčebný postup, kterým snižujeme atopickou reaktivitu pacienta přeladěním jeho odpovědávosti v subsystému Th2 pomocných lymfocytů na odpovědávost v subsystému Th1, tj. od atopické odpovědávosti k normální

Terapie

alergenová imunoterapie, desenzibilizace,
hyposenzibilizace AIT

Specifická alergenová imunoterapie (dříve
hyposenzibilizace, desenzibilizace)

V roce 1911 Noon a Freeman patřili mezi
první, kteří publikovali její léčebné užití.

Tab. 1 INDIKACE ALERGENOVÉ IMUNOTERAPIE

indikace u

symptomy

symptomy

symptomy

pacient rini

léčba antih

pacient ne

pacient, je

indikace u

pacient pro

kardiovask

a/nebo př

Tab. 2

kontraindi

klinicky zá

závažné po

karcinom a

chronické l

těžké astm

léčba β -bk

závažné poruchy psychiky

špatná compliance pacienta

Tab. 3 KLASIFIKACE SYSTÉMOVÝCH REAKCÍ PŘI ALERGENOVÉ IMUNOTERAPII

0. žádné symptomy nebo nespecifické

I. lehké systémové reakce

urtikarie

rýma

mírné astma

II. středně těžké systémové reakce

pomalou vznikající generalizovaná urtikarie

a/nebo středně těžké astma

III. těžké (ne život ohrožující) systémové reakce

rychle vznikající generalizovaná urtikarie, angioedém

a/nebo těžké astma

IV. anafylaktický šok

okamžitě se rozvíjející reakce: pruritus, erytém, exantém, urtikarie, stridor (angioedém), astma

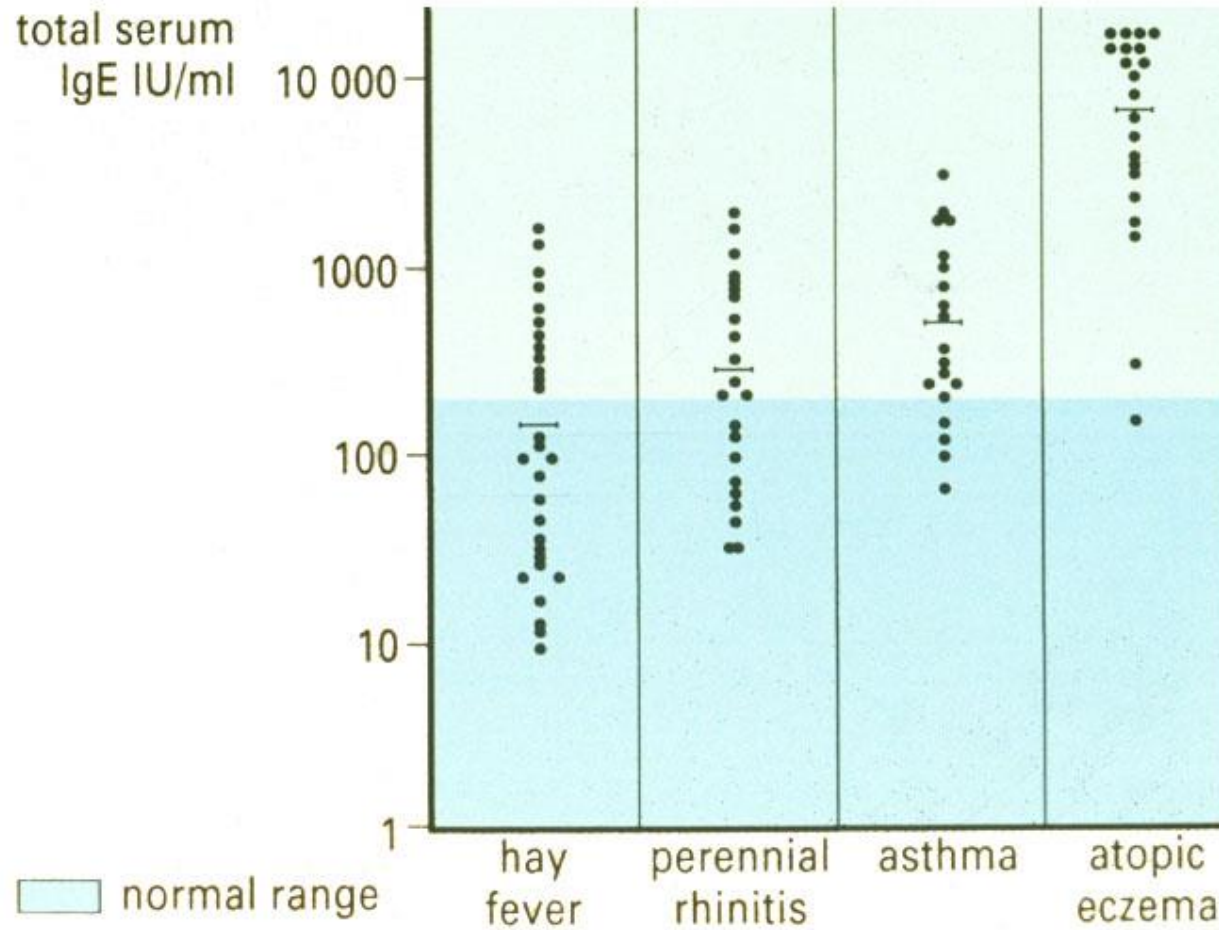
hypotenze, alterace vědomí, kardiopulmonální selhání

testem

Klinické projevy atopické přecitlivělosti

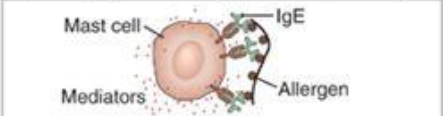
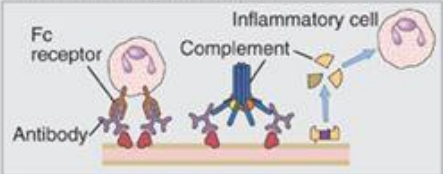
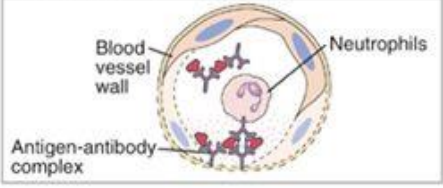
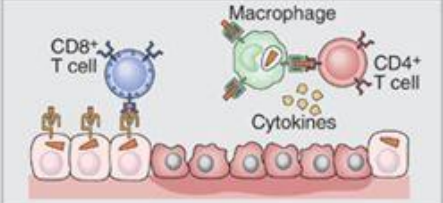
- Alergická konjunktivitida
- Alergická rýma
- Astma bronchiale
- Alergie GIT traktu
- Kopřivka a angioedém
- Atopický ekzém
- Anafylaktický šok

IgE levels and atopic disease



Přecitlivělost IV.typu

Types of Hypersensitivity Reactions

Type of hypersensitivity	Pathologic immune mechanisms	Mechanisms of tissue injury and disease	
Type I Immediate hypersensitivity (Type I)	T _H 2 cells, IgE antibody, mast cells, eosinophils 	Mast cell-derived mediators (vasoactive amines, lipid mediators, cytokines) Cytokine-mediated inflammation (eosinophils, neutrophils)	} Antibody mediated
Type II Antibody-mediated diseases (Type II)	IgM, IgG antibodies against cell surface or extracellular matrix antigens 	Complement and Fc receptor-mediated recruitment and activation of leukocytes (neutrophils, macrophages) Opsonization and phagocytosis of cells Abnormalities in cellular function, e.g. hormone receptor signaling	
Type III Immune complex-mediated diseases (Type III)	Immune complexes of circulating antigens and IgM or IgG antibodies deposited in vascular basement membrane 	Complement and Fc receptor-mediated recruitment and activation of leukocytes	
Type IV T cell-mediated diseases (Type IV)	1. CD4 ⁺ T cells (delayed type hypersensitivity) 2. CD8 ⁺ CTLs (T cell-mediated cytotoxicity) 	1. Macrophage activation, cytokine-mediated inflammation 2. Direct target cell lysis, cytokine-mediated inflammation	} T cell mediated

Diagnostika alergie IV. typu

Plátenkové – epikutánní testy

Na kůži se nanese mast s podezřelým alergenem, překryje leukoplastí.

Druhý den se mast omyje.

Třetí den se odečte reakce

Pozitivní reakce – zarudnutí, ekzémů podobné morfy, pustuly,

Provádí většinou dermatovenerologická oddělení.