

SADRŽAJ

| | |
|--|----|
| Uloga T regulacijskih stanica u pojavljivanju bolesti okoliša Prof. dr. sc. Ines Mrakovčić Šutić | 2 |
| Interreakcija virusne infekcije i alergijske reakcije Prof. dr. sc. Sabina Rabatić, dr. med. Krešo Bendelja | 4 |
| Basophil activation test: Methodological consideration. Drug allergies. B. sc. chem. Mira Šilar, prof. dr. sc. Mitja Košnik, doc. dr. sc. Peter Korošec | 6 |
| Basophil activation test as a diagnostic tool in Hymenoptera venom allergy B. sc. biol. Andreja Peternelj, prof. dr. sc. Mitja Košnik, doc. dr. sc. Peter Korošec | 6 |
| Rekombinantni alergeni u dijagnostici i terapiji Mr. sc. dr. med. Branko Pevec | 8 |
| Bio-chip u astmi i inflamacijskom odgovoru Mr. sc. Irena Batišta, spec. med. biok. | 10 |
| Značaj sezonske pojave aerosola Cladosporium, Penicillium i Alternaria u gradu Zagrebu i Medvednici Dr. sc. Maja Šegvić Klarić, prof. dr. sc. Stjepan Pepeljnjak | 12 |
| Nove spoznaje u imunopatofiziologiji astme i KOPB Dr. med. Mira Radulović Pevec | 13 |
| Novosti u atopijskom dermatitisu Prof. dr. sc. Jasna Lipozenčić, dr. med. Zrinjka Paštar | 16 |
| Može li se prevenirati razvoj alergijske bolesti? Dr. sc. Mirjana Turkalj | 17 |
| Dijagnostičke mogućnosti u medikamentoznoj alergiji Dr. med. Marinko Artuković, doc. dr. sc. Asja Sipić Marković, prim. dr Zdenko Tuđman | 22 |
| Komparacija sublingvalne i konvencionalne imunoterapije Prof. dr. sc. Neda Aberle | 25 |
| Mehanizmi blokade histaminskih receptora Doc. dr. sc. Asja Stipić Marković, dr. med. Ivana Franić | 28 |
| Uloga bioloških lijekova u imunološkim bolestima Prof. dr. sc. Jadranka Morović Vergles | 32 |

Uloga T regulacijskih stanica u pojavljivanju bolesti okoliša

Prof. dr. sc. Ines Mrakovčić Šutić,
Zavod za Fiziologiju, imunologiju i patofiziologiju, Medicinski
fakultet u Rijeci

Čimbenici koji dovode do patogeneze i razvoja bolesti okoliša (iz engl. environmental diseases) još uvijek nisu dovoljno poznati. Njihova incidencija u razvijenim zemljama je u ogromnom porastu, te je potrebno što ranije prepoznati okolišne toksine i utvrditi mehanizme njihova djelovanja, kako bi se postigli što bolji preventivni i terapijski učinci. Alergijske bolesti (astma, alergijski rinitis i ekcem) su prisutni u incidenciji višoj od 15% u razvijenim zemljama zapada.

Imunološki sistem se razvio u svrhu zaštite organizma od infektivnih agenasa, ali i s ciljem omogućavanja odgovarajućeg i svrsishodnog odgovora, kako na vlastito, tako i na tuđe tkivo. Protektivni imunološki mehanizmi uključuju djelovanja mogućih upalnih molekula, protutijela i aktivacije stanica ubica, koje zajedno mogu, ne samo uništiti invazivne mikroorganizme, patogene autoreaktivne stanice i tumore, već mogu usmriti i normalne oštećene stanice, te tako imunološki sistem predstavlja «dvostruko lice» i mora biti precizno reguliran. Regulacija imunološkog odgovora uključuje homeostatske mehanizme unutrašnjeg porijekla koje obuhvaćaju aktivaciju i diferencijaciju antigen-posredovanih imunokompetentnih stanica i vanjskih mehanizama posredovanih supresijskim stanicama.

Regulacijske T stanice (Tregs) igraju odlučujuću ulogu u perifernoj T-staničnoj toleranciji. Njihov manjak rezultira razvojem autoimunih sindroma: insulin ovisnom šećernom bolešću, tireoiditisom, kolitisom, artritismom, gastritisom, te alergijskim bolestima, dok njihova aktivacija sprječava poticanje imunološkog odgovora protiv tumora i unutarstaničnih patogena. Razlikujemo dvije osnovne populacije CD4+T regulacijskih stanica: urođene, koje se diferenciraju u timusu, karakterističnog fenotipa CD 25 high, FoxP3+, koje ostvaruju svoja supresijska djelovanja in vitro u ovisnosti o direktnom kontaktu sa stanicama, te stečene Tregs koje nastaju na periferiji, a karakteristika im je potreba za IL-2 koji im omogućuje preživljavanje i funkciju, a smatra se da suprimiraju imunološki odgovor oslobađajući protuupalne citokine (IL-10 i TGF- β). Obje vrste T regulacijskih stanica kontroliraju patološke procese uključujući GVHD, autoimune procese i infekcije. Stečene Tregs pokazuju citotoksičnost protiv alogeničkih tumorskih stanica u perforin-ovisnom, ali MHC/TCR neovisnom putu. Nakon aktivacije urođene Tregs izražavaju primarno granzim A, dok stečene (adaptivne) Tregs primarno izražavaju granzim B. Urođene Tregs imaju malu proliferativnu sposobnost, dok adaptivne Tregs pokazuju po stimulaciji značajnu proliferaciju.

Najnovije spoznaje ukazuju da obje subpopulacije regulacijskih T stanica sudjeluju u prevenciji neadekvatnog imunološkog odgovora na mogući alergen. Regulacijske T stanice mogu aktivno sprječiti Th2 odgovor na alergene u zdravih osoba, koje

nemaju atopijske predispozicije, te je upravo ova njihova uloga oštećena u alergijskih osoba. Imunološko odgovor na okolišne čimbenike u zdravih se osoba manifestira proizvodnjom IL-10 i TGF- β i ova se sposobnost Tregs pokušala u eksperimentalnim modelima nadoknaditi, što je i uspjelo suprimirajući Th2 odgovor na alergen u eozinofiliji, mukoznoj hipersekreciji i hiperreaktivnosti zračnih puteva.

Prvotni «bum» nastao spoznajom da Tregs mogu prevenirati razvoj autoimunih bolesti, prouzročio je sličnu euforiju s mogućnošću ovih stanica da preveniraju osjetljivost na alergene, što je ukazalo na mogućnost imunoterapije ovim stanicama. Danas znamo da se Th 2 odgovor na alergene može suprimirati regulacijskim T stanicama, kao i onim Tregs koje izražavaju IL-10. U alergičara ovo djelovanje Tregs je smanjeno. Smatra se da je jedno od objašnjenja godinama provedenog uspješnog liječenja injiciranjem male doze alergena našlo objašnjenje upravo u sposobnosti Tregs da povećano luče IL-10, što uzrokuje suprimiranje Th2 odgovora i prekapčanje produkcije protutijela s IgE na IgG4. Osim povišenom produkcijom IL-10 i TGF- β , supresija proliferacije i citokinskog odgovora na alergene se može potaknuti i površinskim staničnim molekulama, kao što su citotoksični T-limfocitni antigen-4, programirana smrt-1, te histaminski 2-receptor. Tregs mogu izravno ili neizravno suprimirati aktivnost efektorskih stanica alergijske upale, kao što su mastociti, bazofili i eozinofili. Periferna tolerancija na alergene je kontrolirana mnogobrojnim i složenim aktivnim supresijskim mehanizmima T stanica, regulacijom izotipova protutijela i supresijom efektorskih stanica

Regulacijske T stanice pružaju veliku obećavajuću ulogu u imunoterapiji kako alergijskih tako i autoimunih oboljenja, ali veliko je pitanje hoće li tu svoju potencijalnu ulogu i ostvariti. S druge strane neophodno je omogućiti dobro kontroliranu njihovu eventualnu terapeutsku primjenu, jer ih u perifernoj krvi ima veoma malo, a uloga im je multipotentna. Primjena do sada poznatih svojstava regulacijskih T stanica otvara široku paletu racionalnijih i sigurnijih mogućnosti prevencije i liječenja alergijskih bolesti.

Interreakcija virusne infekcije i alergijske reakcije

Prof. dr. sc. Sabina Rabatić, dr. med. Krešo Bendelja
Imunološki zavod d.d., Zagreb

Alergijska astma predstavlja veliki problem suvremenog društva budući da njezina pojavnost raste po svim dobnim skupinama u posljednjih 20 godina u razvijenim industrijskim zemljama, međutim, pojavnost je najveća u djece između 5 i 18 godina.

Postoje brojne pretpostavka koje pokušavaju objasniti povećanu učestalost nastanka alergijske astme kao što je npr. higijenska hipoteza. Ona podrazumijeva neprestano izlaganje djece u prvim godinama života brojnim antigenima koji za posljedicu imaju formiranje i sazrijevanje imunološkog sistema koji u to vrijeme prolazi odgovarajuću fazu evolucije, „buđenja“ iz djevičanskog u aktivirano stanje.

Naravno, tijekom tog perioda djeca su naročito osjetljiva na infekcije respiratornim virusima koji mogu modulirati razvoj imunološkog sistema u smjeru alergijske imunoreakcije. Jedan od takvih virusa je respiracijski sincicijski virus (RSV) koji uzrokuje česte upale dišnih putova djece do dvije godine starosti. Kod određenog postotka (20-45%) djece te dobne skupine, RSV uzrokuje klinički teže upale donjih dišnih putova poput bronhiolitisa i pneumonije.

Iako je RSV najvažniji uzročnik respiracijskih infekcija u toj dobi, kod odraslih ljudi on ne predstavlja značajan epidemiološki problem. Izuzetak su imuno-kompromitirani bolesnici te skupina ljudi starije životne dobi gdje RSV može također uzrokovati bronhitise i pneumonije.

Danas prevladava pretpostavka da RSV uzrokuje teža oboljenja uslijed nedovoljne zrelosti imunostistema odnosno interferencije s mehanizmima imunoloreakcije u stvaranju odgovarajuće zaštitne imunosti. Antivirusna zaštitna imunost postiže se tip-1 staničnom imunoreakcijom (posredovanom citotoksičnim T stanicama) koju karakterizira proizvodnja IFN- γ .

Brojne predkliničke i kliničke studije pokazuju da je RSV sposoban potaknuti i tip-2 imunoreakcije, karakterizirane proizvodnjom citokina IL-4 i razvojem humoralne imunosti (posredovana IgE i IgG4 antitijelima).

Klasičan primjer tip-2 imunoreakcije je alergijska imunoreakcija. Sličnosti imunoreakcije uzrokovane RSV-om i alergijske astme zamijećeno je na kliničkom i eksperimentalnom nivou (proizvodnja karakterističnih citokina, kemokina i drugim medijatora upale). Popratni simptom RSV-bronhiolitisa je nalaz „pištanja“ (engl. wheezing) koji nalikuje otežanom disanju kod akutnih napada alergijske astme uslijed začepljenja dišnih putova i bronhokonstrikcije. Osim toga utvrđena je veza između RSV-bronhiolitisa u ranijoj životnoj dobi i veće vjerojatnosti pojave alergijske astme u djetinjstvu.

S otkrićem Toll-u sličnih receptora (TLR) te njihove važne uloge u započinanju imunoreakcije, krenulo se u intenzivno istraživanje njihove uloge u različitim virusnim infekcijama. Prema

funkciji, TLR-i čine sponu urođene i stečene imunosti jer su sposobni prepoznati i vezati različite patogene na osnovi evolucijski konzerviranih molekulskih motiva. TLR4 prepoznaje lipopolisaharide Gram-negativnih bakterija, ali i fuzijski protein RSV-a te ima ulogu u razvoju imunoreakcije na RSV. Povećana ekspresija TLR4 tijekom RSV-bronhiolitisa ukazuje na poremećenu regulaciju tijekom infekcije. Za razliku od TLR4, TLR3 i TLR8 smješteni su u unutrašnjosti stanice i mogu prepoznati virusne dvolančane i jednolančane RNA molekule. Oni predstavljaju vrlo moćan mehanizam urođene imunosti za razvoj tip-1 imunoreakcija. Prema tomu, smanjena ekspresija TLR3 i TLR8 kod djece s akutnom RSV-infekcijom mogla bi negativno utjecati na aktivaciju urođene imunosti i slijed razvoja specifične imunoreakcije na RSV. Štoviše, sposobnost specifičnih liganada TLR da mijenjaju profil imunoreakcije tipa-2 u tip-1, predstavlja okosnicu razvoja i unapređenja imunoterapije u alergijskim bolestima.

Basophil activation test: Methodological consideration. Drug allergies.

B. sc. chem. Mira Šilar, prof. dr. sc. Mitja Košnik, doc. dr. sc. Peter Korošec
University Clinic of Respiratory and Allergic Diseases, Golnik, Slovenia

Basophil activation test as a diagnostic tool in Hymenoptera venom allergy

B. sc. biol. Andreja Peternelj, prof. dr. sc. Mitja Košnik, doc. dr. sc. Peter Korošec
University Clinic of Respiratory and Allergic Diseases, Golnik, Slovenia

BAT in diagnosis of Hymenoptera venom sensibilization

Hymenoptera venom allergy diagnosis is usually confirmed with skin testing and measurement of specific serum IgE, both of which are sometimes inconclusive. In these cases additional *in vitro* tests are necessary. Therefore, we studied the applicability of BAT for the detection of sensitization to Hymenoptera venom on a large cohort of 204 patients using a prospective study design. The result of BAT, sIgE and skin prick tests were compared with clinical history and culprit dana. We showed that BAT is a useful diagnostic tool in Hymenoptera venom hypersensitivity, with higher sensitivity and comparable or even higher specificity than standard diagnostic procedures, like skin prick testing and allergen-specific serum IgE.

BAT and clinical reactions

Systemic side-effects of venom immunotherapy (VIT) represent a considerable problem in the treatment of patients allergic to Hymenoptera venom, and there is still no *in vitro* test to predict the success of VIT treatment. Therefore, we examined two hypotheses: whether basophil responsiveness might be connected with the adverse reactions to VIT, and whether there is any correlation between basophil *in vitro* sensitivity to allergen-specific stimulation and the efficacy of venom immunotherapy. We were the first to evaluate basophil responsiveness in patients before they receive VIT for possible predicting of the adverse reactions, and in patients with complete venom immunotherapy and a subsequent history of field re-sting reactins. We showed that increased basophil sensitivity is associated with major side-effects during VIT and that monitoring of CD63 concentration-dependent venom response could be a relevant tool for the identification of patients at higher risk for side-effects. Moreover, we also demonstrated a significant positive correlation between individual sensitivity ratio and clinical severity of side reactions. Secondly, we demonstrated significantly different basophil *in vitro* venom responsiveness between patients who still react and the patients who tolerate field re-stings. Furthermore, we also demonstrated that a parallel group of patients who have not received VIT have a comparable basophil venom responsiveness in

comparasion to reactors and significantly higher in comparasion to nonreactors after completed VIT.

In conclusion, our results showed higher sensitivity and comparable or higher specificity of BAT than skin prick tests and allergen-specific serum IgE in Hymenoptera venom allergy. The technique has also been demonstrated to provide a tool for the prediction of side effects during venom immunotherapy and to evaluate allergen-specific basophil sensitivity in patients not responding to venom immunotherapy.

Rekombinantni alergeni u dijagnostici i terapiji

Mr. sc. dr. med. Branko Pevec
Odjel za kliničku imunologiju, pulmologiju i reumatologiju,
Opća bolnica Sveti Duh, Zagreb

Rekombinantni alergeni su biotehnološkim postupcima dobivene alergenske molekule. Po svojim strukturnim i funkcionalnim karakteristikama odgovaraju prirodnim alergenima, odnosno komponentama pojedinih alergenskih izvora. Proces njihovog dobivanja je složen i obuhvaća ekstrakciju i izolaciju mRNA iz alergenskog izvora (npr. pelud breze), sintezu cDNA pomoću reverzne transkriptaze, elektroforetsko razdvajanje pojedinih komponenti alergenskog izvora (npr. nBet v 1, nBet v 2, nBet v 3, itd.) te pripremu "primera" za PCR, amplifikaciju cDNA pojedinih alergena te konačno ekspresiju rekombinantnih alergena (npr. rBet v 1, rBet v 2, rBet v 3, itd.) u odgovarajućim sistemima. Većina postojećih rekombinantnih alergena dobivena je ekspresijom u bakteriji *E. coli*. Druge sisteme za ekspresiju predstavljaju različite vrste mikroorganizama, ali i složeniji sustavi poput biljnih ili životinjskih stanica. Složeniji sustavi koriste se za ekspresiju alergena koji osim osnovne proteinske strukture sadrže i određene posttranslacijske modifikacije (npr. glikozilacija).

Rekombinantni alergeni nalaze sve širu primjenu u alergološkoj dijagnostici i terapiji, ali i u proučavanju svojstava alergena, mehanizama nastanka alergijskih bolesti te mehanizama djelovanja specifične imunoterapije (SIT).

Dok dijagnostika alergenskim ekstraktima daje samo informaciju o alergenskom izvoru na koji je pacijent senzibiliziran, rekombinantnim alergenima moguće je točno odrediti komponente koje su dovele do senzibilizacije. Ovako dobiven profil senzibilizacije ("component-resolved" dijagnoza, CRD) omogućuje kvalitetnije izvođenje SIT. Ponajprije, moguća je kvalitetnija selekcija pacijenata za SIT alergenskim ekstraktima (za sada najdostupnijim pripravcima). Npr. među pacijentima koji imaju pozitivne alergološke testove na pelud breze, samo su oni senzibilizirani na Bet v 1 (glavni alergen peludi breze) dobri kandidati za SIT ekstraktom peludi breze, dok pacijenti dominantno ili isključivo senzibilizirani na druge komponente nisu. CRD također omogućuje monitoring pacijenata koji primaju SIT, u smislu detekcije dodatne senzibilizacije na alergene prisutne u alergenskom ekstraktu. Nadalje, rekombinantnim alergenima moguće je detektirati senzibilizaciju na pojedine komponente alergenskog izvora koje nedostaju u alergenskom ekstraktu te tako postaviti dijagnozu u pacijenata u kojih to upotrebom ekstrakta ne bi bilo moguće.

Izvođenje SIT rekombinantnim alergenima u omjerima prilagođenim individualnom profilu senzibilizacije pacijenta ("patient-tailored" SIT), dostignuće je proteklog desetljeća, koje postupno ulazi u alergološku praksu. Prednost je ovog oblika liječenja mogućnost primjene alergenskih molekula u optimiziranim koncentracijama, čime se zaobilazi problem standardizacije alergenskog pripravka. Istražuju se i novi oblici imunoterapije rekombinantnim alergenima, kojima bi se u bliskoj budućnosti liječenje provodilo ciljano i sa

manje nuspojava. Ovdje spadaju različiti mutirani oblici alergena sa smanjenom alergogenom a očuvanom imunogenom aktivnošću (hipoalergenični derivati) i peptidi. Rezultati dosadašnjih istraživanja su ohrabrujući.

Bio-chip u astmi i inflamacijskom odgovoru

Mr. sc. Irena Batišta, spec. med. biok.

Imunološki laboratorij, Opća bolnica Sveti Duh, Zagreb

U alergologiji je više od jednog stoljeća posvećeno otkrivanju uzroka koji dovode do IgE posredovane reakcije. Otkriće od prije više od četrdeset godina da alergične osobe stvaraju specijalnu klasu protutijela -IgE koja igraju ključnu ulogu u patogenezi alergijskih reakcija, nalaže laboratorijskim dijagnostičkim postupcima otkrivanje uzročnog alergena i kvantificiranje stvorenih specifičnih IgE protutijela.

U sedamdesetim godinama dvadesetog stoljeća tvrtka Pharmacia Diagnostic AB Uppsala Sweden uvela je Radio Allergo Sorbent Test čiji je akronim RAST i danas važeći brand naziv. 1989. godine zamijenila ga je testom Immuno CAP povećane osjetljivosti, specifičnosti i odlične reproducibilnosti koji se u literaturi spominje pod nazivom CAP RAST, CAP FEIA (Fluoro Enzyme Immuno Assay) ili Pharmacia CAP. Prirodni ekstrakti koji su u ovim testovima korišteni kao izvori alergena, kompleksne su mješavine različitih molekula s različitim svojstvima. Ciljne molekule za IgE protutijela su proteinske komponente od kojih, iako prisutne u velikom broju, samo manji broj iskazuje antigenu aktivnost i uzrokuju alergijske reakcije. Neke komponente alergena iz različitih i ponekad vrlo udaljenih rodova i vrsta mogu sadržavati gotovo identične proteine. Pojavom novih biokemijskih metoda omogućena je identifikacija stvarnog primarnog pokretača, alergogene determinante koja je zasebna cjelina strukture pojedinih molekula u humanom ekstraktu.

Tehnika kloniranja DNA na mikroorganizmu "domaćinu" (najčešće Escherichia coli), omogućila je repliciranje pojedinačne alergen komponente iz nativnog ekstrakta alergena (rekombinantne alergene) i omogućila uvođenje novog dijagnostičkog postupka CRD (Component Resolved Diagnostics). Ovim se postupkom utvrđuje profil specifičnih IgE protutijela na pojedine komponente za svakog pacijenta i omogućuje identifikacija višestruko senzibiliziranih pacijenata.

Najnovija bio-čip tehnologija omogućila je i prvi proteomski "microarray" test za spec. IgE protutijela koristeći molekule alergena. Hiller i sur. su 2002. pokazali da se koristeći potpuno novu tehniku dijagnosticiranja može istovremeno testirati veliki broj molekula alergena a prije dvije godine se pojavio i komercijalni proteomski microarray test ISAC (Immuno Solid-phase Allergen Chip). Koristeći ultra preciznu nano-dispenzirajuću tehnologiju, pročišćeni prirodni alergen ili rekombinantne alergen komponente vezane su za podlogu (bio-čip). Test se odvija u dva stupnja; prvo se IgE protutijela iz ispitivanog seruma pacijenta vežu za imobilizirane komponente alergena a zatim na njih vezana IgE protutijela detektiraju anti IgE protutijelima s fluorescentnim biljgom. Rezultati testa se kvantificiraju bio-čip čitačem i analiziraju Immuno CAP ISAC software-om, bioinformatičkom komponentom analize.

Tako dobiveni rezultati poboljšavaju dijagnostički postupak dajući nam podatke da li je pacijent mono, oligo ili poli senzibiliziran - CRD (Component Resolved Diagnostic) i pridonose pravilnoj odluci o specifičnoj imunoterapiji. U skoroj budućnosti imati ćemo na raspolaganju pripravke izoliranih komponenti alergena što će omogućiti da se za SIT napravi mješavina koja odgovara alergijskom profilu pojedinog pacijenta („Tailored Therapy“)

Intenzivna istraživanja procesa unutar stanice, na molekularnoj razini, razvila su dijagnostičke postupke koji će rasvijetliti za sada još nepotpuno poznate stanične promjene u alergijskim bolestima.

Značaj sezonske pojave aerosola *Cladosporium*, *Penicillium* i *Alternaria* u gradu Zagrebu i Medvednici

Dr. sc. Maja Šegvić Klarić , prof. dr. sc. Stjepan Pepeljnjak
Zavod za mikrobiologiju, Farmaceutsko-biokemijski fakultet,
Sveučilište u Zagrebu

Plijesni su ubikvitarni mikroorganizmi čije spore nalazimo u zraku otvorenih i zatvorenih prostora. One u preosjetljivih osoba mogu izazvati različite alergijske bolesti kao što su rinitis, hipersenzibilni pneumonitis i astma. Prema alergološkim studijama učestalost alergija na plijesni u općoj populaciji je oko 6%, a među atopičarima oko 20-30%. Najveći broj alergija izazivaju *Cladosporium* i *Alternaria* vrste. Koncentracije spora plijesni u zraku otvorenih prostora pokazuju sezonsku periodičnost i izražene fluktuacije ovisno o meteorološkim čimbenicima (temperatura, relativna vlažnost, strujanje zraka, sunčevo zračenje). Godišnja aeromikološka studija u Zagrebu i na Medvednici pokazuje da su koncentracije spora plijesni veće tijekom proljeća i ljeta (110-284 CFU/m³), a manje tijekom jeseni i zime (6-128 CFU/m³) (1). S druge strane, kvasci su dokazani u većim koncentracijama tijekom jeseni i zime (11-46 CFU/m³) u odnosu na proljeće i ljeto. Plijesni koje čine dominantnu aeromikofloru (30,4 do 79,5%) su *Cladosporium*, *Penicillium* i *Alternaria* vrste. *Fusarium* i *Aspergillus* vrste te sterile mycelia zastupljene su u zorcima tijekom čitave godine, ali s manjom učestalošću (oko 40%). Ostale detektirane plijesni iz rodova *Paecilomyces*, *Chrysosporium*, *Phoma*, *Botrytis*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Ulocladium*, *Curvularia*, *Absidia*, *Geotrichum*, *Arnium*, *Botryomyces*, *Trichothecium*, *Sclerotium*, *Dreschlera*, *Pithomyces*, *Scopulariopsis* te bazidiomicete čine 1 do 10% aeromikoflore ispitivanog područja. Ukupna koncentracija spora plijesni te pojedinačne koncentracije kladosporija i alternarija pozitivno koreliraju s temperaturom i sunčevim zračenjem. Također, alternarije pozitivno koreliraju s brzinom vjetera dok kladosporije negativno koreliraju s atmosferskim tlakom. Aeromikološki monitoring omogućava predviđanje kvalitativnih i kvantitativnih sezonskih varijacija spora plijesni u ovisnosti o meteorološkim čimbenicima i uvjetima okoliša određenog područja što pomaže u prevenciji alergijskih bolesti uzrokovanih plijesnima.

1) Šegvić Klarić M, Pepeljnjak S, Ann Agric Environ Med 13
(2006) 55-64.

Nove spoznaje u imunopatofiziologiji astme i KOPB

Dr. med. Mira Radulović Pevec
Odjel za kliničku imunologiju, pulmologiju i reumatologiju,
Opće bolnice Sveti Duh, Zagreb

Astma i kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB) su bolesti koje karakterizira opstrukcija dišnih puteva ali je kod astme ona promjenljiva i reverzibilna, a kod KOPB-a progresivna i ireverzibilna. Osnovna patohistološka značajka ovih bolesti je kronična upala respiratorne sluznice, koja je posredovana pojačanom ekspresijom brojnih upalnih proteina, uključujući citokine, kemokine, adhezijske molekule, upalne enzime i receptore. Zajednička karakteristika obje bolesti su akutne epizode ili egzacerbacije, kada se intezitet upale pojačava.

Usprkos sličnosti u nekim kliničkim karakteristikama astma i KOPB se značajno razlikuju obzirom na tip upale u respiratornoj sluznici, tipu stanica koje se mobiliziraju, različitim medijatorima koji se produciraju, različitim posljedicama upale i različitog odgovora na terapiju. Glavnu ulogu u upali imaju T stanice, ali za svaku od ovih bolesti tip T stanica je različit. Upala u astmi uglavnom je lokalizirana u većim, provodnim dišnim putevima, a mali dišni putevi su zahvaćeni kod težih oblika astme. Plućni parenhim gotovo nikada nije zahvaćen. Suprotno tome kod KOPB-a su najčešće zahvaćeni mali dišni putevi i plućni parenhim, iako mogu biti zahvaćeni i veći dišni putevi.

Koje upalne stanice i medijatore nalazimo u sluznici?

Kliničke, histopatološke i terapijske razlike između astme i KOPB-a uzrokovane su različitim stanicama koje su "privučene" u respiratornu sluznicu i njihovim medijatorima .

Mastociti su stanice koje imaju ključnu ulogu u astmi. Otpuštaju citokine koji su veoma važni u alergijskoj upali: IL-4 koji dovodi do aktivacije B limfocita, IgE "switching"-a i diferencijacije u T_H2 , IL-5 važan za diferencijaciju i rast eozinofila i IL-13 koji stimulira B stanice da produciraju IgE. Prisutnost mastocita u glatkim mišićnim stanicama važna je za nastanak bronhalne hiperreaktivnosti, a ne prisutnost eozinofila kao što se do sada mislilo. Mastociti se ne nalaze kod bolesnika s KOPB-om čime se može objasniti zašto u toj bolesti nema bronhalne reverzibilnosti.

Granulociti. Obzirom na granulocite upala u astmi je pretežito eozinofilna, a u KOPB-u neutrofilna. U astmi epitelne stanice luče kemotaktički faktor za eozinofile CCL11 (poznat kao eotaxin 1) i druge slične CC kemokine. Funkcijska uloga eozinofila još uvijek je nejasna. Zna se da trajna eozinofilna upala dovodi do nastanka subepitene fibroze, ali ne sudjeluje u nastanku bronhalne hiperreaktivnosti. Prisutnost eozinofila je dobar marker za odgovor na steroidnu terapiju. Pokazalo se da je stupanj težine KOPB-a u potpunosti ovisan o broju neutrofila u sputumu bolesnika. Povećana infiltracija neutrofila povezana je s povećanim lučenjem CXCL1 i CXCL8 koji se vežu za CXCR2 koji je predominantno eksprimiran na površini neutrofila.

Makrofage nalazimo kod astme i KOPB-a, ali je njihov broj ipak viši u KOPB-u. Makrofazi u respiratornoj sluznici nastaju od cirkulirajućih monocita koji migriraju u pluća, a privučeni su s kemoatraktantima koje luče makrofazi. CCL2 (poznat kao MCP1) djeluje preko CCR2 receptora na monocitima i CXCL1 koji djeluje na CXCR2. Ima puno dokaza koji pokazuju da su makrofazi ključne stanice u upali kod KOPB-a jer otpuštaju kemokine koji privlače neutrofile, monocite i T stanice te otpuštaju proteaze osobito MMP9 (matrix metalloproteinases). MMP i neutrofilne elastaze svojom proteolitičkom aktivnošću razgrađuju vezivno tkivo, osobito elastin dovode do apoptoze pneumocita tipa I i epitelnih stanica što dovodi do razaranja alveolarnih septi i nastanka emfizema.

T limfociti. Kod bolesnika s astmom nalazi se povećan broj CD4⁺T stanica od koji su predominantno T helper 2 (T_{H2}), dok u sluznici zdravih osoba dominiraju T_{H1}. T_{H2} stanice imaju centralnu ulogu u alergijskoj upali kod astme lučeći IL-4 i IL13 koji djeluju na B limfocite da produciraju IgE protutijela, IL-5 koji je odgovoran za diferencijaciju eozinofila u koštanoj srži i IL-9 koji privlači mastocite i dovodi do njihove diferencijacije. Transkripcijski faktor GATA 3 je ključan za diferencijaciju naivnih T limfocita u T_{H2} stane i također regulira lučenje citokine T_{H2} staničnog fenotipa.

Kod KOPB-a CD4⁺T koje se nakupljaju u plućima većinom su T_{H1} stanice koje eksprimiraju kemokinski receptor CXCR3 na koji se vežu kemokini CXCL9, CXCL10 i CXCL12 koje luče epitelne stanice, a T_{H1} stanice su u sluznicu privučene IFN γ .

Postoje dokazi koji pokazuju da se kod pojedinih bolesnika, uglavnom s težim oblikom KOPB-a, u bronhalnom lavatu nalaze T_{H2} stanice, a kod bolesnika, uglavnom s težim oblikom astme nalaze aktivirane T_{H1} kao i T_{H2} stanice što nam unosi dodatnu zbrku u podjeli i razumjevanju patofizioloških mehanizama kod ovih dviju bolesti.

Ostali podtip CD4⁺T stanica su nam regulatorne T stanice čija uloga u astmi i KOPB-u još uvijek nije u potpunosti jasna. Malo se zna o ulozi drugog podtipa CD4⁺T stanica, T_{H17} limfocita. T_{H17} luče IL-17 i IL-17F koji su povezani s neutrofilnom upalom inducirajući otpuštanje CXCL1 i CXCL8 iz epitelnih stanica respiratorne sluznice. U sputumu bolesnika s astmom nađena je povećana koncentracija IL17, ali koja je točno njihova uloga još uvijek je nerazjašnjeno. T_{H17} produciraju i IL-22 koji stimulira produkciju IL-10 i proteina akutne faze upale.

Kod bolesnika s KOPB-om u plućnom parenhimu veći je broj CD8⁺T stanica u odnosu na CD4⁺T stanica, ali njihova uloga u patogenezi bolesti nije još u potpunosti jasna. Tip 1 citotoksični T limfociti (T_{C1}) su u najvećem broju i luče IFN γ na svojoj pšvni eksprimiraju CXCR3, što sugerira da su privučeni u pluća kemokinima koji se vežu za taj receptor. Ligandi za CXCR3 suprimiraju signalizaciju preko CCR3 receptor za CCL11 (koji dovodi do nakupljanja eozinofila) te tako ne dolazi do nakupljanja eozinofila. T_{C1} otpuštaju granzim B i perforin koji induciraju apoptozu pneumocita tipa I i doprinose razvoju emfizema, a prisutni su u velikoj koncentraciji u sputumu bolesnika s KOPB-om u komparaciji s kontrolnom skupinom pušača bez KOPB-a.

CD8⁺T stanice prisutne su kod bolesnika s težim oblikom astme koji imaju ireverzibilnu plućnu opstrukciju, a po fenotipu to su T_{C1} ili T_{C2} stanice.

B limfociti imaju važnu ulogu kod alergijskih bolesti u produkciji alergena-specifičnih IgE protutijela. Citokini T_H2 staničnog fenotipa IL-4 i IL-13 induciraju prekapčanje B limfocita za produkciju imunoglobulina klase E. IgE sekrecija nije nađena kod bolesnika s KOPB-om, ali kod težih oblika bolesti, u perifernim dišnim putevima nalazi se značajan porast B limfocita koji se organiziraju u folikule, a okruženi su T limfocitima.

Dendritične stanice imaju jako važnu ulogu u astmi jer su to alergene prezentirajuće stanice koje „prerađene“ peptide predočavaju T_H2 stanicama. No njihova uloga nije samo u početnoj fazi senzibilizacije na alergen nego u kasnijoj fazi održavanja kroničnog upalnog odgovora stoga su upravo te stanice veza između ekspozicije alergenu i alergijske upale u astmi. TSLP (thymic stromal lymphopoietin) je citokin kojeg u velikoj količini luče epitelne stanice i mastociti u bolesnika s astmom. Njegova uloga je ključna u sazrijevanju mijeloidnih DC i privlačenju T_H2 u dišne puteve inducirajući otpuštanje citokina CCL17 i CCL22 koji se vežu na CCR4 eksprimiran na T_H2 stanicama.

Pušenje cigareta povezano je s ekspanzijom DC stanica i značajnog porasta zrelih DC u dišnim putevima i alveolarnim septama u ljudi koji puše. Uloga DC u KOPB-u je nepoznata. Promatranjem respiratorne sluznice u bolesnika s KOPB-om elektronskim mikroskopom vidjelo se da je broj DC snižen u komparaciji s pušačima koji nemaju bronhalnu opstrukciju. Ovi nalazi ukazuju da DC nemaju važnu ulogu u KOPB-u.

Sličnost između astme i KOPB-a

Kod bolesnika s teškom astmom nalazimo upalne stanice koje imamo i kod KOPB-a. U sputumu se nalazi veliki broj neutrofila i povećana količina CXCL8 i TNF-a, pojačan oksidativni stres i takvi bolesnici imaju loš terapijski odgovor na kortikosteroide. Kod blagog oblika astme dominiraju T_H2 stanice dok se kod teškog nalazi mješavina T_H1 i T_H2 stanica, kao i puno $CD8^+$ stanica. Neutrofilna infiltracija koja se može naći kod teške astme može biti inducirana IL-17 kojega luče T_H17 stanice. Neutrofilna upala i visoka koncentracija CXCL8 također se nalazi kod bolesnika pušača s astmom.

Oko 10% bolesnika s KOPB-om ima reverzibilnost bronhokonstrikcije te je kod njih nađena predominacija eozinofilne infiltracije, uz pojačanu koncentraciju NO. Takvi bolesnici imaju bolji odgovor na kortikosteroidno liječenje i čini se da imaju kombinaciju i astme i KOPB-a. Akutne egzacerbacije kod bolesnika s astmom uglavnom nastaju nakon infekcije gornjeg respiratornog trakta rinovirusima, a manje inhalacijskim alergenima ili polutantima, dok su egzacerbacije kod KOPB-a uzrokovane bakterijskim ili virusnim infekcijama. U egzacerbaciji astme uzrokovanoj virusima nalazi se povećan broj neutrofila i eozinofila, dok se kod egzacerbacija KOPB-a, posebno onih uzrokovanih virusima, nalazi povećan broj eozinofila. Za vrijeme trajanja egzacerbacije upala je jednaka i kod astme i kod KOPB-a. Premda postoji visoko efektivna terapija za blage astme, kod teške astme i KOPB-a učinkovitost liječenja je slabija. Poznavajući ključne patofiziološke mehanizme mogli bi se razviti novi, imunomodulacijski, oblici liječenja koji su za sada u eksperimentalnoj fazi.

Novosti u atopijskom dermatitisu

Prof. dr. sc. Jasna Lipozenčić, dr. med. Zrinjka Paštar
Klinika za kožne i spolne bolesti, Klinički bolnički centar
Zagreb, Šalata 4

Atopijski dermatitis (AD) je kronična i recidivirajuća upalna bolest koja je često je prvi korak atopijskog marša što vodi astmi i alergijskom rinitisu. AD je rezultat interakcije gena, okolišnih čimbenika, oštećene kožne barijere i kompleksnih imunoloških reakcija.

Imunološke abnormalnosti posredovane su reakcijama preosjetljivosti i uzročni alergeni mogu biti inhalacijski i nutritivni te antigeni i kontaktni alergeni.

Etiopatogenezu AD karakterizira bifazični imunološki model. U akutnoj i inicijalnoj fazi predominantno je prisutan T_H2 citokinski model sa ekspresijom IL-4, IL-5, IL-13. U kroničnim promjenama prisutan je miješani T_H1 i T_H2 model sa ekspresijom IFN- γ and IL-2.

Nadalje, u koži AD nalazi se veći broj Langerhansovih stanica koje putem Fc ϵ R1 receptoržu već prezentiraju antigene T $H2$ limfocitima što potiče kaskadu imunoloških događaja.

Eozinofili putem IL-12 potiču „switch“ iz T_H2 modela u miješani T_H1 i T_H2 model. U upalnim događanjima sudjeluju mastociti koji produciraju i histamin i druge medijatore koji su odgovorni za upalu, pruritus i ekspresiju IFN- γ . Periferni mastociti produciraju prostaglandin E_2 (PGE2) koji reducira produkciju IFN- γ i potiče inicijalnu fazu T_H2 imunološkog odgovora te direktno potiče produkciju IgE putem sekrecije IL-4, IL-5 i IL-13. Povećana aktivnost cAMP-fosfodiesteraze u monocitima potiče sekreciju IL-10 and PGE2 iz monocita, IL-4 iz T-limfocita, IgE i oslobađanje histamina iz mastocita i bazofila.

Nadalje u etiopatogenezi sudjeluju i brojni kemokini i poremećaj prirodene imunosti.

Terapijske mogućnosti u AD su mnogobrojne, a usmjerene su na imunomodulaciju.

Može li se prevenirati razvoj alergijske bolesti?

Dr. sc. Mirjana Turkalj

Dječja bolnica Srebrnjak, Referentni centar Ministarstva
zdravstva za alergijske bolesti djece, Zagreb

Prevalencija alergijskih bolesti zadnjih desetak godina u značajnom je porastu posebno u razvijenim zemljama Zapada. Poznato je da dopojave alergijskih bolesti dolazi u složenoj interakciji nasljednih čimbenika i čimbenika iz okoliša. Brojni čimbenici iz okoliša se povezuju s ispoljavanjem alergijskih bolesti i njihovim porastom, a uloga pojedinih okolišnih čimbenika danas je još uvijek dvojbena. Nedvojbeno je da složena interakcija nasljednih i okolišnih čimbenika počinje vrlo rano, tijekom intrauterinog rasta i razvoja ploda, te u prvim godinama života djeteta, dakle puno prije ispoljavanja simptoma bolesti. Ukoliko želimo prevenirati razvoj alergijske bolesti naše djelovanje mora biti usmjereno intervenciju tijekom intaruterinog razvoja imunološkog sustava djeteta, kao i na preve godine života djeteta u kojima se još «oblikuje» imunološki odgovor. Naše spoznaje o mehanizmima senzibilizacije fetusa i poslije djeteta, kao i mehanizme odgovorne za pojavu manifestne alergijske bolesti odnosno alergijskog fenotipa još uvijek su dosta ograničene, time i mjere intervencije u smislu prevencije još uvijek nisu jasno definirane.

Patomehanizam *in utero* senzibilizacije

Ljudski fetus se razvija u tzv. Th2 okružju s predominacijom citokina koji, favoriziraju Th2 odgovor (IL-4, IL-10), uz istovremeno smanjenu koncentraciju citokina koji potiču Th1 imunološki odgovor (IL-2 i INF-gama). Nakon poroda postupno, u zdravog djeteta postaje dominantan tzv. Th1 imunološki odgovor na okolišne antigene. Zašto se u alergične djece zadrži Th2 odgovor još uvijek nije u potpunosti jasno. Senzibilizacija na vanjske antigene se javlja u prvoj polovini trudnoće, a T-stanični prekursori dozrijevaju nakon stimulacije antigenom između 18 i 22 tjedna gestacije. IgE i Th2 citokini u amnionskoj tekućini moguće imaju ulogu o zaštiti fetusa od parazita majke. U takvom okolišu favorizirano je ispoljavanje IgE protutijela na površini mastocita i dendritičkih stanica, koji moguće imaju bitnu ulogu u primarnoj senzibilizaciji. Amnijsku tekućinu u kojoj se nalaze alergeni i majčina IgE protutijela fetus guta te se preko probavnog trakta senzibilizira, što rezultira stvaranjem alergen specifičnih T limfocita. Dendritičke stanice u probavnom traktu fetusa «love» komplekse alergena i IgE protutijela preko svojih receptora visokog afiniteta za IgE (Fc ϵ RI), te ih potom ispoljavaju u sklopu molekula tkivne snošljivosti (MHC klase II) limfocitima T koji se nalaze u limfnim čvorovima.

Nesporno je da različite supstance iz majčinog okoliša dospjevaju tijekom gestacije u okoliš fetusa, kao npr. nikotin, antigeni HIV-a, inulin, alergeni (grinje - Der p, belanjak jajeta), itd.

Senzibilizacija na nutritivne alergene

Poznato je da se fetus može senzibilizirati na različite nutritivne alergene. Dokazano je postojanje specifičnih IgE

protutijela i specifičnih limfocita T na bjelančevine iz kvalitetnijeg mlijeka, jaja, kikirikija, itd. Naime, njihovo postojanje se čini normalnim imunološkim odgovorom na strane antigene, te ne mora rezultirati kasnijem razvojem alergije na hranu u dojenčeta. U prilog tome govore i rezultati intervencijskih studija kojima se pokušala prevenirati senzibilizacija i razvoj nutritivne alergije eliminacijom npr. kvalitetnijeg mlijeka i jaja iz prehrane trudnice. Meta analiza je pokazala da eliminacijska dijeta majki tijekom zadnjeg trimetra trudnoće nije dovela do smanjenja pojave alergijskih bolesti u njihove djece. Stoga po preporukama Europske akademije za alergologiju i kliničku imunologiju se trudnicama ne preporuča eliminacijska dijeta tijekom trudnoće, posebno ako se radi o bitnim namjernicama koje bi trudnica trebala konzumirati tijekom trudnoće. Jedino su epidemiološke studije koje su istraživale učinak konzumiranja kikirikija tijekom trudnoće pokazale smanjenje senzibilizacije njihove djece na kikiriki. Kako kikiriki nije esencijalna namjernica, te njegova eliminacija iz prehrane ne dovodi do učinka na nutritivni status majke, danas se jedino preporučuje eliminacija kikirikija tijekom trudnoće majkama s atopijskim bolestima ili ako su iz obitelji s pozitivnom anamnezom glede atopijskih bolesti (preporuke Američke akademije za pedijatriju).

Izbjegavanje u prehrani dojenčeta proteina kravljeg mlijeka, jaja, ribe, orašida itd. nije imalo značajnog učinka na pojavu alergijskih bolesti dišnih putova. Dužina dojenja, također nije imalo značajnog učinka na kasniju pojavu i razvoj astme u atopične djece, te se preporučaju iste mjere glede dužine dojenja i prehrane kao za neatopičnu djecu (Kramer MS i sur.).

Glede uvođenja dohrane tijekom dojenačkog perioda djeteta, zadnje smjernice su pokazale da vrijeme uvođenja pojedinih namjernica u prehranu djeteta u dobi 4-6 mj. života djeteta nije imalo učinka na kasniji razvoj senzibilizacije na iste, kao i na razvoj alergijskih bolesti. Konačni zaključci o uvođenju određene prehrane na pojavu atopijskog dermatitisa još uvijek nisu donešeni (Zutavern i sur.).

Senzibilizacija na inhalacijske alergene

Nedvojbeno je da je fetus može senzibilizirati na inhalacijske alergene *in utero*. Dokazan je i specifični imunološki odgovor na inhalacijske alergene u zadnjem trimestru trudnoće. Međutim, senzibilizirano dijete ne mora razviti alergijsku bolest, i ako jasno postoji veza između ekspozicije i senzibilizacije. Stoga preventivne mjere kojima bi se utjecalo na smanjenje ekspozicije inhalacijskim alergenima tijekom trudnoće su, kako je to pokazano u više studija, bile neučinkovite u smislu prevencija razvoja alergijskih bolesti u djece, a neke su čak imale paradoksnu učinak. Woodcock A, i sur. su pokazali da je smanjenje ekspozicije grinjama iz kućne prašine tijekom trudnoće dovelo do poboljšanja plućne funkcije u kasnije praćene djece, ali se istovremeno povećao rizik senzibilizacije na grinje.

Glede učinka pušenja tijekom trudnoće nedvojbeno je štetno djelovanje na razvoj pluća i plućne funkcije djeteta, te pojavu wheezinga u prvim godinama života djeteta. Stoga se majkama treba preporučiti nepušenje, te izbjegavanje boravka u zadimljenim prostorijama. Učinak drugih polutanata i iritansa tijekom trudnoće na razvoj alergijskih bolesti još je dvojben.

Ekspozicija mikrobima i pojava alergijskih bolesti u djece

Poznato je da neki bakterijski antigeni mogu inhibirati alergijsku upalu, npr. lipopolisaharidni antigeni. Prema higijenskoj hipotezi življenjem u okolišu koji potiče Th1 imunološki odgovor, kao npr. okoliš «bogat» bakterijskim endotoksinima smanjuje se pojavnost alergijskih bolesti. Stoga trudnice i djeca koje žive u ruralnoj sredini imaju manje alergijskih bolesti. Djeca koja odrastaju u okolišu s većom koncentracijom bakterijskih antigena (npr. endotoksina), koja žive na selu i farmama rjeđe obolijevaju od astme (higijenska hipoteza) (Riedler J, von Mutius E). Ako djeca odrastaju u sredinama s većim rizikom od infekcija (više braće ili sestara, pohađanje jaslica i vrtića) imaju manji rizik za razvoj alergijskih bolesti i astme (Ball TM).

Bakterijska flora crijeva može djelovati protektivno na razvoj alergijskih bolesti (Bjorksten B).

Uzimanjem probiotika u zadnjem trimestru trudnoće i prvim mjesecima života djeteta djelovalo je protektivno na razvoj atopijskog ekcema nakon 1 i 4 godine praćenja djece (Kalliomaki M). Još uvijek nema jasnih preporuka glede primjene probiotika u prevenciji alergijskih bolesti u trudnoći..

Učinak imunomodulacijske prehrane na razvoj alergijskih bolesti
Zadnjih godina porastao je interes za istraživanja učinka prehrane, posebno koja bi mogla djelovati imunomodulacijski, kao što su npr. antioksidansi i djelomično-zasićene masne kiseline (omega-3 MK) na razvoj alergijskih bolesti. Prema nekim istraživanjima prehrana bogata npr. ribljim uljem može djelovati protektivno na razvoj senzibilizacije na alergene, posebno se provodi tijekom trudnoće. Takodjer brojne su publikacije o učinku mliječnih formula obogaćenih probioticima na prevenciju i razvoj senzibilizacije na nutritivne inhalacijske alergene, te na razvoj alergijskih bolesti u djece (Puccio G, Taylor AL, Kukkonen K). U nekim studijama se ističe povoljan učinak takve prehrane, dok druge nistu potvrdile ikakav učinak na modulaciju razvoja atopijskog fenotipa.

Zaključak:

Primarna prevencija alergijskih bolesti trebala bi započeti već tijekom intaruterinog odrastanja djeteta, a potom se provoditi tijekom prvih godina života djeteta dok još djetete nije senzibilizirano, tj. dok nije razvilo alergijsku bolest. Koje preventivne aktivnosti treba provoditi u tom periodu (glede prehrane majke i djeteta, izlaganja okolišnim alergenima, itd), još nije jasno definirano, jer je učinak istih bio vrlo varijabilan, a publicirane studije nekonzistentne. Potrebne su nove i veće studije koje će dati jasnije smjernice glede provođenja prevencije razvoja alergijskih bolesti.

LITERATURA:.

- 1) Vance GHS, Holloway JA. Early life exposure to dietary and inhalant allergens. *Pediatr Allergy Immunol* 2002;13 (Suppl 15):14-8.
- 2) Zeiger RS. Food allergen avoidance in the prevention of food allergy in infants and children. *Pediatrics* 2003;111:1662-71.
- 3) Kramer MS. Maternal antigen avoidance during lactation for preventing atopic disease in infants of women at high risk. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;2, CD000133.

- 4) Kramer MS, Kakuma R. Optimal duration of exclusive breastfeeding. *Cochrane Database Sys Rev* 2002;(1): CD003517.
- 5) Zutavern A, Brokow I, Schaaf B, et al: Timing of solid food introduction in relation to eczema, asthma, allergic rhinitis and inhalant sensitization at the age of 6 years: results from the prospective birth cohort study LISA. *Pediatrics* Vol 121: 44-52, 2008.
- 6) Woodcock A, Lowe LA, Murray CS, i sur. Early life enviromental control: effect on symptoms, sensitisation and lung function at age 3 years. NAC Manchester Asthma and Allergy Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:433-9.
- 7) Riedler J, Eder W, Schreuer M, et al: Early life exposure to farming provides protection against the development of asthma and allergy, *Lancet* 358:1129, 2001.
- 8) Von Mutius E, Braun-Fahrländer C, Schierl R, et al: Exposure to endotoxin or other bacterial components might protect against the development of atopy, *Clin Exp Allergy* 30:1230, 2000.
- 9) Ball TM, Castro-Rodriguez JA, Griffith KA, Holberg CJ, Martinez FD, Wright AL. Siblings, day-care attendance, and the risk of asthma and wheezing during childhood. *N Engl J Med* 2000;343:538-43.
- 10) Bjorksten B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children [published erratum appears in *Clin Exp Allergy* 2000;30:1047]. *ClinExp Allergy* 1999;29:342-6.
- 11) Kalliomaki M, Salminen S, Poussa T, i sur. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003;361:1869-71.
- 12) Dunstan JA, Prescott SL. Does fish oil supplementation in pregnancy reduce the risk of allergic disease in infants? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005;5 (3):215-21.
- 13) Puccio G, Cajozzo C, Meli F, Rochat F, Grathwohl D, Steenhout P. Clinical evaluation of a new starter formula for infants containing live *Bifidobacterium longum* BL999 and prebiotics. *Nutrition* 2007;23:1-8.
- 14) Taylor A, Hale J, Wiltschut J, Lehmann H, Dunstan JA, Prescott SL. Evaluation of the effects of probiotic supplementation from the neonatal period on innate immune development in infancy. *Clinical and Experimental Allergy* 2006;36:1218-26.
- 15) Taylor AL, Dunstan JA, Prescott SL. Probiotic supplementation for the first 6 months of life fails to reduce the risk of atopic dermatitis and increases the risk of allergen sensitization in high-risk children: A randomized controlled trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2007;119:184-91.
- 16) Taylor AL, Hale J, Wiltschut J, Lehmann H, Dunstan JA, Prescott SL. Effects of probiotic supplementation for the first 6 months of life on allergen- and vaccine-specific immune responses. *Clinical and Experimental Allergy* 2006;36:1227-35.

- 17) Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Poussa T et al. Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2007;119:192-8.

Dijagnostičke mogućnosti u medikamentoznoj alergiji

Dr. med. Marinko Artuković, doc. dr. sc. Asja Stipičić Marković,
prim.dr. Zdenko Tuđman
Odjel za kliničku imunologiju, pulmologiju i reumatologiju,
Opće bolnice Sveti Duh, Zagreb

Nuspojave na lijekove su česte, ali samo 6 do 10% uzrokovano je imunološkom reaktivnošću.

Alergijska ili hipersenzitivna reakcija na lijek definira se kao imunološki posredovana reakcija, karakterizirana specifičnošću, prijenosom protutijela ili limfocita i recidivom pri ponovnoj ekspoziciji. Široko prisutno „Ig-E - fokusirano“ motrište kod alergijskih reakcija na lijekove problem je iz nekoliko razloga. Najprije, bolesnici s „neuobičajenim“ reakcijama često se krivo dijagnosticiraju kao virusna, autoimunosna ili idiopatska bolest (npr. hepatitis, „drug fever“, idiopatska urtikarija). Nadalje, lijekovima inducirane bolesti i razumijevanje njihovih mehanizama uče nas o etiologiji i patofiziologiji „originalnih“ bolesti. Konačno, nedovoljna dijagnostika (a time i nedovoljna prevencija) ovih rijetkih, ali ozbiljnih reakcija (npr. hepatitis, TEN, Guillan Barre sindrom) zbog skupoće liječenja financijski je nepovoljna.

Reakcije hipersenzitivnosti na lijekove, osim anafilaktičkog tipa, mogu uključivati sva tri ostala tipa alergijske reakcije po Coombsu i Gellu. Kliničke i imunološke studije ipak sugeriraju da najčešći patogenetski mehanizmi ovdje uključuju tip I (IgE-posredovane) i tip IV (stanično-posredovane) imunološke reakcije. Odgođene reakcije hipersenzitivnosti na lijekove uglavnom su posljedica IV-og tipa alergijske reakcije, koja se na temelju imunohistokemijske i funkcijske heterogenosti može klasificirati u četiri različite subklase (IVa, IVb, IVc, IVd).

Od alergijskih reakcija treba razlikovati idiosinkraziju (reakcije neobjašnjive poznatim farmakološkim djelovanjem lijeka, obično ovisne o genetskim parametrima) i intoleranciju na lijekove (o dozi ovisan farmakološki efekt kod podložnih pacijenata, npr. tinitus nakon visoke doze salicilata) a kao poseban oblik reakcije izdvaja se pseudoalergijska koja je po kliničkoj ekspresiji jednaka alergijskoj reakciji ali bez imunološke specifičnosti (nespecifična aktivacija komplementa ili direktno vezanje za mastocitne receptore).

Lijek, dakle, može djelovati kao antigen, imunogen ili haptent, koji tek vezivanjem na proteine plazme postaje antigeničan. Međutim, prema novim znanstvenim spoznajama dodatna razina kompleksnosti proizlazi iz „*p-i koncepta*“ (pharmacological interaction with immune receptors) koji postulira zaobilaženje uobičajenog imunološkog odgovora direktnom farmakološkom stimulacijom memorijskih i efektorskih T limfocita. Prema ovom konceptu za indukciju imunološkog odgovora nije potrebno kovalentno vezanje lijeka na endogene proteine i stvaranje tzv. *haptent-carrier* kompleksa. Neki se lijekovi, naime, mogu direktno i reverzibilno vezati za dostupne T-stanične receptore (TCR).

Dolazi do aktivacije prethodno aktiviranih, peptidno-specifičnih T stanica, koje su križno specifične za lijek. Pod nekim uvjetima, ova interakcija može dovesti do T-staničnog odgovora, za što je potrebna i interakcija iste T stanice s MHC molekulom. Radi se, dakle, o lijekom posredovanoj „nekonvencionalnoj“ T-staničnoj aktivaciji. Ovakav tip reakcije rezultira isključivo T-staničnom stimulacijom i dovodi do niza bizarnih kliničkih manifestacija.

Klinička slika alergijske reakcije na lijekove može se manifestirati od monosimptomatske do polisimptomatske, lokalne, generalizirane do systemske, blage do fatalne koja završava anafilaktičkim šokom. Pri tom je zahvaćen jedan ili više organskih sustava.

Iako betalaktamski antibiotici zauzimaju najznačajnije mjesto među alergijskim reakcijama na lijekove, zapažaju se alergijske reakcije na praktično sve aktivne farmakološke supstanacije ali i njihove pomoćne tvari što može rezultirati nepodnošenjem istih lijekova od različitih proizvođača.

Zajednička karakteristika betalaktamskih antibiotika je betalaktamski i tiazolidinski prsten čiji se dijelovi nakon cijepanja povezuju s proteinima seruma (haptinizacija) i tako postaju kompletan antigen. Incidencija imunoloških reakcija na penicilin u populacijskim studijama iznosi 0.7 do 10%. Međutim, najčešći induktori alergijskih reakcija među antimikrobnim lijekovima su sulfonamidi, s incidencijom 2-4% (50-60% kod bolesnika s AIDS-om). Za razliku od betalaktamskih antibiotika, čije molekule nakon vezanja postaju antigeni, para spojevi se moraju prethodno metabolizirati da bi se vezali na nosač, i tek tada postaju antigenični. Tako se sulfonamidi procesom acetilacije metaboliziraju i ekskreciraju, a oksidacijom se haptiniziraju i uzrokuju i uzrokuju alergijske reakcije. Prema nekim autorima zbog moguće unakrižne reakcije savjetuje se oprez kod korištenja furosemda i tiazidnih diuretika.

Upute za evaluaciju hipersenzitivnih reakcija na betalaktame, sulfonamide, druge antimikrobne lijekove, kao i ostale skupine lijekova, 2004 godine, donosi radna grupa za alergije na lijekove Europske Akademije za Alergologiju i Kliničku Imunologiju (EAACI) i European Network for Drug Allergy (ENDA) (Allergy, 2004: 59: 1153-1160).

Postupnici za testiranje preosjetljivosti na pojedinačne lijekove dostupni su u šestom izdanju Patterson's Allergic Diseases (2002, Editors: Grammer, Leslie C.; Greenberger, Paul A.). Svi autori naglašavaju potrebu da cijeli postupak testiranja bude proveden od strane specijalista iskusnog u ovom području, te u uvjetima gdje postoji stalna mogućnost zbrinjavanja anafilaksije.

Ponekad i lijekovi na koje su alergijske reakcije rijetke mogu dovesti do značajnih javno-zdravstvenih problema. Svjedoci smo alarmatnog upozorenja koje 11. travnja 2008 izdaje US Food and Drug Administration (FDA) vezano uz sigurnost primjene Baxterovog heparin-sulfata zbog pojave 350 alergijskih reakcija kod pacijenata dijaliziranih u 19 dijaliznih centara u 12 američkih država. Klinička slika varirala je od urtikarijalnih promjena, angioedema, bronhospazma, do anafilaktičnog šoka, a prijavljena su i četiri smrtna slučaja. Pokazalo se da je zajednička svim bolesnicima bila primjena heparin-sulfata navedenog proizvođača, uz implikaciju o promjenama u procesu proizvodnje i skladištenja u jednoj tvornici u Kini, koja nije bila pod inspekcijom FDA. Sve ovo upozorava da

alergijske reakcije na lijekove ne moraju biti samo posljedice imunogenosti farmakološke supstance, te naglašavaju važnost kontrole proizvodnje lijekova (Allergy to Heparin: The FDA Public Advisory).

Prema postojećim smjernicama European Network for Drug Allergy (ENDA) dijagnostički postupak preosjetljivosti na lijekove temelji se najprije na iscrpnoj povijesti bolesti (specifični upitnici, „Drug hypersensitivity questionnaire“), kožnim testovima, validiranim *in vitro* testovima kao što je određivanje specifičnog IgE (dostupnih samo za nekoliko lijekova) i *challenge* testovima. Kožni su testovi nedovoljno specifični za donošenje definitivne dijagnostičke odluke (specifičnost je različita za različite lijekove), čemu pridonosi i pojava nespecifične histaminoliberacije kod nekih lijekova (opći anestetici, vankomicin). Senzitivnost *in vitro* testova nije 100%, stoga su u najvećem broju slučajeva nepohodni provokacijski testovi.

Od pomoći su također neki imunološki testovi, kao što su test aktivacija bazofila (BAT, basophil activation test), test aktivacije limfocita (lymphocyte activation test, LAT), gdje se vrijednost rutinske upotrebe još procjenjuje.

Opširnije o dijagnostičkim algoritmima i ulozi pojedinih dijagnostičkih postupaka donosi slijedeća literature:

- 1) Antonino Romano, Pascal Demoly. Recent advances in the diagnosis of drug allergy. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* 2007, 7:299-303.
- 2) Pichler WJ (ed): Place of skin tests in investigating Systemic Cutaneous Drug Reactions. *Drug Hypersensitivity*. Basel, Karger, 2007, pp 366-379
- 3) Pichler WJ (ed): Approach to the Patient with a Drug Hypersensitivity Reaction—Clinical Perspectives. *Drug Hypersensitivity*. Basel. Karger, 2007, pp 352-365.

Iz svega navednog jasno je koliko je svaku neželjenu reakciju na lijek, uključujući i alergijsku, važno prepoznati, dijagnostički obraditi, ali i prijaviti, kako zbog opće, tako i zbog znanstvene koristi. Upravo iz ovog razloga FDA je osnovao najveću globalnu bazu podataka o neželjenim pojavama na lijekove (Adverse Event Reporting System, AERS) koja je lako dostupna na www.fda.gov/medwatch/index.html.

Komparacija sublingvalne i konvencionalne imunoterapije

Prof. dr. sc. Neda Aberle

Opća bolnica „Dr. J. Benčević“, Slavonski Brod

Alergijske bolesti su kronične upalne bolesti uvjetovane genetskim i okolišnim čimbenicima, a predstavljaju najčešće imunološke bolesti u djetinjstvu. Povećana prevalencija alergijskih bolesti bilježena diljem svijeta zadnjih nekoliko desetljeća, osobito u industrijaliziranim zemljama, sugerira da poboljšanje higijenskih uvjeta života, bolja kontrola nad infekcijama, česta upotreba antibiotika, vakcinacije, mogu predstavljati potencijalan utjecaj na «epidemijske razmjere» atopijskih bolesti koje se očekuju u ovom stoljeću .

Genetska komponenta ima važanu ulogu u razvoju astme i alergijskih bolesti, a smatra se da je nasljeđe poligeno. Povezano je pet genomskih regija - 5q23-31, 12q15-24.1, 16p, 19q13 i 21q21 . U novije vrijeme smatra se da polimorfizam gena za glutathione-S-transferazu predstavlja rizik za razvoj astme, a gen nazvan **ADAM33**- (**A** Disintergrin **A**nd **M**etalloprotease je odgovoran za remodelaciju te djeluje na razvoj i progresiju bolesti. **GATA-3** je identificiran kao važan Th2 regulatorni faktor, **T-bet** (T-box expressed in T-cells) je specifični Th1 marker, a transkripcijski faktor **FOXP3** je specifičan molekularni marker za T-regulacijske limfocite kao i za funkciju njihovih citokina IL-10 i TGF-beta.

Uz genetsku predispoziciju, izloženost inhalacijskim alergenima, među kojima su najčešći alergeni kućne prašine (dermatophagoides pteronyssinus, dermatophagoides farinae), peludi, plijesni, životinjske dlake, ili pak nutritivnim alergenima gdje je najčešća senzibilizacija na alergene kravljeg mlijeka, bjelanjak jajeta, brašno, kikiriki dovodi do složenih imunoloških reakcija.

Razumijevajući patofiziološke mehanizme može se usmjeriti terapijski pristup astmi. Protupalni lijekovi predstavljaju »zlatni standard« u liječenju alergijskih bolesti. Međutim, dodatnu, zapravo jedinu etiološku terapiju, predstavlja imunoterapija ,koja je započela širu primjenu ranih osamdesetih godina, a 1998 godine Svjetska zdravstvena organizacija zaključuje da je sublingvalna imunoterapija (SLIT) dostatna alternativa subkutanoj imunoterapiji (SCIT). Stoga, alergen-specifična imunoterapija zajedno sa protuupalnim lijekovima i izbjegavanjem alergena predstavlja osnovu suvremenog tretmana respiracijske alergije.

Imunoterapija, tj sublingvalan način primjene ima mnogostruke kliničke, biokemijske i imunološke efekte. Najnovija istraživanja pokazuju da je SLIT u prednosti pred SCIT-om osobito u djece, jer je bezbolna, učinak je sličan kao i kod SCIT, a nuspojave su znatno manje (oko 3%), može reducirati simptome i potrebu za lijekovima te prevenirati početak novih senzibilizacija, kao i napadaj astme u djece s alergijskim rinitisom.

Imunološki mehanizam djelovanja SLIT očituje se:

o reduciranjem ranog i kasnog alergijskog odgovora prema alergenu

- o reduciranjem proliferativnog odgovora T-limfocita i persistentnom supresijom Th2 odgovora
- o significantnim snižavanjem ECP-a i IL-3.
- o povećanjem razine IFN- γ
- o efektom na alergijsku inflamaciju (influx upalnih stanica i ekspresija ICAM-1, od engl. intercellular adhesion molecule type 1)
- o snižavanje razine IgE i IgG4 antitijela
- o pospješuje angažman nisko-afinitetnog Fc ϵ RII (CD23) receptora koji je negativan regulator IgE odgovora.
- o podiže razinu i inducira T-regulacijske stanice (CD4+CD25+)
- o podiže razinu citokina koje izlučuju T-reg. limfociti : IL-10 i TGF- β (a koji suprimiraju mastocite, eozinofile, smanjuju razinu IgE i IgG4).
- o porast FOXP3 koji je povezan sa ekspresijom IL-10 i TGF- β . Citokin TGF- β također pospješuje ekspresiju FOXP3, a inhibira skretanje prema Th1 pomoću transkripcijskog faktora T-BET i skretanje prema Th2 pomoću GATA-3 što se zbiva već 1. do 7. dana nakon početka terapije
- o smanjuje reakciju na metakolin.
- o pospješavanjem Th1 odgovora pomoću adjuvansa koji je u SLIT 3-deacylated monophosphoryl lipid A (MPLA)
- o induciranjem T-regulacijskih limfocita, koje su sposobne kontrolirati alergen-specifične efektorske T-stanice.

U Alergološkoj ambulanti Opće bolnice "Dr. Josip Benčević" prospektivno je praćeno tijekom tri godine 57 djece dobi 6-15 godina alergičnih na Dermatophagoides pteronyssinus. 27 djece je primalo sublingvalnu imunoterapiju (SLIT) i 30 djece je primalo subkutanu imunoterapiju (SCIT). U djece koja su dobivala SLIT, prick test se nakon tri godine smanjio za 36,8%, broj eozinofila u perifernj krvi smanjio se za 31,2%, pad ukupnih IgE antitijela smanjila su se za 16,7%, a specifična IgE antitijela za 42,9%. U djece koja su primala SCIT, prick test se smanjio za 38,9%, broj eozinofila u perifernj krvi smanjio se za 31,4%, pad ukupnih IgE antitijela smanjila su se za 5,0%, a specifična IgE antitijela za 41,7%.

Literatura:

1. American Thoracic Society. Proceedings of the ATS workshop on refractory asthma: current understanding, recommendations, and unanswered questions. Am J Respir Crit Care Med 2000;1162:2341-551.
2. Sandford A, Weir T, Pare P. The genetic and environment in asthma: the answer of twin studies. Eur Respir J. 1999;13:22-4.-
3. Sandford A, Weir T, Pare P. The genetics of asthma. Am J Respirat Crit Care Med 1996;103:175-83
4. Los H, Koppelman G, Postma D. The importance of genetic influences in asthma. Eur Respir. J. 1999;14:11210-227..
4. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. Science 2003;299:1057

5. Ahern DJ, Robinson DS. Regulatory T cells as a target for induction of immune tolerance in allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2005;5(6):531-538
6. Elias JA, Lee CG, Zheng T, Ma B, Homer RJ, Zhu Z. New insights into the pathogenesis of sthma. *J Clin Invest* 2003;111:291-97.
7. Huang TJ, MacAry PA, Eynott P, Mousavi A, Daniel KC, et al. Allergen specific Th1 cells counteract efferent Th2-cell dependent bronchial hyperresponsiveness and eosinophilic inflammation partly via INF- γ . *J Immunol* 2001;166:20717.
8. Passalacqua G, Baena-Cagnani CE, Berardi M, Canonica GW. Oral and sublingual immunotherapy in paediatric patients. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003; 3 (2) :139-145.
9. Pajno G, Barberio G, De Luca F, et al. Prevention of new sensitizations in asthmatic children monosensitized to house dust mite by specific immunotherapy: a six-year follow-up study. *Clin Exp Allergy* 2001; 31:1392-1397.
10. Pajno G, Morabito L, Barberio G, Parmiani S. Clinical and immunological effects of longterm sublingual immunotherapy in asthmatic children sensitized to mite: a double blind study. *Allergy* 2000; 55:842-849.
11. Fanta C, Bohl B, Hirt W. et al. Systemic immunological changes induced by administration of grass pollen extract via oral mucosa during SLIT. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 120:218-224.
12. Silvestri M, Spallarossa D, Battistini E, et al. Changes in inflammatory and clinical parameters and in bronchial hyperreactivity asthmatic children sensitized to house dust mites following sublingual immunotherapy. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2002; 12:52-59.
13. Schmidt-Weber CB, Blaster K. New insights into the mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5(6): 525-530.
14. Passalacqua G, Canonica GW. long lasting efficacy of specific immunotherapy. *Allergy* 2002; 57:275-276.

Mehanizmi blokade histaminskih receptora

Doc. dr. sc. Asja Stipičić Marković¹, dr. med. Ivana Franić²

¹Odjel za kliničku imunologiju, pulmologiju i reumatologiju, Opća bolnica Sveti Duh, Zagreb

²Klinika za dječje bolesti Zagreb

Cirkulatorni urušaj u anafilaktičkom šoku, dobra je ilustracija široke tkivne rasprostranjenosti receptora za histamin (H) u organizmu i mogućnosti promptnih sistemskih učinaka ovog medijatora. Histamin, otpušten iz mastocita i bazofila u upalnoj reakciji, inducira tkivne efekte preko nekoliko receptora različitih funkcionalnih svojstava: H₁, H₂, H₃ i H₄.

Receptor H₁ je važan za regulaciju „unutrašnjeg sata“. Stimulacija H₁ u mozgu čini čovjeka budnim i spremnim. Preko H₂ receptora regulirana je količina HCl u gastrointestinalnom traktu. H₃ receptori rasprostranjeni su u živčanom sustavu, prvenstveno u CNS-u. H₄ receptori, otkriveni 2001. godine, reguliraju otpuštanje leukocita iz koštane srži. Iste godine, dokazano je da osim endotelnih, glatkih mišićnih, moždanih i žlijezdanih stanica, mastocita i eozinofila i imunokompetentne stanice, T limfociti, također imaju receptore H₁ i H₂ (Tablica 2).

Tablica 1. Histaminski receptori

| Vrsta receptora | Ekspresija receptora | Unutarstanični signali |
|-----------------|---|---|
| H ₁ | neuroni, glatki mišići krvnih žila i bronha, hepatociti, hondrociti, endotelne stanice, neutrofili, eozinofili, monociti, DC, T i B limfociti | cGMP, cAMP, PLA ₂ , Ca ⁺² , PLC |
| H ₂ | kao gore | Ca ⁺² , PLC, cAMP, c-fos |
| H ₃ | histaminergični neuroni, eozinofili, DC, monociti niska ekspresija u perifernim tkivima | inhibicija cAMP, Ca ⁺² |
| H ₄ | neutrofili, eozinofili, monociti, DC, T limfociti, bazofili, mastociti niska ekspresija u živčanom sustavu, hepatocitima i perifernim tkivima | inhibicija cAMP |

Različita ekspresija četiri tipa H receptora i njihovi unutarstanični signali, objašnjavaju zašto histamin nije samo induktor kroničnog upalnog odgovora, nego ima i sposobnost ravnati nekim bitnim imunološkom putevima. Imunoregulatorni kapacitet male histaminske molekule, dokazan je istraživačkim radovima zadnjih nekoliko godina.

Tako je napr. T-stanični i humoralni imunološki odgovor reguliran diferencijalnom ekspresijom H_1 i H_2 na efektorskim stanicama. Th-1 reakcija se preko H_1 receptora pojačava a preko H_2 se smanjuje Th-1 i Th-2. Delecija H_1 receptora u miša dovodi do supresije IFN- γ i dominacije sekrecije IL-4 and IL-13 a posljedično tome i povećane sinteze IgE, IgG₁, IgG_{2b} i IgG₃. Miševi kojima nedostaje H_2 receptor imaju pojačanu regulaciju svih citokina (Th-1 i Th-2).

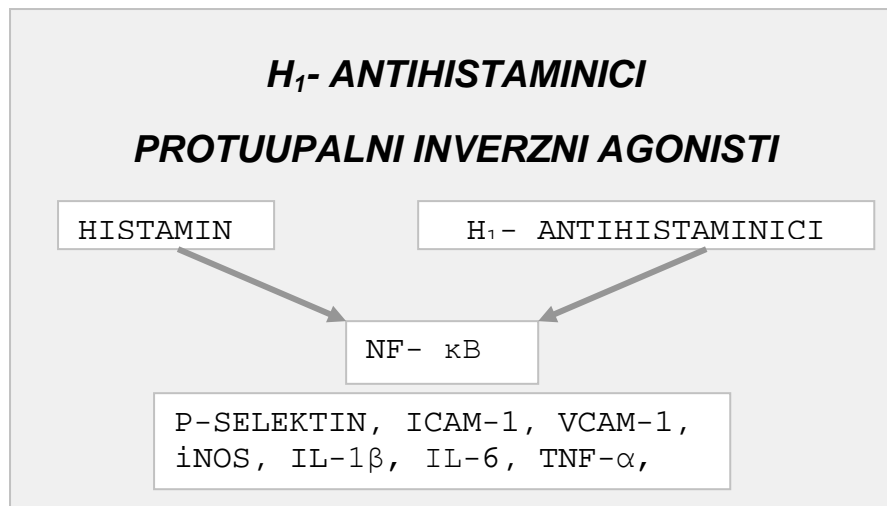
Također je dokazano da histamin djeluje na nezrele dendritične stanice (DC) i njihov polarizirajući potencijal za naivne T stanice. Nezrele i zrele DC ekspimiraju mRNA za H_1 , H_2 i H_3 receptore. Tijekom sazrijevanja DC, histamin, isključivo putem H_2 i H_3 receptora, stimulira sekreciju IL-10 a inhibira produkciju IL-12 na „dose-dependent“ način. DC „sazrele“ uz histamin polariziraju naivne CD4+ T stanice prema Th-2 fenotipu za razliku od DC koje sazrijevaju bez nazočnosti histamina.

Histamin i agonisti H_1 i H_2 receptora smanjuju produkciju IL-12p70 iz prethodno stimuliranih DC nastalih iz monocitnih prekursora.

Histaminski signali imaju važnu ulogu u indukciji mehanizama tolerancije tijekom specifične imunoterapije, djelujući prvenstveno kroz receptore H_2 tipa. Osim toga, histamin na nekoliko načina, pozitivno interferira sa perifernom tolerancijom antigena, induciranom T regulatornim stanicama. Tako je zapaženo da u bolesnika koji su primali specifičnu imunoterapiju na otrove insekata, provokacija s insektom nije dovela do alergijske reakcije ukoliko su istovremeno dobivali antihistaminike.

Nedavno je identificiran gen za H_1 koji se smatra lokusom autoimunosne bolesti. U miševa sa autoimunim orhitisom i onih predisponiranih za alergijski encefalomijelitis gen za H_1 razlikuje se u tri aminokiselinske rezidue. Miševi koji imaju manje težih autoimunosnih bolesti zapažena je manja produkcija IFN- γ a veća IL-4 (Th-2 smjer).

Na temelju novih znanstvenih spoznaja, na blokatore histaminskih receptora se više ne gleda samo kao na antagoniste otpuštenog histamina nego i „down regulatore“ produkcije nekoliko proinflamatornih čimbenika, što je važan aspekt dugotrajne protuupalne terapije (slika 1).



Slika 1. Učinak blokade H₁ na produkciju proinflamatornih čimbenika

Neutralizirajući učinak H₁ blokatora, ovisi o nekoliko farmakoloških svojstava: a) afinitetu kojima se vežu za H receptore, b) volumenu u kojem se distribuiraju i c) vremenu poluživota u kojem se otpuštaju s receptora. In vitro studije disocijacije i asocijacije s kloniranim humanim histaminskim receptorima pokazuju snagu vezivanja i duljinu trajanja vezanja. Svojstva vezanja antihistaminika za H receptore ispituju se i na animalnim modelima promatrajući potentnost kojom inhibiraju vezanje obilježenog mepiramina na receptore u plućima zamorca ili inhibicije kontrakcije ileuma izazvane histaminom. Sama snaga i duljina vezanja za receptore, dokazana in vitro, nije odlučujući čimbenik za terapijski uspjeh jer je važan i volumen distribucije i vrijeme poluživota lijeka u plazmi. U kliničkim ispitivanjima proučava se potentnost inhibicije eritema, urtike, svrbeža, nazalne kongestije, rinoreje, kihanja, konjuktivitisa te potrebe za dodatnom terapijom kao i kvaliteta života oboljelih. Iako antihistaminici nisu temeljna terapija u astmi rezultati više studija pokazuju da povoljan učinak na nazalne simptome korelira s poboljšanjem skora simptoma astme.

Antihistaminici su obavezni dio svakog terapijskog protokola alergijske bolesti.

Danas se preferira upotreba treće generacije antihistaminika koji su aktivni metaboliti lijekova druge generacije

(desloratadin aktivni metabolit loratadin, fexofenadin je derivat terfenadina a levocetirizin je aktivni metabolit cetirizina).

Desloratadin je visoko selektivni, nesedirajući, antagonist perifernih H₁ receptora potentniji nego loratadin. Preporučene dnevne doze feksofenadina i desloratadina ekvivalentne su u poboljšanju nazalnih simptoma. Zabilježena je mala interreakcija CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, or CYP3A4 izoenzima P-450 sistema i desloratadina. Vrijeme poluživota desloratadina je 27 sati a farmakološki učinak traje 24 sata zbog spore disocijacije od H₁ receptora.

Levocetirizin inhibira eotaksinom induciranu eozinofiliju, kroz dermalne i mikrovaskularne endotelne stanice zahvaljujući svom visokom afinitetu za H₁ receptore. Jedna velika, nekontrolirana Europska studija na 14.319 ispitanika, pokazuje dobru učinkovitost primjene 5 mg levocetirizina, u jednoj dnevnoj dozi, kod više od 80% bolesnika s alergijskim rinitisom.

Potentnost levocetirizina u supresiji urtike i crvenila veća je od ebastina, feksofenadina, mizolastina i loratadina (Ann Allergy Asthma Immunol 2002; 88:190-7).

Sigurnosni profil levocetirizina je dobar a kod bolesnika s teškom renalnom insuficijencijom doza se mora reducirati za 50%.

Novost u odlukama za primjenu antihistaminika je, uz uobičajene indikacije poput sezonskih alergijskih bolesti, urtikarije, rinitisa i pruritusa, eventualni dodatak lijeka protokolu specifične imunoterapije.

Uloga bioloških lijekova u imunološkim bolestima

Prof.dr. sc. Jadraka Morović-Vergles
Pročelnica Zavoda za kl. imunologiju i reumatologiju
Klinike za unutarnje bolesti KB Dubrava

Prema National Cancer Institute (NCI), biološkim lijekovima ili agensima nazivaju se tvari koje su dobivene iz živućeg organizma i koje se upotrebljavaju za prevenciju, dijagnozu ili liječenje raka i drugih bolesti. U biološke lijekove ubrajamo protutijela, interleukine i cjepiva (vakcine).

Biološki lijekovi su dizajnirani s ciljem da inhibiraju ili pospješe specifične komponente imunskog sustava. Primjer su antitijela usmjerena na proupalne citokine. Zahvaljujući napredku u molekularnoj biologiji, utvrđeni su brojni novi terapijski ciljevi uključujući citokine, podvrste stanica i druge molekule, kao i one uključene u signalnim putovima u određenim bolestima (primjerice reumatoidnom artritisu, RA). Napredak u biotehnologiji omogućio je stvaranje visoko kvalitetnih, kimeričnih (mišje-ljudskih) ili potpuno ljudskih monoklonskih protutijela sa specifičnošću za bitne molekule u određenim bolestima. Osim monoklonskim protutijelima, proupalne molekule mogu se blokirati i primjenom topivih receptora ili inhibirajućih proteina.

U Hrvatskoj su od 2007. godine, biološki lijekovi odobreni od HZZO-a (a prema preporukama Hrvatskog reumatološkog društva) u liječenju reumatoidnog artritisa (RA) i seronegativnih spondilartritisa (SNSA) (1,2).

Reumatoidni artritis (RA) je kronična, progresivna, sistemska, upalna reumatska bolest koja se očituje sinovitisom, bolovima u zglobovima, jutarnjom ukočenošću i oštećenjem funkcije te vodi općoj i radnoj nesposobnost uz visoke izravne i neizravne troškove. Poznato je da 30-50% bolesnika u kojih je RA počeo u radno aktivno vrijeme prestaje raditi nakon deset godina trajanja bolesti, a 50-75% nakon 20 godina (3). Rana dijagnoza uz rano započinjanje liječenja uvjeti su za bolju prognozu. Etiologija bolesti nije poznata, a u patogenezi RA ključnu ulogu imaju proupalni citokini, poglavito, TNF-alfa (tumor nekrotizirajući čimbenik alfa). TNF-alfa se luči najranije i potiče lučenje drugih citokina (4). Uz, citokine /TNF- α , IL-1, IL-6 i dr./ u upalnom procesu u zglobovima bolesnika od RA sudjeluju i brojne stanice: T, B i antigen-predstavljajuće stanice - APC (od engl. antigen presenting cell) (sl. 1).

Spoznaje o ulozi proupalnih citokina i stanica u patogenezi RA, razvoj bioloških lijekova i dokazi o njihovoj kliničkoj djelotvornosti predstavljaju bitan napredak u reumatologiji. S druge strane, povećani troškovi liječenja biološkim lijekovima bolesnika od RA zahtijevaju racionalni pristup.

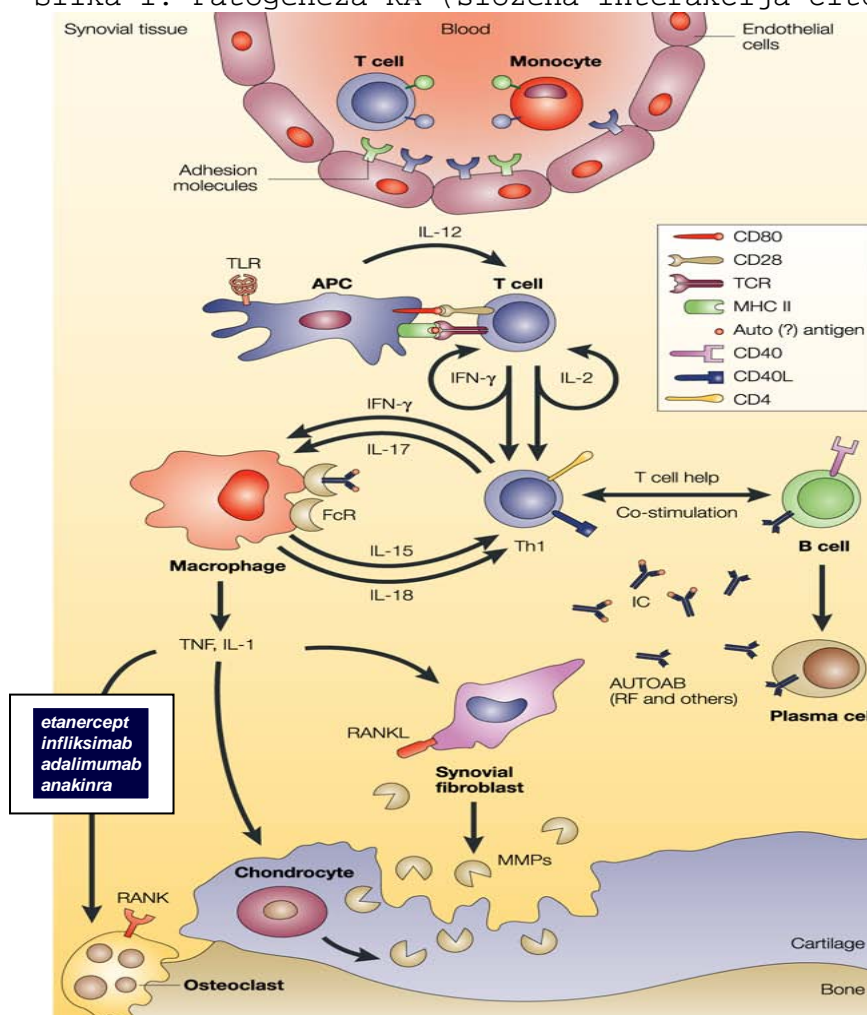
U Hrvatskoj imamo odobrena četiri biološka lijeka u liječenju RA: tri anti-TNF lijeka i rituksimab (monoklonsko CD20 protutijelo). Također, tri anti TNF-alfa lijeka odobrena su i u liječenju SNSA (ankilozantnog spondilitisa, psorijatičnog artritisa i nediferenciranog SNSA). Ta tri anti TNF lijeka odobrena u liječenju RA i SNSA su: infliksimab (tvorničko ime Remicade), kimerično (mišje-ljudsko) monoklonsko protutijelo, adalimumab (tvorničko ime

Humira), ljudsko monoklonsko protutijelo i fuzijski protein-etanercept, tvorničkog imena Enbrel.

Iako uloga B limfocita u patogenezi RA nije u potpunosti poznata, poznate su brojne, potencijalno važne, funkcije B limfocita uključujući njihovu ulogu u predočavanju antigena, sekreciji proupalnih citokina, lučenju reumatoidnog faktora i time njihovoj ulozi u stvaranju imunih kompleksa te u kostimulaciji T stanica. CD20 antigen je u velike izražen na površini B limfocita - pre-B stanica, nezrelih B stanica, aktiviranih B stanica i memorijske stanica. Dakle, CD20 ne nalazi se jedino na plazma stanicama i matičnim stanicama. Kimerično, mišje-ljudsko monoklonsko protutijelo na CD20, rituksimab (tvorničko ime Mabthera), veže se na izvanstaničnu domenu CD20 antigena na površini B limfocita. Uzrokuje kompleksom posredovanu lizu B stanica, započinje apoptozu, može uzrokovati protutijelima ovisnu stanično posredovanu citotoksičnost.

Osim anti TNF-lijekova, na svjetskom tržištu postoji i anakinra /tvornički -Kinret/- antagonist receptora interleukina 1 (IL-1) i abatacept (Orencia) ljudski fuzijski protein (CTLA4Ig) koji se veže na CD80 i CD86 na APC, prevenirajući tako njihovo vezanje za CD28 na T stanicama te sljedstveno inhibira aktivaciju T stanica zbog izostanka kostimulacijskog signala. Također u primjeni su i drugi biološki lijekovi (primjerice, monoklonska protutijela usmjerena na IL-6).

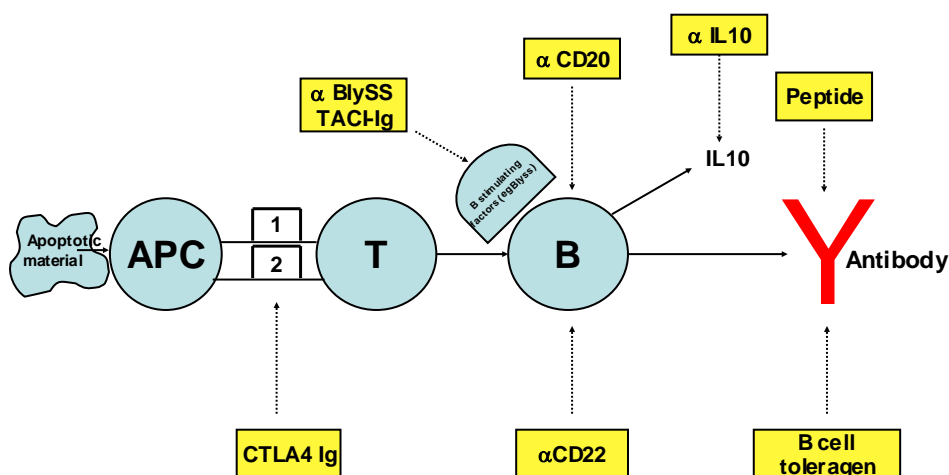
Slika 1. Patogeneza RA (složena interakcija citokina i stanica)



Sistemski eritemski lupus (SLE) autoimuna je kronična upalna bolest koja može zahvatiti bilo koji organ (premda su koža i zglobovi najčešće zahvaćeni) i klinički se očitovati vrlo raznoliko. Javlja se u ljudi svih rasa i etničkih skupina oba spola. Značajan je napredak u istraživanju SLE posljednjih godina (5). Važno je istaći da je uočen porast svijesti o bolesti kao i broj dijagnosticiranih bolesnika, a ishod bolesti je značajno poboljšan. Zašto još uvijek nismo zadovoljni? Zato jer je i dalje prekratki životni vijek bolesnika, nadalje, zbog problema vezanih uz imunosupresiju, nuspojava glukokortikoida te činjenice da unatrag 40 godina nema od regulatornih tijela odobrenog novog lijeka za SLE! Što danas znamo o imunopatogenezi SLE? Da je poremećena apoptoza (deficijencija fas/fas L) te da neadekvatno uklanjanje nukleosoma dovodi do autoimunog odgovora na nukleosome pa tako u bubregu vezanje antinuklearnih protutijela na glomerularnu bazalnu membranu posredovano nukleosomima pokreće razvoj glomerulonefritisa. Početak i/ili perpetuacija upale u SLE može biti ovisna o B limfocitima. Koja od uloga B limfocita je ključna? Je li to stvaranje patogeničnih protutijela (anti-trombocitna, anti-eritrocitna, anti-dsDNA (bubreg, CNS)

anti-Ro/La (KSB), aPL (gubitak ploda)), lučenje citokina ili aktivacija T limfocita (jer su B stanice značajne antigen-predajuće stanice (APC)? Sve više je spoznaja da aktivnost bolesti u SLE može biti ovisna B limfocitima, a imunodinamičke studije su kompatibilne s hipotezom da se ključna uloga B limfocita u u patogenezi lupusa odvija putem produkcije patogeničnih autoprotutijela. Na slici 2. naznačena su mjesta djelovanja novih bioloških lijekova u liječenju SLE, od koji su mnoga u eksperimentalnoj fazi.

Slika 2. Liječenje SLE - učinak na B limfocite (različiti mehanizmi)



Novi biološki lijekovi (neki već u primjeni u ljudi, a neki u kliničkim studijama ili eksperimentalnoj fazi) u liječenju SLE. Možemo ih podijeliti na one koji iskazuju

- a) učinak na B limfocite:
 - anti-CD20 (rituximab, kimeričko): deplecija B stanica
 - anti-CD20 (ocrelizumab, ljudsko): deplecija B stanica
 - anti-CD22 (epratuzumab, ljudsko): parcijalna deplecija B stanica, utjecaj na aktivaciju?
 - anti-BLys (belimumab, ljudsko): utjecaj na aktivaciju/proliferaciju
 - TACI-Ig (atacept)- solubilni receptor koji veže BLys i APRIL citokine: utjecaj na aktivaciju/proliferaciju
- b) učinak na interakciju T i B limfocita (indukcija tolerancije??)
 - CTLA4-Ig (abatacept): blokada kostimulacije
 - anti-CD40L: blokada kostimulacije
- c) učinak na specifičan autoimuni odgovor (dsDNA)
 - abatimus (B stanični tolergen LJP394)
 - edratide

Astma je kronična upalna bolest dišnih putova u kojoj sudjeluju brojne upalne i konstitutivne stanice te brojni upalni posrednici. Oko 2/3 je bolesnika s alergijskom astmom. Cilj liječenja astme je potpuna kontrola bolesti. Udio bolesnika s teškom astmom koji imaju alergijsku astmu (kožni ubodni "prick" test pozitivan aeroalergen) je velik. Poznato je da IgE ima ključnu ulogu u alergijskim respiratornim bolestima te da je povećana ekspersija visoko-afinitetnog IgE receptora u fatalnoj astmi.

Omalizumab je ljudsko monoklonsko anti-IgE protutijelo I primjenjuje se u liječenju neadekvatno kontrolirane teže alergijske astme (6). Primjenjeno u bolesnika s alergijskom astmom značajno:

- smanjuje submukozno IgE+ and FcεRI+ stanice
- smanjuje količinu eozinofila submukozno i u sputumu
- smanjuje i ranu i kasnu fazu astmatičnog odgovora

A podatci iz sedam kontroliranih studija jasno pokazuju da dodavanje omalizumaba značajno smanjuje učestalost:

- klinički značajnih egzacerbacija astme
- posjete hitnom traktu
- potrebu za povećanim dozama glukokortikoida

Stoga je lijek indiciran u bolesnika s nekontroliranom teškom, trajnom alergijskom astmom. Daje se subkutano svaka 2 do 4 tjedna s obzirom na tjelesnu težinu bolesnika I bazičnu vrijednost ukupnog IgE.

Primjena omalizumaba uvrštena je u preporuke za liječenje astme - GINA 2006. (5).

Literatura:

- 1) Ćurković B, Babić-Naglić Đ, Morović-Vergles J, Anić B, Grazio S. Prijedlog primjene antagonista TNF alfa u reumatoidnom artritisu. Reumatizam 2007;54:16-19.
- 2) Babić-Naglić Đ, Laktašić N, Jajić Z, Anić B, Morović-Vergles J, Ćurković B. Prijedlog Hrvatskog reumatološkog društva za primjenu inhibitora TNF-alfa u odraslih bolesnika sa spondiloartritisima. Reumatizam 2007; 54:20-30.

- 3) Wolfe F, Haweley DJ. The longterm outcomes of rheumatoid arthritis. Work disability: A prospective 18 year study of 823 patients. J Rheumatol 1998; 25:2108-2117.
- 4) Morović-Vergles j. Patofiziologija reumatoidnog artritisa. Reumatizam 2003;50:15-17.
- 5) Buhaescu I, Covic A, Deray G. Treatment of proliferative lupus nephritis - a critical approach. Semin Arthritis Rheum 2007;36:224-237.
- 6) Bousquet J i sur. GINA quidelines on asthma and deyond. Allergy 2007;62:102-112.