

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
katedra biologických a lékařských věd

**Diagnostika alergií zprostředkovaných
imunoglobulinem E**

(bakalářská práce)

Hradec Králové, 2011

Vlasta Drahošová

„Prohlašuji, že tato bakalářská práce je mým původním autorským dílem a veškeré myšlenky, data a jejich zdroje, z nichž jsem pro zpracování čerpal/a, řádně cituji. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

datum

podpis

Na tomto místě bych chtěla zejména poděkovat svému vedoucímu bakalářské práce MVDr. Václavu Fejtovi za jeho cenné rady, podporu, připomínky a metodické vedení, bez kterého by tato práce nevznikla. A dále bych chtěla poděkovat všem, co mi pomáhali, hlavně s technickou podporou zpracování závěrečného vzhledu této práce.

Obsah

1. Abstrakt	5
2. Summary	6
3. Zadání bakalářské práce – cíl práce	7
4. Teoretická část	8
4.1. Imunopatologie	8
4.2. Průběh imunitní reakce	9
4.3. Mediátory alergické reakce	11
4.4. Buňky spolupracující na alergické reakci	11
4.5. Predispozice k alergiím a faktory ovlivňující jejich výskyt	12
4.6. Diagnostika alergických onemocnění	14
4.6.1. Anamnéza	15
4.6.1.1. Anamnestický rozbor v alergologii	16
4.6.2. Fyzikální vyšetření	17
4.6.3. Alergologické kožní testy	17
4.6.3.1. Prick-test	18
4.6.4. Laboratorní diagnostika alergií	19
4.6.4.1. Celková hladina imunoglobulinu E	19
4.6.4.2. Vyšetření specifického IgE	20
4.6.4.3. Testy stanovení mediátorů	21
4.6.4.4. Eozinofilní kationický protein	21
4.6.4.5. Test uvolnění histaminu	22
4.6.4.6. Test aktivace bazofilů	22
4.6.5. Další druhy diagnostických testů	23
4.6.6. Terapie alergických onemocnění	24
5. Praktická část	25
5.1. Úvod.....	25
5.2. Grafy	25
6. Závěr	32
7. Zkratky	33
8. Seznam použité literatury	34

1. Abstrakt

V této bakalářské práci jsme se snažili uchopit téma Diagnostika alergií zprostředkovaných imunoglobulinem E. Záměrem bylo stručně a jasně popsat alergii od začátku až do konce.

Práce je rozdělena na část teoretickou a část praktickou. V teoretické části popisujeme vznik alergie od molekul až ke klinickým projevům. Hlavně se zde ale zabýváme diagnostickými testy, které by nám měly přiblížit, jak se taková alergie vůbec zjišťuje. Vzhledem k tomu, že je tato část velmi obsáhlá, vybrali jsme jen ty nejdůležitější a nejpoužívanější testy. Jen velmi krátce jsme se zmínili o terapii. Pro snadnější orientaci jsme používali obrázky a schémata.

V části praktické jsme zpracovali výsledky vyšetření celkového a specifického IgE za celý rok 2010 ze spádové oblasti Nemocnice Havlíčkův Brod. Hlavním cílem této části bylo zjistit nějaké údaje o vývoji alergií v našem okolí. Doufali jsme, že bychom mohli najít zajímavé výsledky a to se nám v některých případech povedlo, v jiných se jen potvrdily staré známé pravdy.

2. Summary

In this bachelor work we have tried to handle the topic Diagnostics of the allergies mediated by the immunoglobulin E. The aim was to shortly and clearly describe the allergy from the beginning to the end.

The work has been divided into the theoretical and practical part. In the theoretical part the origin of the allergy from the molecule to the clinical demonstration has been described. However it is mainly dealt with the diagnostic tests, which should show us how such allergy is being discovered. With regard to the fact that this part is very wide, the most important and most widely used tests have been chosen. The therapy has been mentioned only very briefly. For the easier orientation the images and schemes have been used.

In the practical part the examination results of the overall and specific IgE for the whole year 2010 from the attraction zone of Hospital in Havlíčkův Brod have been covered. The main aim of this part was to find out some data about the allergy evolution in our environment. We hoped that we might have found interesting results; and we think this has happened in some cases; in the others the old and known truths have been confirmed.

3. Zadání bakalářské práce – cíl práce

Alergická onemocnění představují v dnešní době jeden z největších problémů v medicíně v oboru imunologie. Potýkají se s ním zejména vyspělejší země světa a podle posledních průzkumů se ukázalo, že tímto onemocněním trpí asi 20% populace. Alergie jsou způsobeny neadekvátní reakcí imunitního systému na některé běžně se vyskytující antigeny (alergeny) zevního prostředí. Toto onemocnění je způsobeno kombinací faktorů. Tyto predispozice se nedají předem určit. (Hořejší a Bartůňková, 2009)

Právě kvůli této problematice vzniká naše práce. Zvědavost nám nedala, abychom nezkusili udělat malý průzkum výskytu alergií zprostředkovaných imunoglobulinem E v našem okrese. Data a informace, které budeme zpracovávat pocházejí ze spádové oblasti Nemocnice Havlíčkův Brod a proto doufáme, že se nám povede udělat seriózní náhled na situaci u nás v okolí. Zpracováváme výsledky za celý rok 2010. Naším cílem je zjistit, jak se situace v průběhu času mění a popřípadě informace, které z této práce vzejdou, poskytnout někomu, kdo by s nimi mohl adekvátně a užitečně zacházet v další činnosti, která by byla všeobecně prospěšná.

4. Teoretická část

4.1. Imunopatologie

Každý systém, ať už orgánový nebo jiný, může po čase přestat fungovat tak správně, jak by měl. Pokud se zaměříme na imunitní systém člověka, hovoříme o alergiích, pokud organismus přehnaně zareaguje na nějaký běžný podmět (antigen) z vnějšího prostředí. Zatímco autoimunita, neboli autoagrese je neadekvátní reakce organismu proti vlastním strukturám (tkáním, buňkám), která vede k jeho poškození. I přes různorodost těchto onemocnění se dají podle určitých zákonitostí rozdělit do pěti hlavních skupin imunopatologií. (Jílek, 2008)

Elementárním léčebným způsobem je identifikace alergenu a jeho případnou eliminací z okolí. Pokud je tato možnost vyloučena, musí se přejít na léčbu medikamentózní, která obecně působí na organismus protizánětlivými a imunosupresivními látkami. (Hořejší a Bartůňková, 2009)

My se budeme zabývat, jak už napovídá téma této práce, imunopatologickou reakcí 1.typu, takzvanou atopickou. Pouze pro komplexnost bychom chtěli velmi stručně uvést zbylé typy reakcí. Další z nich je reakce 2.typu, takzvaná cytotoxická, která je zprostředkována protilátkami typu IgG a IgM, zodpovědná za ztrátu tolerance proti vlastnímu tělu. Reakce 3.typu, imunokomplexová, způsobuje po reakci antigenu s protilátkou vznik komplexů, které svojí přítomností na nevhodných místech vyvolávají v organismu nežádoucí účinky. Pozdní přecitlivělost, neboli reakce 4.typu je odlišná od ostatních, protože hlavní úlohu v ní hrají lymfocyty T, které zprostředkovávají zvýšenou citlivost organismu a mohou tak např. způsobovat kontaktní dermatitidy. A poslední, imunopatologická reakce 5.typu, kdy protilátky reagují s receptory pro hormony a vyvolávají tak onemocnění. (Jílek, 2008)

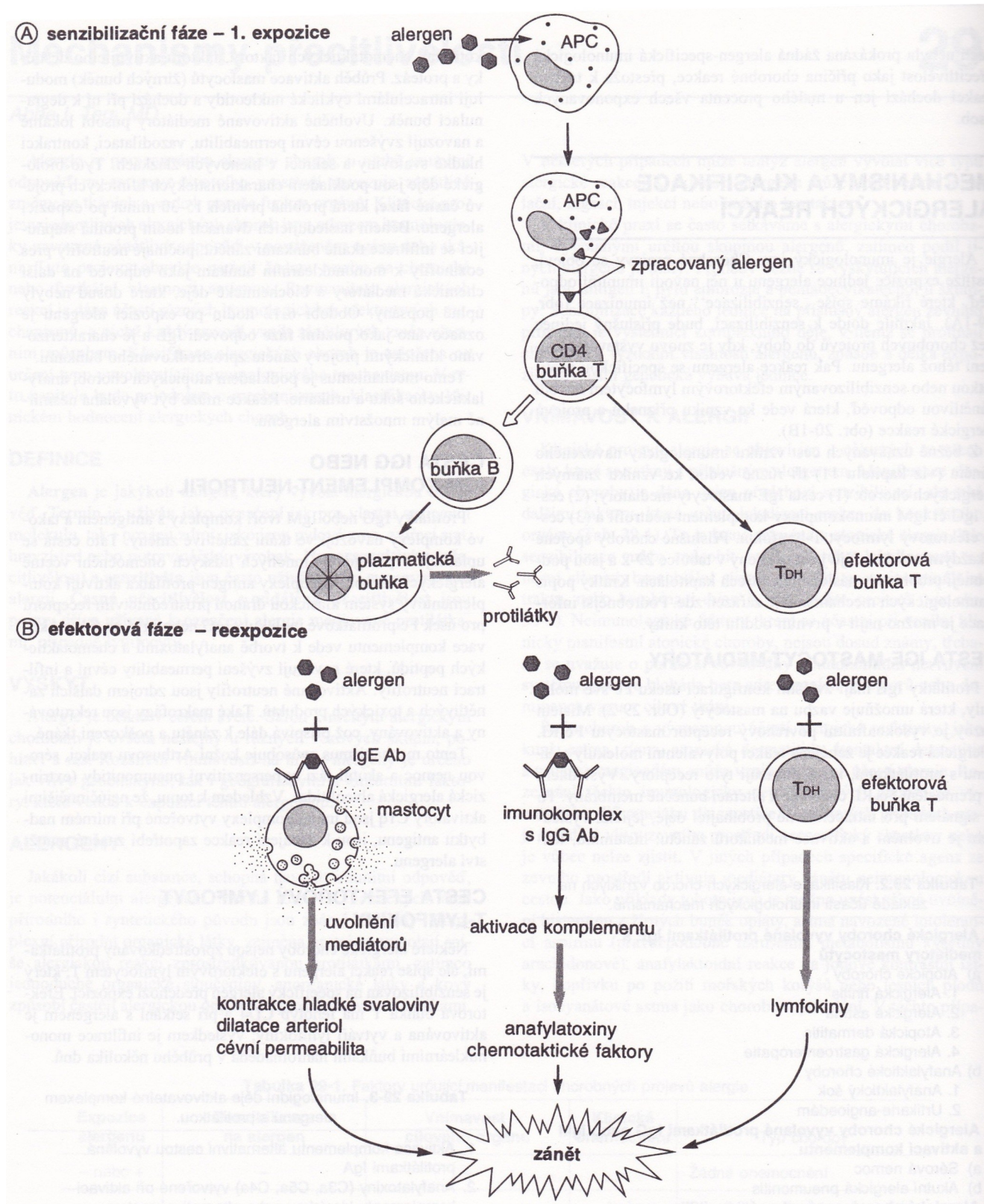
4.2. Průběh imunitní reakce

Alergie vzniká, když v těle proběhne několik po sobě jdoucích a na sebe navazujících reakcí. Začíná to vstupem a zpracováním alergenu, jeho představením lymfocytům T a jejich diferenciaci, naladění do subtypu Th2. Dále tato reakce pokračuje podporou zmnožení lymfocytů B do plazmatických buněk, které vytvářejí imunoglobuliny hlavně izotypu E. Konečnou fází alergické reakce je vazba alergenu na IgE navázané na žírných buňkách, které se tímto degranulují. Vylité látky pak následně způsobí alergický zánět. Takto (velmi zkráceně) probíhá alergická reakce a my bychom se chtěli tímto tématem zabývat v úvodní, teoretické části společně s diagnostikou alergií.

Alergie je již vzniklý klinický projev onemocnění. Atopie je dědičně podmíněná dispozice ke vzniku onemocnění a alergen je látka vyvolávající alergickou reakci. Běžné alergeny jsou: roztoči, zvířecí srst, pylová zrna různých druhů rostlin, houby a plísně, léky, potravinové alergeny, jedy hmyzu atd. Tyto látky se mohou do organismu dostat různou cestou například kůží, vdechnutím nebo gastrointestinálním traktem. Po vstupu alergenu do organismu lokálně může tělo na toto reagovat několika možnými způsoby. Nejběžnější je alergická rýma, konjunktivitida, astma bronchiale nebo atopický ekzém. V horším případě nastává systémová reakce, tzv. anafylaktický šok, kdy se alergen dostane přímo do krve již nemocného člověka. To způsobí hromadnou degranulaci bazofilů a žírných buněk, které uvolní své mediátory. Ty se roznesou po celém těle a vedou k poklesu krevního tlaku, zvýšení permeability cév a přes řadu dalších stavů až k multiorgánovému selhání v konečné fázi, kdy může dojít až ke smrti pacienta. K senzibilizaci dochází opakovaným kontaktem osoby s antigenem. V tu chvíli se začne tvořit specifické IgE a projeví se reakce 1. typu.

Na následujícím obrázku je popsána ve fázi A senzibilizace. Je zde znázorněna imunologická odpověď na alergen a přechod ze stavu nealergického do stavu alergického. Fáze B je fáze efektorová, která ukazuje reakci na další setkání alergenu se specifickými protilátkami nebo se specificky senzibilizovanými efektorovými buňkami T.

Obr.č.1 Úloha imunitního systému v alergické reakci.



Daniel P. Stites, Abba I. Terr, Základní a klinická imunologie, A Publishing Division of Prentice Hall, 1991, str.336. ISBN 80 – 85605 – 37 – 6

Imunoglobulin E (dále již jen IgE) je hlavním imunoglobulinem pro reakci 1. typu. Produkce IgE nastává po vystavení pacienta alergenu. Imunitní reakce typu Th1 se nazývá zánětlivá reakce a základní funkcí Th1 buněk je spolupráce s makrofágy a jejich stimulace k přeměně na aktivované buňky. Antigen prezentující buňky předkládají fragmenty alergenu naivním CD4 T buňkám. Tyto lymfocyty se za přítomnosti IL-4 diferencují do Th2 buněk. Hlavní funkcí imunitní reakce typu Th2 buněk je spolupráce s B lymfocyty, které byly předem stimulovány rozeznáním antigenu. Po takto proběhlé interakci se zmnoží klon B buněk a ty se mohou dále diferencovat v plazmatické buňky produkující protilátky. Hlavní cytokiny zodpovědné za tento přesmyk jsou IL-4 a IL-3 a také přímý mezibuněčný kontakt. Tento kontakt je zprostředkován páry adhezivních a signalizačních povrchových molekul. Nezbytná je spolupráce T a B lymfocytů prostřednictvím ligandu CD40L na T lymfocytech a molekuly CD40 na B lymfocytech. Po navázání IgE na specifický receptor na povrchu mastocytů a bazofilů a následné interakci s alergenem dochází k expresi CD40L a sekreci IL-4. Tato reakce zvyšuje produkci IgE B lymfocyty. Toto je kaskáda, která musí proběhnout, aby z prekurzorové buňky vznikl klon zralých efektorových lymfocytů. Při opakovaném kontaktu s alergenem dochází k uvolňování mediátorů ze žírných buněk a bazofilů. To způsobí klinické projevy alergické reakce popsané výše. (Hořejší a Bartůňková, 2009 ; Čáp a Průcha, 2006)

4.3. Mediátory alergické reakce

Mediátory jsou látky, které zvyšují permeabilitu cév a způsobují degranulaci eozinofilů a neutrofilů. Mezi nejznámější patří histamin, adenosin, bradykinin, tryptáza, metabolity kyseliny arachidonové a některé cytokiny. Tento odstavec uvádíme proto, protože jsou to důležité informace vzhledem k léčbě a hlavně i k diagnostice alergií.

4.4. Buňky spolupracující na alergické reakci

Pro úplnost bychom rádi uvedli jen stručnou charakteristiku nejdůležitějších buněk zúčastňujících se na alergické reakci.

Eozinofily: Mají schopnost zabíjet parazity. Toto je součástí imunitních složek, zahrnujících IgG, IgA, IgE a fragmenty komplementu. Vytváří zánětlivé mediátory. (Stehlík, 1999)

Neutrofilly: Migrují do místa zánětu a aktivně fagocytují škodliviny. Jsou řízeny mediátory z T lymfocytů a makrofágů.

T-lymfocyty: Mají receptory pro rozpoznání specifických antigenů a pomocnou potlačující schopnost nebo přímou cytotoxickou funkci.

B-lymfocyty: Jsou součástí specifických imunitních reakcí a jsou zdrojem protilátek. Po aktivaci se mění na plasmatické buňky.

Bazofily: Jejich cytoplasmatická granula obsahují hlavně mediátor histamin, který po degranulaci vede např. k aktivaci krevních destiček nebo k produkci metabolitů kyseliny arachidonové. Na svém povrchu nese adhezivní molekuly.

Žírné buňky: Žírná buňka je tkáňovou formou bazofilu. Hlavní fyziologická funkce spočívá v obraně proti parazitárním infekcím, mají roli při regulaci imunitní odpovědi. Při patologických okolnostech vedou k časnému typu přecitlivělosti a mají význam při rozvoji alergického zánětu. Jejich granula obsahují histamin.

4.5. Predispozice k alergiím a faktory ovlivňující jejich výskyt

Velmi významnou roli ve výskytu alergií hrají genetické predispozice, které se bohužel nedají vůbec ovlivnit. Dají se pouze s určitou pravděpodobností předpovědět. U dítěte, jehož oba rodiče jsou zdraví je tato pravděpodobnost přibližně 5-15%. Když je jeden rodič nemocný, toto riziko stoupá na 20-40% a v případě výskytu alergie u obou rodičů, pravděpodobnost výskytu je až 60-80%.

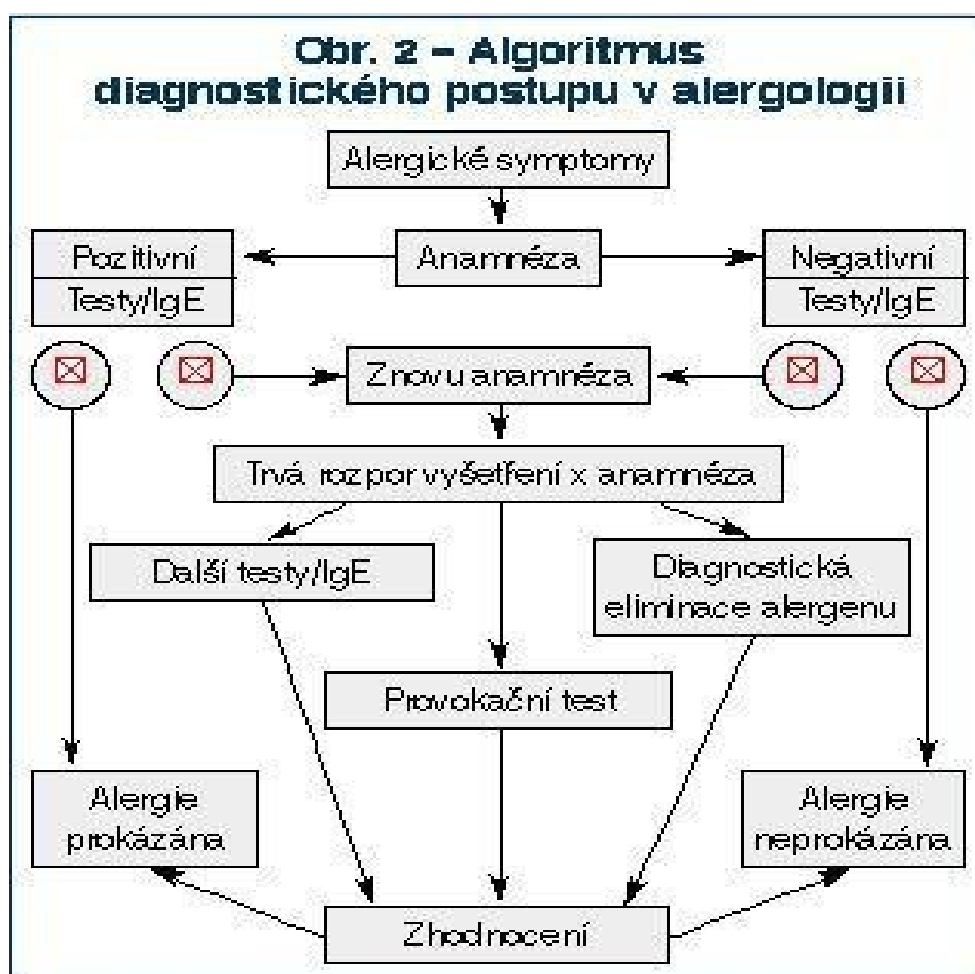
Další příčiny ovlivňující výskyt alergií jsou více či méně ovlivnitelné. Existuje tzv.“hygienická teorie“, která říká, že pokud je dítě vystaveno příliš sterilnímu prostředí, je k alergiím více náchylné. Tentýž efekt může mít i nadbytečná konzumace antibiotik.

Přesným opakem druhého faktoru je silná a předčasná expozice alergenům. Tato situace může nastat například při kojení a nebo později při učení potravních zvyků.

A nakonec asi nejběžnější faktor. Znečištění životního prostředí. Pokud se budeme zabývat vlivy vně budov, mohou to být například saze, výfukové plyny a mnoho dalších. A pokud se jedná o prostředí uvnitř budov, tak je to třeba tabákový kouř nebo suchý vzduch.

4.6. Diagnostika alergických onemocnění

K tomu, aby se alergie správně diagnostikovala, je nutné nejprve navštívit svého praktického lékaře. Ten provede základní vyšetření a má za úkol rozlišit, zda se opravdu jedná o onemocnění alergologického původu, protože i nealergické choroby mají podobné nebo stejné příznaky. Pokud se praktický lékař rozhodne, že se opravdu může jednat o alergii, doporučí pacienta k odborníkovi. Vlastní alergologické vyšetření se pak skládá z několika bodů, kterými se budeme zabývat v této kapitole. Tyto součásti jsou: anamnéza, fyzikální klinické vyšetření, kožní testy, laboratorní vyšetření a podle nutnosti testy provokační, expoziční nebo epikutánní. Pro lepší orientaci přikládáme zjednodušené grafické schéma diagnostiky alergií. (Špičák a Panzner, 2004)



www.zdn.cz/clanek/postgradualni-medicina/diagnostika-alergicky-ch-onemocneni-163569

4.6.1. Anamnéza

Odborné slovo anamnéza má ve skutečnosti velmi jednoduchý význam. Je to pohovor mezi lékařem a pacientem. Už tento počáteční krok má ovšem nezanedbatelnou váhu, protože už samotná kvalitní anamnéza může odhalit alergii. Je to práce poněkud rozsáhlá a zdlouhavá, ale přináší většinou výsledky, kterými se potom lékař dále řídí. Tato práce má téměř detektivní charakter, ale podle získaných informací z pohovoru se mohou dále provádět už jen definitivní vyšetření, která diagnózu potvrdí. A samozřejmě lékař dostane představu o klinickém obrazu pacienta. (Špičák a Panzner, 2004)

Anamnézy můžeme rozdělit do třech hlavních skupin.

Anamnéza rodinná a sociální: Zde se lékař snaží zjistit, výskyt různých alergických onemocnění v užším i širším kruhu rodiny, jak už sám napovídá název.

Pracovní anamnéza: Otázky kladené v tomto okruhu mají svůj význam, protože existuje mnoho profesních alergií, které pacient získá v pracovním prostředí a lékař by měl vědět, v jakém zaměstnání dotyčný pracuje. Pokud se jedná o dítě, zajímá se o školu a jeho prostředí.

Osobní anamnéza: V této části se lékař zaměřuje hlavně na průběh těhotenství a porodu, na poporodní vývoj, reakce na očkování, časté a opakované infekce a další. Smyslem je, získat pohled na chování organismu z imunologického hlediska.

Poslední součástí anamnézy jsou otázky kladené z okruhu současného výskytu některých dalších alergických projevů, o kterých se ještě nemluvílo. Pacient by měl lékaře upozornit i na jeho choroby, které s alergií nemají zdánlivě nic společného. Samozřejmostí je, zeptat se hned na začátku, s jakým problémem pacient přichází a odtud se pak vyvine průběh pohovoru a charakter otázek. Přesto je však dobré, mít připravený seznam otázek. Proto zde uvádíme heslovitý anamnestický rozbor, který by nám upřesnil naše představy o takovém pohovoru.

4.6.1.1. „Anamnestický rozbor v alergologii

(výčet aktivních dotazů pro každého alergického pacienta)

Datum vyšetření:

Doporučil k vyšetření:

Předchozí vyšetření alergologem: kožní testy, spirometrie, laboratorní vyšetření

Rinitida: sezónní-kdy je sezóna (časné jaro, léto, pozdní léto), celoroční alergická, vazomotorická, sinusitida, polypy nosní, operace

Konjunktivitida:

Astma: dušnost klidová-námahová, zhoršení (po čem?)-zlepšení (po čem?)

kašel produktivní-neproduktivní, v noci-ve dne, venku-v místnosti, po jídle nebo bez závislosti, po fyzické námaze, po astmatických spouštěcích (prach, peří, pyly, zvířecí srst, laky, dezinfekce, parfémy, kouř, chlad, infekce zejména virová aj.)

Kouření: kolik cigaret denně, kolik let, včetně záznamu u exkuřáků

Domácí prostředí: peří (polštář, přikrývka), ústřední topení, zvířata

Profesní zátěž: latex (vždy cíleně u zdravotníků)

Časté respirační infekce: otitidy v dětství, zápal plic, fokusy (zuby, vedlejší dutiny nosní, tonzily, bronchy)

Kůže: ekzémy, kopřivky, angioedémy

Hmyz: včela, vosa, celková reakce nebo jen nepřiměřená lokální?

Potraviny: ovoce (peckoviny, kiwi, rajčata, banány aj.), zelenina (mrkev, celer), oříšky, ryby, korýši, měkkýši, med, mák aj. (u dětí zejména mléko a vejce)

Léky: antibiotika (penicilin), acylpyrin, sulfonamidy (sulfametoxazol), propyphenazon, lokální anestetika, RTG kontrastní látky

Nezbytné dotazy z obecné osobní anamnézy:

Rodinná: (kromě obecné rodinné anamnézy cíleně alergie)

Osobní anamnéza: (srdce, plíce, játra, ledviny, gastrointestinální trakt, centrální nervová soustava, štítná žláza, urogenitální systém atd.)

Pravidelná medikace:

Operace, pobyt v nemocnici:

Vždy cíleně dotazy na: epilepsii, diabetes, deprese a jiné psychické obtíže

Pracovní anamnéza:

Poznámka: Na závěr vypsání anamnestického rozboru vždy vyzveme pacienta k jakémukoliv doplnění, pak vše zopakujeme před pacientem nahlas a opět vyzveme k opravě či doplnění.“⁽¹⁾

4.6.2. Fyzikální vyšetření

„Vyšetření specialistou se v zásadě neliší od běžného vyšetření pediatrem nebo internistou. Alergolog a klinický imunolog však musí věnovat zvláštní pozornost stavu kůže, očních spojivek a víček, sliznice nosní a poslechovému nálezu plicnímu. Je samozřejmé, že vstupní vyšetření musí být podrobnější než vyšetření kontrolní, zvláště, pokud je prováděno relativně často, zdravotní stav pacienta je uspokojivý a příliš se nemění.

Alergika lze často poznat hned po vstupu do ordinace podle typické facies: bledá a suchá kůže obličej, zvýšená pigmentace pod dolními očními víčky, otok a překrvení spojivek, pootevřená ústa pro obtížnější dýchání nosem, zarudlé vchody nosní, rýha u kořene nosu od častého tření a zvedání špičky nosu nahoru (tzv. alergický pozdrav). Neklid a neustálé škrabání je typické pro generalizovaný ekzém, výdechová dušnost pro astma. Exantém, urtikarie a otoky jsou patrné při kožních projevech alergie.“⁽²⁾

4.6.3. Alergologické kožní testy

Alergologické kožní testy jsou rychlou a spolehlivou metodou ke zjištění alergie. Zjišťujeme zde přítomnost specifických IgE protilátek. Tyto protilátky jsou specifické vůči určitému alergenu u daného pacienta. Výhodou kožních testů je, že se dá testovat i více alergenů najednou a metodika je dostatečně standardizovaná. Kožní testy jsou pro pacienta relativně bezpečné a nezpůsobují mu velkou bolest.

Princip metody: Zavedení malého množství alergenového roztoku do kůže. Pokud se na povrchu žírných buněk objevují alergen specifické molekuly IgE, alergen tyto molekuly přemostí a vyvolá alergickou reakci, která způsobí vytvoření pupenu a zarudnutí v místě vpichu.

Indikace tohoto testu je při podezření na alergické onemocnění a většinou se provádí více testů najednou v tzv. základním vyšetření, ve kterém je obsaženo spektrum nejběžnějších alergenů. Jsou to hlavně pyly, roztoči, plísně a zvířecí alergeny. Tento soubor je pak doplněn podle anamnézy pacienta a nikdy nesmí chybět negativní a pozitivní kontrola.

4.6.3.1. Prick-test

Kožní testy jsou prováděny převážně formou prick-testu a bývají to testy první volby. Pokud se tento test použít nedá, zkouší se test intradermální a to jen v případě, že není dostupný vhodný alergenový roztok nebo prick-test vyšel negativně. O intradermálních testech se bavit nebudeme, protože jsou používány jen málo a jsou si s prick-testy podobné. Výhodou sice je, že jsou více senzitivnější, ale dávají větší riziko falešně pozitivních výsledků a mají větší nežádoucí účinky.

Pro prick-test se užívají lancety s hrotem dlouhým 1mm a jako alergenové extrakty se používají komerčně dodávané roztoky. Kapku roztoku nanese na očištěnou a odmaštěnou pokožku. Mezi jednotlivými kapkami necháváme mezeru alespoň tři centimetry, abychom zabránili překrývání pupenů. Do středu kapky přiložíme lancetu a vpichem narušíme pokožku. Tlak při každém vpichu by měl být stejný a takto způsobená rána by neměla krváčet. Zbytek roztoku potom opatrně odstraníme, aby nedošlo ke smíchání alergenů. Místa vpichů si označíme, aby se výsledek dal lépe odečíst.

Hodnocení takovýchto testů provádí lékař za 15 minut po aplikaci roztoku. Výsledek je vyjádřen dvěma čísly, která znamenají střední průměr vzniklého pupenu v mm. Klinická interpretace je odvislá od každého pacienta zvláště, protože např. děti reagují jinak než dospělí, a proto zde nebudeme uvádět konkrétní čísla. Samozřejmě svojí roli hraje i anamnéza a klinický obraz, popřípadě další doplňkové testy.

U prick-testů se většinou nevyskytují nežádoucí účinky popřípadě pouze lokální. Jen velmi výjimečně se může objevit reakce celková.

Tato metoda je velmi rychlá, spolehlivá, bezpečná a hlavně levná. Ve srovnání s určováním specifických protilátek je tato metoda výhodnější.

Jen velmi krátce bychom se chtěli zmínit o dalších alternativách tohoto testu. Při některých alergiích, např. potravinových, se používá testace nativním

alergenem. To je třeba šťáva vymačkaná z ovoce nebo podobně tzv. prick-prick metoda, kdy se lanceta nejprve píchne do alergenní potraviny a pak do kůže.

Pokud tento druh testů není dostačující, používá se doplňkové laboratorní vyšetření specifických IgE protilátek, o kterých se budeme bavit v následující kapitole.

4.6.4. Laboratorní diagnostika alergií

Laboratorní diagnostika zaujímá v klinické praxi velmi důležité místo, i když je stále preferováno používání kožních testů, vzhledem k jejich jednoduchosti, spolehlivosti a ceně. Pokud se ale provádí test laboratorní, na prvním místě se objevuje test koncentrace specifických IgE protilátek, také vyšetření celkových hladin IgE protilátek nebo testy uvolnění mediátorů, popřípadě testy detekující aktivaci buněk po stimulaci alergenem. Celková hladina IgE se řadí mezi testy základní. Jako upřesňující testy se nejvíce používají vyšetření specifického IgE a test na eozinofilní kationický protein (dále už jen ECP). Toto jsou hlavní testy, kterým se budeme v této kapitole nejvíce věnovat. O dalších se zmíníme jen krátce a přesto to nebude celkový výčet všech možných dostupných testů.

4.6.4.1. Celková hladina imunoglobulinu E

IgE se začíná syntetizovat už v 11. týdnu vývoje člověka a jeho hladina s věkem stále stoupá. Zvýšené koncentrace nacházíme u většiny atopických ekzémů, u alergických astmatů atd.

Toto vyšetření je důležité pro odhalování atopiků. Celkové IgE se stanovuje hlavně pomocí metod ELISA nebo RIA. Světová zdravotnická organizace vytvořila standardu. Její hmotnost je dána vztahem $IU=2,42 \text{ ng IgE}$. Toto nám pomáhá rozlišit pacienty atopické a neatopické. Hranice těchto dvou spekter je pod 20 IU/ml a nad 100 IU/ml a přesto se může stát, že zcela zdraví člověk má zvýšenou koncentraci celkového IgE. Tento jev není ještě zcela vyjasněn. Některé zdroje uvádějí, že pravděpodobně existuje rozdíl mezi alergizující a imunitní formou IgE, protože atopické IgE je schopno vázat histamin. IgE má také funkci fyziologickou, hlavně antiparazitární. (Krtičková, 1999)

„Zvýšené hladiny celkových IgE protilátek bývají často u osob s polyvalentní alergií a s výskytem různých alergických příznaků. U osob alergických na jeden alergen a s postižením pouze jednoho orgánu jsou často hladiny v normě, normální hodnota celkového IgE tedy alergii nevyklučuje.“⁽³⁾

4.6.4.2. Vyšetření specifického IgE

Stanovení koncentrace specifických IgE protilátek je klasická alergologická laboratorní technika. Hodnota se udává kvantitativně v IU/ml nebo semikvantitativně tzv. RAST třídách. Pro komplexnost textu uvádíme níže tyto skupiny.

Vztah hodnoty specifického IgE v kU/l a RAST třídy

Specifické IgE v kU/l	Třída pozitivita	Hodnota specifických IgE protilátek
< 0,35 IU/ml	RAST třída 0	negativní
0,35–0,70 IU/ml	RAST třída 1	nízká
0,70–3,50 IU/ml	RAST třída 2	středně pozitivní
3,50–17,5 IU/ml	RAST třída 3	vysoká
17,5–50,0 IU/ml	RAST třída 4	velmi vysoká
50,0–100 IU/ml	RAST třída 5	velmi vysoká
> 100 IU/ml	RAST třída 6	velmi vysoká

Tento test je cílený a používá se jako doplňující ke kožním testům. Pomocí něj se také dají určit typy přecitlivělosti. Všechny dostupné postupy metod stanovení se opírají o princip ELISA testu.

„Vyšetření specifických IgE protilátek je diagnostickou metodou volby zejména v těchto situacích: 1. U pacientů s některými kožními chorobami bránícími provedení kožních testů. 2. U pacientů s onemocněním, které neumožňuje vysadit léky interferující s výsledkem kožních testů. 3. V situacích, kdy není k dispozici kvalitní extrakt k provedení kožního testu nebo kdy kožní testy dávají méně spolehlivé výsledky (např. některé potravinové alergie aj.). 4. Při výrazné diskrepanci mezi údaji anamnestickými a výsledkem kožních testů. 5. Pro potvrzení relevantního alergenu před zahájením specifické imunoterapie či stupně citlivosti při ukončení imunoterapie. 6. Při odůvodněných obavách z velkého rizika anafylaktické reakce při provádění kožních testů. 7. Při vyšetření

silně nespolupracující osoby (mentálně nebo somaticky postižené). 8. V situaci nutnosti vyšetření dítěte, jehož věk nedovoluje použití kožního testu.“⁽⁴⁾

Vyšetření specifického IgE má stále svá omezení, které je nutné brát v úvahu při interpretaci výsledků. Není vhodné provádět toto vyšetření za těchto okolností. Pokud máme nejasně definovaný alergen nebo jejich směs. Tam kde neočekáváme reakci zprostředkovanou IgE, u zkřížených reaktivit alergenů a bezprostředně po anafylaktické reakci.

Specifita těchto stanovení bývá až 95%, což je velmi dobré a senzitivita se mění podle druhu alergenu. U potravinových alergií bývá tato hodnota nižší. Problémem se stává zkřížená přecitlivělost některých pylů a potravin. Pokud využíváme pro detekci specifického IgE směsných alergenů, musíme vědět, zda neposkytují falešně negativní výsledky.

Pokud stanovíme zvýšené hodnoty specifického IgE, nemusí to vždy znamenat, že alergen je zodpovědný za pacientovy obtíže a proto musí být výsledek interpretován vždy zkušeným lékařem, který se opírá o anamnézu, klinický obraz pacienta a případně dalších výsledků jiných testů, pravděpodobně kožních. (Krtičková, 1999)

4.6.4.3. Testy stanovení mediátorů

Testy ke stanovení mediátorů jsou většinou založeny na principu ELISA. Jsou citlivější než stanovení IgE protilátek a odrážejí okamžitý stav organismu, což může být výhodou i nevýhodou, protože se hladiny látek v těle velmi rychle mění. Proto je hodně důležité správné načasování odběru vzorku s čímž souvisí samozřejmě i správný odběr, transport a zpracování. Hrozí zde totiž nebezpečí ovlivnění výsledků např. lýzou leukocytů. V praxi se hlavně používá stanovení ECP. Dále se v této kapitole ještě okrajově zmíníme o stanovení koncentrace histaminu a basotestu.

4.6.4.4. Eozinofilní kationický protein

Eozinofilní kationický protein je mediátor uvolňovaný z eozinofilů. ECP má mnoho funkcí, zejména cytotoxickou a prozánětlivou. Tento protein se vyskytuje i v jiných tělních tekutinách jako jsou např. moč, bronchoalveolární laváž, sputum, slzy.

ECP je vhodný parametr pro monitorování alergického zánětu, především u bronchiálního astmatu, ale také u atopického ekzému a alergické rýmy, kdy jsou jeho sérové koncentrace zvýšené. Je to také vhodný parametr pro sledování účinnosti terapie a stanovování ECP slouží také jako doplňkové vyšetření při diagnostice alergií. Jeho normální hladina se pohybuje kolem 15mg/l. Jak už bylo uvedeno výše, je nutno zajistit kvalitní podmínky pro odběr vzorku a zajistit rychlý transport (do 2 hodin) do laboratoře, jinak hrozí riziko falešně pozitivních výsledků. Běžná diagnostika se provádí metodou RIA. Po úspěšné léčbě se vysoké hodnoty ECP vracejí do normálu.

4.6.4.5. Test uvolnění histaminu

Tento test je založen na metodě kvantifikace histaminu uvolněného z bazofilů po inkubaci s alergenem *in vitro*. Měření tohoto mediátoru se provádí technikou ELISA nebo RIA s využitím monoklonální protilátky proti histaminu. Má však bohužel svá omezení, vzhledem ke spontánnosti uvolňování histaminu z leukocytů. (Špičák a Panzner, 2004)

Výsledek je vyjádřen jako množství histaminu v % z celkového množství histaminu přítomného v buňkách vzorku. Indikace tohoto testu je v případě, že jiné testy není možné provést nebo se objevuje diskrepance mezi nimi. Tento test je dost náročný na techniku, ale je velmi vhodný pro diagnostiku lékových alergií, což je jeho nesporná výhoda, protože kožní testy se pro takovouto diagnostiku tolik nehodí. A také je to potvrzovací test pro některé typy hmyzích a potravinových alergií. Bohužel, k jejich rutinnímu zavedení brání již zmiňovaná náročnost na technické vybavení laboratoře a s tím související cena. Současně senzitivita a specifita mohou být v určitých případech problémem.

4.6.4.6. Test aktivace bazofilů

Tento test se využívá jako rozšiřující metoda v diagnostice alergií a provádí se v plné krvi *in vitro*. Může mít dva různé způsoby provedení. U obou je stejný začátek, aktivuje se bazofil pomocí specifického alergenu. V prvním případě se analyzuje množství mediátorů z nich uvolněných nebo se sledují membránové znaky charakterizující aktivované bazofily pomocí průtokové cytometrie. V tomto případě je výsledek vyjádřen jako množství

degranulovaných bazofilů v procentech. Používá se v případech, kdy se nedají použít testy kožní nebo mají riziko reakcí falešně pozitivních, negativních, zkřížených nebo anafylaktických. Indikuje se při testování na přecitlivělost 1. typu a dobře koreluje s testem uvolnění histaminu. Test aktivace bazofilů má vyšší senzitivitu než vyšetření specifických IgE protilátek a má také vysokou specificitu.

4.6.5. Další druhy diagnostických testů

Přímé provokace alergenem jsou zlatým standardem pro vyhodnocení klinicky významné senzibilizace, ale přinášejí vysoké riziko pro pacienta a tak nejsou pro běžnou praxi vhodné. A je to také dáno tím, že se dá testovat vždy jen jeden alergen a metody těchto testů nejsou příliš standardizovány. (Špičák a Panzner, 2004)

Z těchto důvodů jsme se rozhodli, že provokační testy nebudeme uvádět. Výjimkou jsou testy vyřazení pacienta z prostředí, v němž jsou příznaky nemoci vyvolány a následný návrat do prostředí původního. Pak se sledují klinické změny projevů nemocného a hodnotí se výsledek. Tento test se dá použít prakticky kdykoli a je součástí anamnestického zkoumání. U alergie profesionální je tento postup zcela běžně používán. (Špičák a Panzner, 2004)

Dalšími testy jsou potravinové expoziční. Principem těchto testů je eliminační dieta. Je to velmi jednoduchý a reprodukovatelný test a proto bývá nedílnou součástí u diagnostiky potravinových alergií. Úkolem je vynechání podezřelé potraviny a pokud běžné obtíže vymizí a výsledky dalších testů potvrdí diagnózu, může se případ uzavřít. (Špičák a Panzner, 2004)

Posledním druhem jsou testy epikutánní tzv. plátenkové. Tato metoda je doposud nepřekonaná a slouží k průkazu kontaktních alergenů. Na zdravou odmaštěnou kůži se položí čtvereček z plátenka s aplikovaným alergenem. Tato ploška se překryje celofánem a zalepí náplastí. Výsledek se odečítá za 24-48 hodin. Tyto testy mají mnoho druhů a modifikací, proto nezabíháme do větších detailů.

4.6.6. Terapie alergických onemocnění

Léčba alergie spočívá v eliminaci alergenu. To by bylo sice jednoduché řešení, ale bohužel ve všech případech to není možné. Proto se musí využít i léčba medikamentózní. Pro tyto případy se používá působení antihistaminik, stabilizátorů membrán žírných buněk, glukokortikoidů a specifické imunoterapie.

Antihistaminika inhibují receptory pro histamin, stabilizují membrány žírných buněk a bazofilů, což vede k omezení sekrece prozánětlivých mediátorů.

Stabilizátory membrán žírných buněk brání uvolnění mediátorů a inhibuje aktivaci neutrofilů, eozinofilů a monocytů. Vykazují celkový protizánětlivý efekt.

Glukokortikoidy mají výrazný protizánětlivý efekt, který způsobují inhibicí fosfolipázy A, v důsledku čehož se sníží produkce metabolitů kyseliny arachidonové. Kortikoidy také přispívají ke stabilizaci membrán buněk a tím snižují uvolňování nelyzosomálních enzymů.

Specifická imunoterapie je pokus o hyposenzibilizaci podáváním minimálních dávek alergenu v postupně se zvyšující koncentraci. (Fučíková, 1995)

5. Praktická část

5.1. Úvod

„V současné době, kdy prevalence alergie již u nás dosáhla 25 % procent, se praktický lékař setkává s těmito onemocněními denně. Nárůst výdajů na farmakoterapii nemocných s alergiemi se stále zvyšuje, např. jen ve skupině antihistaminik se jedná o částku 800 milionů Kč za rok. Přitom hospodářské ztráty způsobené nemocnostmi těchto jedinců jsou nevyčíslitelné. Proto se nabízí otázka, jak tento neblahý vývoj zastavit, nebo alespoň zpomalit. Řešení je zatím v nedohlednu, ale to nás nesmí odradit. Je zapotřebí neustále usilovat o zlepšení diagnostiky, terapie i prevence alergických chorob a věnovat více času na edukaci - na vzdělávání pacientů i lékařů, sester a dalších zdravotníků, kteří se na péči o alergiky podílejí.“⁽⁵⁾

Tab. 1. Výskyt alergických chorob v ČR

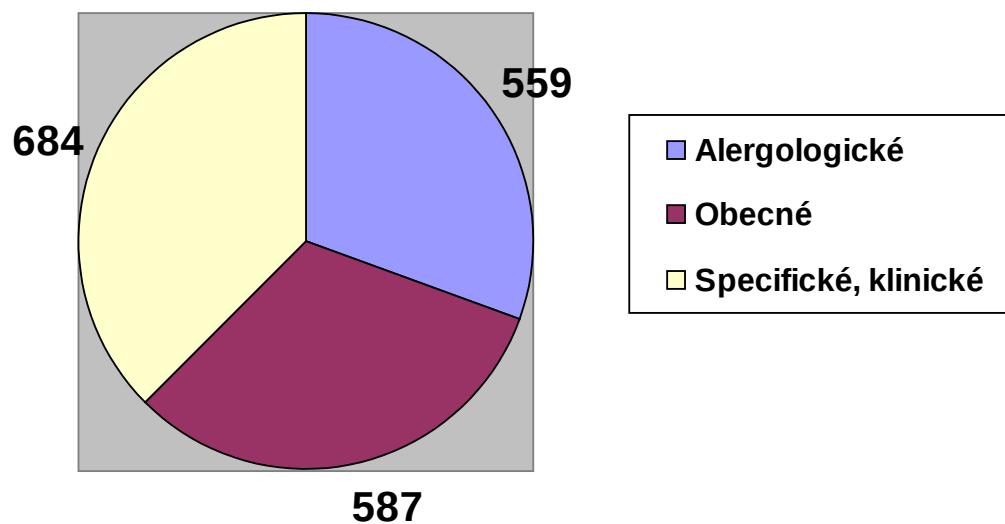
V České republice je:	
35 % atopiků	(3,5 milionu)
25 % alergiků	(2,5 milionu)
12 % lidí s alergickou rýmou	(1,2 milionu)
10 % ekzematiků	(1 milion)
8 % astmatiků	(800 tisíc)

www.edukafarm.cz/clanek.php?id=483

5.2. Grafy

V tomto oddíle práce Vás seznámíme s výsledky našeho pátrání po zajímavých údajích, vyplívajících z hodnocení laboratorních testů za rok 2010 v Nemocnici Havlíčkův Brod. Zabývali jsme se hlavně celkovým IgE a specifickým IgE. Každý graf krátce okomentujeme.

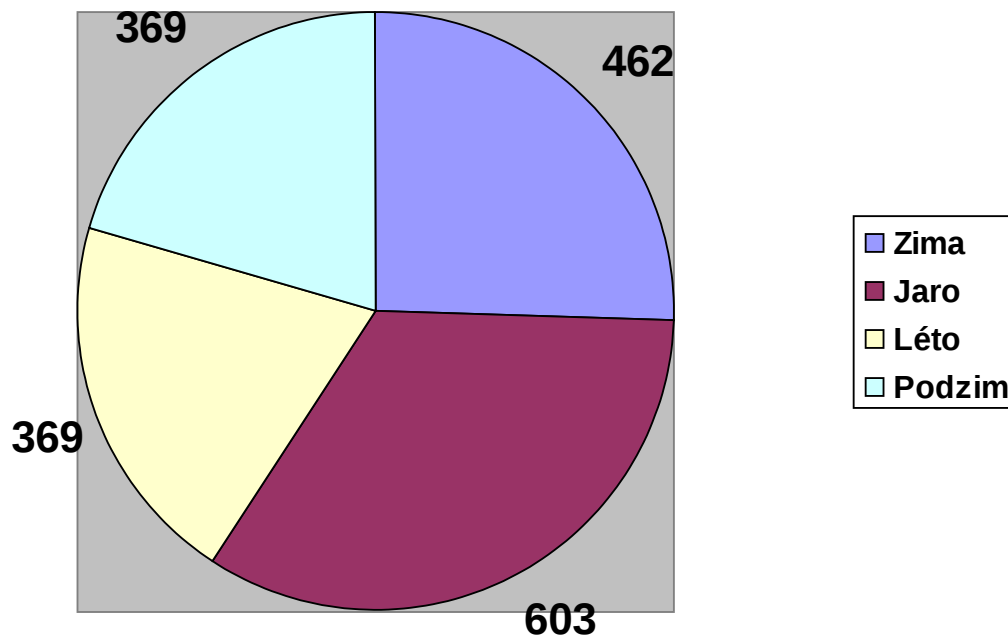
Diagnózy u IgE



Graf č.1 Rozdělení diagnóz u vyšetření celkového IgE

Z tohoto grafu vyplívá, kolik diagnóz z celkového počtu vyšetření 1830 na celkové IgE je obecných, specifických a alergologických. Je zajímavé, že všechny tři kategorie jsou vyrovnané a to znamená, že všechna vyšetření na IgE nepotvrzují alergii.

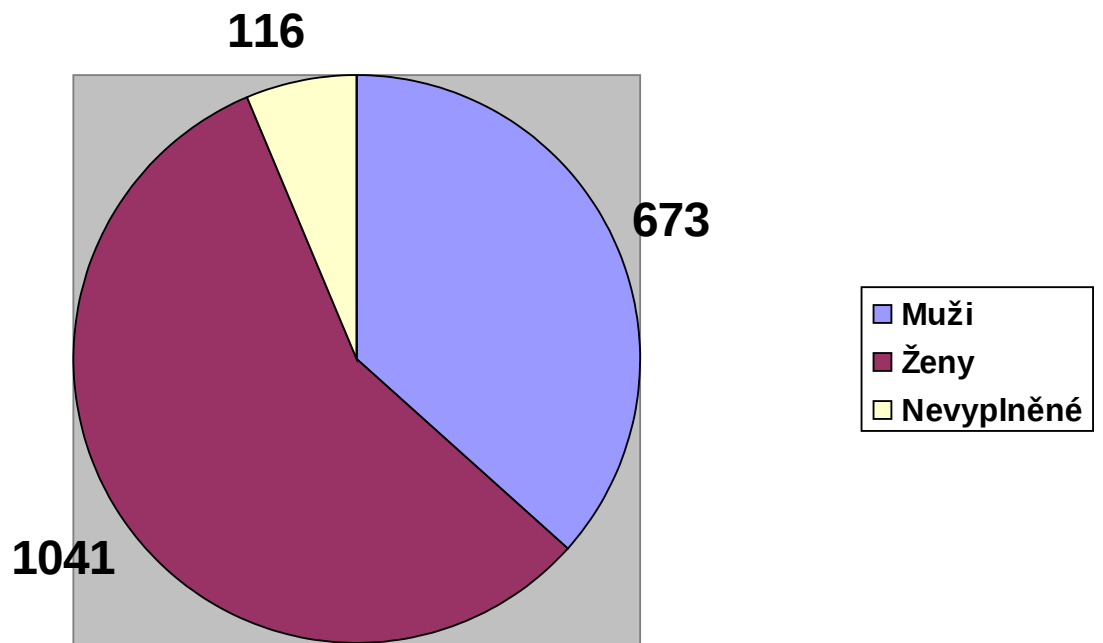
Roční období



Graf č.2 Množství vyšetření celkového IgE v jednotlivých obdobích

Na tomto grafu je vidět, že nejvíce testů se provádělo na jaře. To je klasický výsledek, který nás ničím nepřekvapil. Stejně tak vyrovnanost léta a podzimu není ničím výjimečná.

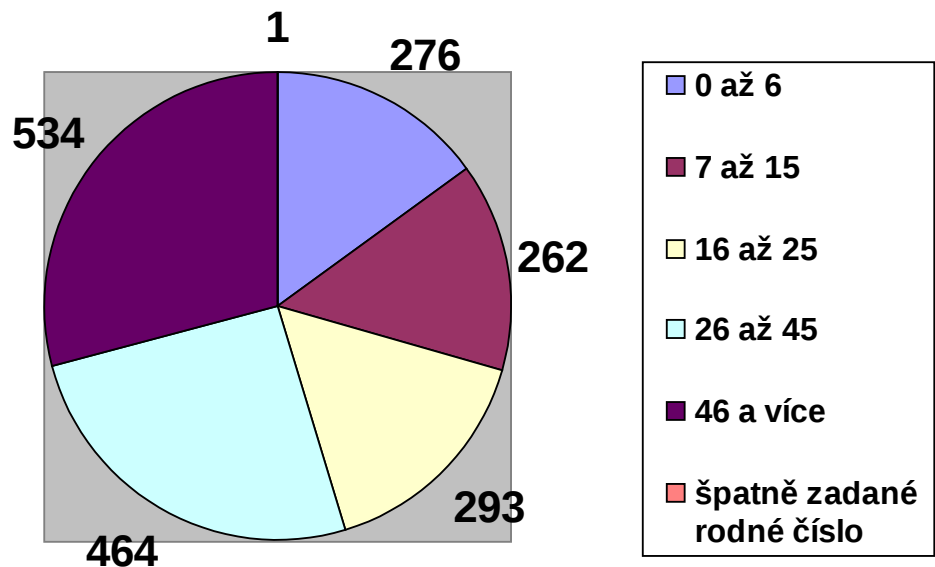
Pohlaví pacientů



Graf č.3 Rozdělení pohlaví pacientů

Velmi zajímavý výsledek jsme objevili při vytvoření tohoto grafu, ze kterého je vidět, že žen šlo na vyšetření celkového IgE téměř dvakrát více než mužů.

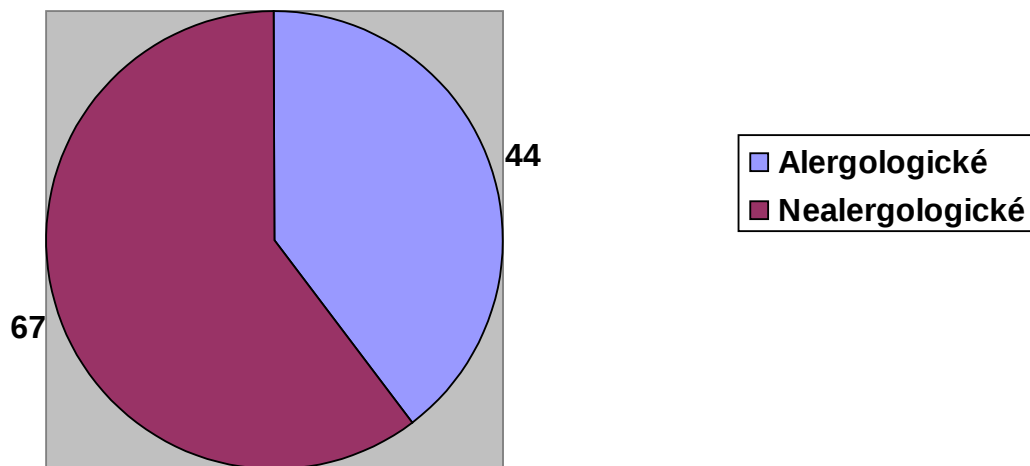
Věk pacientů



Graf č.4 Rozdělení pacientů do věkových kategorií

Věkové kategorie jsme vybírali úmyslně po určitých časových obdobích, která odpovídají zhruba školním stupňům. Mezi dětmi předškolními, školáky ze základních tříd a středoškoláky není žádný výrazný rozdíl. Zajímavé je, že u dospělých a starších lidí tento počet markantně vzrostl. Jako kuriozitu jsme objevili i jedno špatně zadané rodné číslo, protože pacientovi by bylo -40 let.

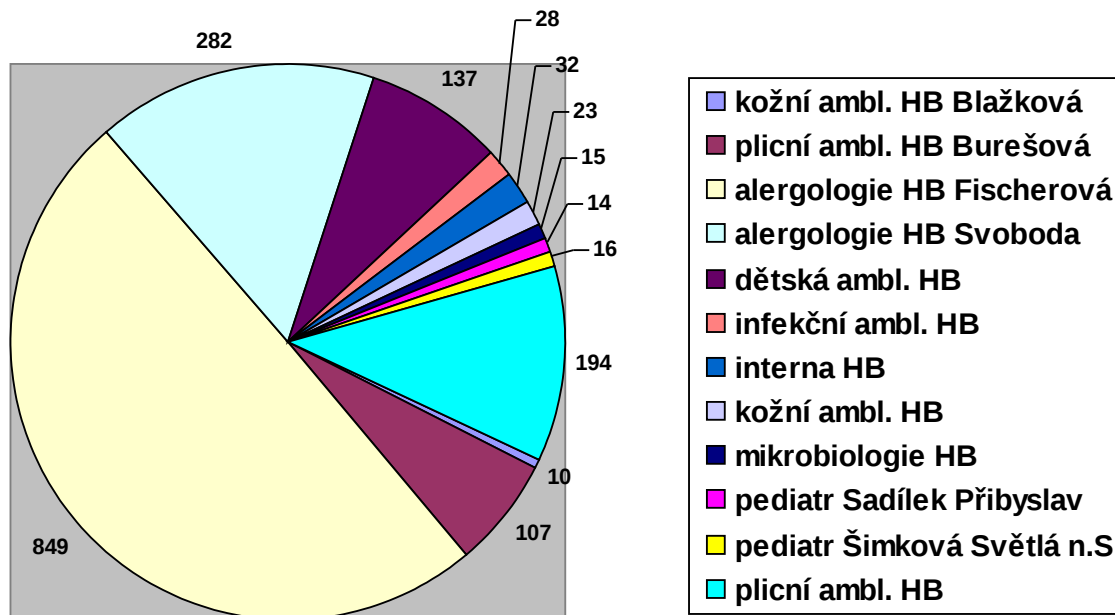
Diagnózy u specifického IgE



Graf č.5 Rozdělení diagnóz u vyšetření specifického IgE

Tento graf nám popisuje stejnou situaci, jako graf číslo jedna s tím rozdílem, že jsou zde uvedena vyšetření specifického IgE. Bohužel jsme měli k dispozici pouze 111 diagnóz, protože lékaři zadávali do žádanek spíše konkrétní zkratky pro určitý specifický alergen, který chtěli stanovit, a tak po vyfiltrování dat pro specifické IgE z nemocniční databáze jsme dostali takto nízký počet.

Ošetřující pracoviště



Graf č.6 Rozdělení nejfrekventovanějších ošetřujících pracovišť

Tento graf je spíše pro zajímavost, abychom si představili, kolik vyšetření a kdo je posílá do laboratoře ke zpracování. Jednoznačně převažuje paní doktorka Fischerová z alergologie a imunologie v Havlíčkově Brodě. Na druhém místě je také ordinace alergologie a imunologie z Havlíčkova Brodu a to je pan doktor Svoboda. Vybrali jsme jen část oddělení, protože kdybychom je zařadili všechny, graf by byl nečitelný.

6. Závěr

Záměrem této práce bylo popsat alergický proces a jeho diagnostiku. Je napsáno mnoho knih o alergiích, ale bývají většinou hodně odborné a složité. My jsme se pokusili toto téma vysvětlit výstižně a jasně.

Členění na teoretickou a praktickou část je spíše formální záležitost, protože více jak dvě třetiny práce je rešeršní. Vypracované grafy mají za úkol přiblížit a nastínit konkrétní situaci u nás v okolí. Je určitě i pro ostatní zajímavé vidět nějaké výsledky vyšetření a to, co z nich vznikne. Tak asi nejpřekvapivější bylo, že děti nechodily na vyšetření celkového IgE tolik, jako lidi starší 26 let. A že žen chodí na toto vyšetření téměř dvakrát více, než mužů. Na ostatních grafech jsme neobjevili nic zvláštního.

Přesto si myslíme, že mělo smysl tento průzkum udělat. Aby tento výzkum měl větší výpovědní hodnotu, měl by se provést více než za jeden rok, což nás přivedlo k myšlence, že by se tato práce dala rozšířit a propracovat a použít jako práce diplomová.

Domníváme se, že se nám povedlo splnit naše cíle. Pokusíme se tuto práci nabídnout alergologům v Havlíčkově Brodě jako materiál pro širokou laickou veřejnost. Mohli by ji použít jako brožuru a dávat ji lidem, aby si ji přečetli. To by byl veliký přínos pro nás, že úsilí, které jsme na vytvoření této práce vynaložili, nebylo zbytečné.

7. Zkratky

CD	diferenciační znak
ECP	eozinofilní kationický protein
ELISA	enzymová imunosorbentní analýza
IgA	imunoglobulin A
IgE	imunoglobulin E
IgG	imunoglobulin G
IgM	imunoglobulin M
IL-3	interleukin 3
IL-4	interleukin 4
RAST	radioalergosorbentní test
RIA	radioimunoanalýza
Th1	pomocný T1 lymfocyt
Th2	pomocný T2 lymfocyt

8. Seznam použité literatury

- (¹) Čáp P., Průcha M.: Alergologie v kostce, 1.vydání Triton, Praha, 2006, str. 34-37, ISBN 80-7254-779-8
- (²) web 1: Petruš V.,
<http://www.zdn.cz/clanek/postgradualni-medicina/diagnostika-alergickych-onemocneni-163569> 10.8. 2011
- (³) web 2: <http://www.proalergiky.cz/texty/laboratorni-hodnoty.html> 10.8.2011
- (⁴) web 3: Panzner P.,
<http://www.zdn.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/diagnostika-alergickych-onemocneni-296192> 11.8.2011
- (⁵) web 4: Petruš V.,
<http://www.edukafarm.cz/clanek.php?id=483> 11.8.2011
- web 5: Honzová S.,
<http://www.solen.cz/pdfs/int/2009/04/05.pdf> 12.8.2011
- Jílek P.: Základy imunologie, 2.vydání Anyway, Praha 2, 2008, ISBN 978-80-254-2422-3
- Hořejší V., Bartůňková J.: Základy imunologie, 4.vydání Triton, Praha, 2009 ISBN 978-80-7387-280-9
- Fučíková T.: Klinická imunologie v praxi, 1.vydání Galén, Praha 5, 1995 ISBN 80-85824-24-8
- Daniel P. Stites, Abba I. Terr: Základní a klinická imunologie, Victoria Publishing, Praha 1, 1994, ISBN 80-85605-37-6
- Gamlin L: Alergie od A do Z, 1.vydání Quadrille Publishing Limited, Praha, 2003, ISBN 80-86196-44-5
- Špičák V., Panzner P.: Alergologie, 1.vydání Galén, Praha 5, 2004 ISBN 80-7262-265-X
- Výběr atestačních prací z alergologie a klinické imunologie, ročník 3., číslo 3, 1999, Stehlík A.: Eozinofil a jeho úloha v alergickém zánětu
- Výběr atestačních prací z alergologie a klinické imunologie, ročník 5., číslo 2, 2001, Albrechtová E.: Žírná buňka a její úloha v alergickém zánětu
- Výběr atestačních prací z alergologie a klinické imunologie, ročník 3., číslo 2, 1999, Krtičková D.: Indikace a interpretace imunologického vyšetření v diagnostice alergických chorob

Výběr atestačních prací z alergologie a klinické imunologie, číslo 1, 1998

Sládková S.: Bazofil a jeho role v patogenezi zánětu

Alergie, časopis pro kontinuální vzdělávání v alergologii a klinické imunologii,
ročník 13, 2011, Lochman I.: Laboratorní diagnostika alergie

ISSN 1212-3536