

Nowoczesna diagnostyka alergii na psa i kota

Modern diagnostics of dog and cat allergy

NATALIA UKLEJA-SOKOŁOWSKA, ZBIGNIEW BARTUZI

Katedra i Klinika Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych,
Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Streszczenie

Alergia na zwierzęta futerkowe jest istotnym problemem klinicznym u pacjentów zgłaszających się do lekarza alergologa. Pacjenci często zadają pytania dotyczące naturalnego przebiegu ich choroby, rokowania, a także możliwości współwystępowania alergii na inne zwierzęta. W odpowiedzi na te i inne pytania niezwykle przydatna może okazać się nowoczesna diagnostyka w oparciu o komponenty alergenowe.

W pracy opisano szczegółowo alergeny psa i kota, z uwzględnieniem ich przynależności do poszczególnych rodzin białek, źródła, znaczenia klinicznego i możliwości alergii krzyżowej.

W szczególności zwrócono uwagę na lipokaliny, stanowiące najważniejszą rodzinę alergenów wziewnych ssaków. Należą do nich alergeny główne psa (Can f 1-2), bydła (Bos d 2), konia (Equ c 1), szczura (Rat n 1), myszy (Mus m 1), świnki morskiej (Cav p 1), królika (Ory c 1), czy chomika (Pho s 21).

Podjęto również próbę odpowiedzi na pytanie w jaki sposób wiedza, dotycząca obecności w surowicy krwi chorego przeciwciała IgE skierowanego przeciwko konkretnym komponentom alergenowym psa i kota, może zostać wykorzystana w praktyce klinicznej.

Słowa kluczowe: *alergia, IgE, zwierzęta, lipokaliny, komponenty alergenowe*

Summary

Allergy to fur-bearing animals is an important clinical problem. Patients often ask questions about the natural history of their disease, their prognosis and the possibility of coexisting allergies to other animals. Component resolved diagnosis can be a useful tool in response to these and other questions concerning animal allergic patients.

In this paper we described in detail the components of dog and cat allergens, taking into account their source, protein families, the clinical relevance and the possibility of a cross-allergy between them.

In particular, we highlighted lipocalins, which are the most important family of inhaled mammal allergens. These include major dog allergens (Can f 1-2), cattle (Bos d 2), horse (Equ c 1), rat (Rat n 1), mouse (Mus m 1), guinea pig (Cav p 1), rabbit (Ory c 1) or hamster (Pho p 21).

We also attempt to answer the question of how the knowledge about the presence of IgE directed against allergenic components of dog and cat in patient's blood serum can be used in clinical practice.

Keywords: *allergy, IgE, animals, lipocalins, allergen components*

© *Alergia Astma Immunologia* 2016, 21 (2): 81-87

www.alergia-astma-immunologia.pl

Przyjęto do druku: 25.01.2016

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Natalia Ukleja-Sokołowska

Katedra i Klinika Alergologii, Immunologii Klinicznej
i Chorób Wewnętrznych, Collegium Medicum w Bydgoszczy
ul. Ujejskiego 75, 85-168 Bydgoszcz
Tel. 691 97 39 69

e-mail: ukleja@10g.pl

Wstęp

Alergia na zwierzęta futerkowe jest istotnym problemem klinicznym u pacjentów zgłaszających się do lekarza alergologa. Zdecydowana większość uczulonych ma objawy po kontakcie z psem i kotem, alergia na inne zwierzęta futerkowe występuje rzadziej. Ma to związek z olbrzymią ilością psów i kotów, które hodowane są w naszych domach, a co za tym idzie ze znaczną ekspozycją na ich alergeny. Pacjenci często zadają pytania dotyczące naturalnego przebiegu ich choroby, rokowania, a także możliwości współwystępowania alergii na inne zwierzęta futerkowe. W odpowiedzi na te i inne pytania niezwykle przydatna może okazać się nowoczesna diagnostyka w oparciu o komponenty alergenowe.

Alergeny psa

Alergeny psa (łac. *Canis familiaris*) są szeroko rozpoznane i relatywnie dobrze opisane. Ich obecność

stwierdzono w próbkach surowicy, sierści, futra, włosów i śliny. Należy pamiętać, że włos zwierząt sam w sobie nie stanowi źródła alergenów, które są wydzielane m.in. przez liczne gruczoły, lecz jest nimi opłaszczony. Mocz i stolec psa nie zawierają znaczących ilości alergenów [1].

Podstawowym źródłem alergenów jest psia sierść, która składa się z psich włosów, fragmentów naskórka i wydzielin gruczołów. Na sierści znajduje się także psia ślina. Sierść stanowi jeden z podstawowych składników kurzu domowego. Warto też pamiętać, że sierść psa może stanowić źródło alergenów innych, niż odzwierzęce – szampony dla psów mogą podrażniać skórę atopików, w sierści dobre warunki do życia mogą także znaleźć roztocza kurzu domowego i inne drobnoustroje, a także pasożyty.

Obecnie na świecie szacuje się, że istnieje ponad 800 ras psów, które mogą znacznie różnić się stężeniem poszczególnych alergenów. Różnice w ilości alergenów obecnych

w psiej sierści można zaobserwować także osobniczo w obrębie jednego gatunku. Generalnie uznaje się, że samce alergizują silniej niż samice, a starsze psy, ze względu na suchą skórę gubią więcej naskórka, przez co także stanowią silne źródło alergenów [2].

Sierść psa jest lekka i łatwo unosi się w powietrzu, w którym istotne ilości alergenów mogą być wykryte nawet kilka godzin po usunięciu psa z danego środowiska. Ilość alergenów psa w kurzu domowym obecnym w mieszkaniach, w których hodowane jest to zwierzę może być bardzo wysoka (nawet ponad 10 000ng/g kurzu) [3]. Co więcej w domach, w których nie mieszka pies nadal można stwierdzić obecność alergenów psa, zwłaszcza, gdy poprzedni właściciele posiadali to zwierzę lub gdy osoby posiadające psa są częstymi gośćmi w mieszkaniu [4].

Ilość alergenów psa w poszczególnych częściach domu różni się, najwięcej można znaleźć na podłodze w strefie dziennej mieszkania, w sypialni i na meblach (zwłaszcza tapicerowanych). Jednak nawet gładkie powierzchnie, takie jak ściany czy płytki podłogowe nie są wolne od alergenów. Właściciel może zmniejszyć koncentrację alergenów wydzielanych przez swojego czworonoga poprzez regularne (przynajmniej 2x w tygodniu) mycie psa [4,5].

Ze względu na fakt, że alergeny psa łatwo mogą być przeniesione na ubraniu właściciela, a czworonogi towarzysząc człowiekowi we wszelkiego rodzaju aktywnościach, należy się spodziewać obecności istotnych stężeń tych antygenów w przestrzeni publicznej, np. autobusach komunikacji miejskiej, szkołach, miejscu pracy, a nawet w poczekalni przed gabinetem lekarskim. Redukcja stężenia alergenu może być osiągnięta dzięki regularnemu sprzątnięciu oraz unikaniu powierzchni, które trudno dokładnie umyć (np. dywanów). Jednak, jeśli powierzchnia nie została poddana specjalistycznemu czyszczeniu i sterylizacji trudno ją całkowicie uwolnić od alergenów [6,7].

Wczesne badania ekstraktów alergenowych wykazały obecność przynajmniej 28 białek, mogących pełnić rolę alergenów psa, o różnej istotności klinicznej [8]. Obecnie dobrze scharakteryzowane alergeny to:

1. Can f 1, lipokalina, białko o zmiennej masie od 22-25 kDa, którego obecność stwierdzono we włosach, sierści i ślinie. Nie występuje w surowicy psów. Jest to alergen główny, uznawany za najistotniejszy antygen psa. 75% pacjentów uczulonych na psa posiada alergenowo swoiste IgE skierowane przeciwko Can f 1. Jest on wydzielany przez gruczoły językowe Ebnera. Wykazuje znaczną termostabilność, a jego znaczące stężenie można stwierdzić w próbkach kurzu domowego. Can f 1 stwierdzono w preparatach pobranych od psów różnych ras, a wpływ psich hormonów na jego stężenie nie jest istotny. Generalnie samce wydzielają więcej Can f 1 niż samice. Stężenie alergenu nie jest zależne od długości włosów czworonoga [9]. W 2012 roku opublikowano ciekawe badanie, które na podstawie oceny próbek pobranych od psów różnych ras oraz z ich domów, usiłowało wyjaśnić, czy istnieje hypoalergiczna rasa psa. Stwierdzono, że choć właściciele w samoobserwacji podają, że tzw. hypoalergiczne psy (np. Labradoodle) wywołują mniej objawów związanych z nadwrażliwością, to stężenia Can f 1 w ich sierści potrafią być nawet wyższe, niż u ras nie hypoalergiczných. Nie ma to jednak wpływu na stężenie alergenów w próbkach pobranych z mieszkań. Stwierdzono także zmienność stężenia Can f 1 nie tyl-

ko u psów różnych ras, ale także u psów tej samej rasy. Kastracja generalnie wpływała na zmniejszenie stężenia Can f 1. Autorzy wyciągnęli wniosek, że nie istnieją obecnie psy hypoalergiczne, a powody dla których niektóre rasy powodują, w subiektywnym odczuciu pacjentów, mniej objawów są niejasne [10].

- 2. Can f 2**, lipokalina o masie 19 kDa lub 27 kDa. Jest alergenem mniejszym, wiąże asIgE u 66% pacjentów uczulonych na psa [2]. Can f 1 i Can f 2 posiadają wspólne epitopy [11]. Ciekawe badania zostały opublikowane przez Saarelainen i wsp. w 2004 roku. Badali oni przydatność rekombinowanego Can f 1 i Can f 2 w diagnostyce alergii na psa. Stwierdzili oni, że Can f 1 rekombinowane i pochodzenia naturalnego wiąże alergenowo swoiste IgE chorych uczulonych na psa równie skutecznie (współczynnik $\phi = 1,0$; $P < 0,001$). W przypadku Can f 2 alergen pochodzenia naturalnego wiązał IgE skuteczniej niż alergen rekombinowany (współczynnik $\phi = 0,92$; $P < 0,001$). W badanej grupie chorych 33% wykazywała obecność asIgE skierowanego przeciwko Can f 2, a 58% przeciwko Can f 1 [12].
- 3. Can f 3**, albumina surowicy psa (ang. *Dog Serum Albumin*, DSA), to białko o masie ok 70 kDa. Wykazano jego obecność w osoczu, ślinie, sierści, włosach i nabłonku. Jest ono także syntetyzowane w gruczołach ślinowych i wątrobie [13]. Częstość uczulenia na Can f 3 różni się zależnie od badanej populacji i jest oceniana na 35-48% ogółu uczulonych na psa [8,14]. Albumina surowicy psa odpowiedzialna jest często za alergię krzyżową na inne zwierzęta futerkowe, takie jak kot, mysz i szczur. Reakcje krzyżowe mogą także być obecne w przypadku alergenów ptaków, np. kurczaka. W badaniach Spitzauer i wsp. badano różnice pomiędzy albuminą psa i innych gatunków zwierząt i stwierdzono, że struktura białek jest zbliżona, co leży u podstawy alergii krzyżowej. Sekwencja aminokwasów w DSA była homologiczna w znacznej mierze z albuminą ludzką (82,6%), świni (81,8%), bydła (77,3%), owcy (78,8%), myszy (75,8%) szczura (76,2%) [15]. Ogólnie wśród uczulonych na zwierzęta futerkowe około 20-30% posiada asIgE przeciwko albuminie surowicy zwierzęcej [16]. Opisano także przypadki pacjentów uczulonych na sierść psa, u których wystąpiła alergologia krzyżowa z pokarmem – mięsem ssaków. W 2005 roku opisano ciekawy przypadek kucharza, który był astmatykiem uczulonym na naskórek psa. Po kontakcie z surową wołowiną u pacjenta wystąpiły świsły i pokrzywka na dłoniach, szczególnie w trakcie rozmrażania wołowiny. W teście hamowania immunobloting udowodniono, że u chorego pierwotnym źródłem nadwrażliwości było DSA, a reakcje po kontakcie z wołowiną były spowodowane alergią krzyżową z albuminą surowicy bydłowej (ang. *bovine serum albumin*, BSA) [17]. Vicente-Serrano i wsp. w 2007 roku opublikowali badanie, które miało na celu badanie alergii krzyżowej pomiędzy mięsem, mlekiem i sierścią zwierząt. Badali oni surowicę 8 dzieci uczulonych na mleko i sierść zwierząt domowych za pomocą IgE-immunoblotingu i SDS-PAGE. U 7 pacjentów stwierdzono obecność IgE skierowanego przeciwko różnym gatunkom mięsa (wołowina, jagnięcina, dziczyzna i wieprzowina), sierściom różnych ssaków (psa, kota i krowy), oraz mleka krowiego. Badacze wywnioskowali, że pierwotnym uczuleniem u pacjentów była albumina mleka. Następnie chorzy ci nabyli nadwrażliwość na albuminę zwierząt, nawet pomimo braku kontaktu z nimi. Warto

odnotować, że albumina surowicy ssaków jest bardzo mało odporna na wysoką temperaturę. Z tego powodu u chorych objawy alergii mają miejsce po kontakcie z surowym mięsem, ale nie z mięsem poddanym obróbce cieplnej [18]. Pomimo częstych reakcji krzyżowych pomiędzy albuminą surowicy różnych ssaków, należy pamiętać, że część epitopów albuminy jest swoista gatunkowo. Relatywnie dobrze opisano alergię krzyżową pomiędzy alergenami kota i wieprzowiny (zespół wieprzowina-kot), jednak bez współwystępującej alergii na albuminę surowicy psa [19].

4. **Can f 4** – lipokalina, o masie 16-18kDa, około 30% pacjentów uczulonych na psa posiada IgE skierowane przeciwko Can f 4 [20]. Istnieje relatywnie mniej badań nad tą molekułą ze względu na to, że do tej pory nie jest ona dostępna komercyjnie jako składnik testów mikro-oznaczeń czy ImmunoCap. W 2010 roku Mattsson i wsp. wyizolowali, sklonowali i opisali Can f 4. Stwierdzili oni reakcje krzyżowe między asIgE skierowanemu przeciwko Can f 4 i białku wiążącemu zapach bydła, o masie 23kDa (ang. *odorant-binding protein*). Badali oni surowice 37 pacjentów uczulonych na psa i stwierdzili, że w tej grupie u 49% występuje IgE wiążące Can f 1, 22% Can f 2, 16% Can f 3, 35% Can f 4 i 70% Can f 5 [21]. W nowszych badaniach z 2015 roku stwierdzono, że Can f 4 powinno być uznane za alergen główny, obok Can f 1 i Can f 5. Autorzy pracy zwrócili także uwagę na fakt, że struktura Can f 4 jest bardzo wrażliwa na denaturację, pod wpływem której traci immunogenność. Może mieć to wpływ na wyniki badań populacyjnych [22].
5. **Can f 5** – kalikreina gruczołu krokowego, zwana także esterazą argininową (ang. *prostatic kallikrein*) – białko o masie 28 kDa, które znaleźć można w moczu i sierści psa [21]. Podobnie jak swoisty antygen sterczowy (PSA) u człowieka, wydzielana jest w gruczole krokowym pod wpływem androgenów. Sugeruje to, że w przypadku alergii na Can f 5 objawy mogą pojawiać się wyłącznie po kontakcie ze zwierzętami płci męskiej. Dowiedziono, że kastracja drastycznie zmniejsza stężenie Can f 5 w moczu i sierści psa [23]. Ze względu na to, że w niektórych rejonach kastracja psów jest bardzo powszechna, a w innych rzadko spotykana profil uczuleniowy pacjentów może się znacząco różnić w poszczególnych populacjach. Can f 5 stanowi alergen główny, wiążąc asIgE u 70% pacjentów uczulonych na psa. 30% pacjentów uczulonych jest wyłącznie na Can f 5 i w tej grupie chorych spodziewamy się znaczących różnic w występowaniu objawów klinicznych po kontakcie z samcami i samicami psów [21]. Can f 5 ma budowę podobną do ludzkiego PSA (sekwencja aminokwasów taka sama w 55-60%). Może to wyjaśniać pochodzenie reakcji IgE-zależnych po kontakcie z nasieniem w trakcie stosunku seksualnego u kobiet uczulonych na sierść psa [24]. Istnieją nawet przypuszczenia, że w tej grupie chorych trudności z zajściem w ciążę mogą być wynikiem uczulenia na Can f 5 [21].
6. **Can f 6** – lipokalina, ok. 20kDa, alergen scharakteryzowany w 2012 roku przez Nilsson i wsp. Przebadano 100 surowic pacjentów uczulonych na psa i stwierdzono, że w tej grupie obecność asIgE przeciwko Can f 6 występuje u 38% pacjentów. Lipokalina ta jest homologiczna do lipokaliny Equ c 1 (alergen sierści konia) i Fel d 4 (alergen sierści kota), wobec czego można się spodziewać alergii krzyżowej z tymi białkami. 73,8% pacjentów uczulonych na Can f 6 było jednocześnie uczulonych na Equ c 1 i Fel

d 4. Alergię krzyżową potwierdzono w teście hamowania ELISA. Autorzy zademonstrowali kliniczną istotność Can f 6 za pomocą testu aktywacji bazofili (ang. *basophil activation test*, BAT) u 2 pacjentów. Warto podkreślić, że Can f 1, 2 and 4, mimo że także są lipokaliny, mają sekwencję aminokwasów znacząco różniącą się od Equ c 1 i Fel d 4, co może wyjaśniać brak istotnej alergii krzyżowej między tymi molekułami [25].

7. **Can f 7** – białko wydzielane przez najądrza (ang. Epididymal Secretory Protein E1, Niemann Pick type C2 protein) o masie 16 kDa, alergen mniejszy [20].

Alergeny kota

Alergeny kota (łac. *Felis domesticus*) są niezwykle istotne z punktu widzenia alergologów. Szeroko rozpowszechnione w naszym środowisku, podobnie jak alergeny psa, mogą być stwierdzone w domach i przestrzeni publicznej, w której nie znajdują się koty. Łatwo przenoszone na ubraaniu, rozprzestrzeniają się w szkołach, komunikacji miejskiej i innych miejscach pozornie bezpiecznych dla alergika. Tradycyjnie uznaje się ekspozycję na alergeny kota za istotny czynnik mogący wywoływać napady astmy oskrzelowej, zwłaszcza u dzieci. Co więcej stwierdzono, że u dzieci, u których występują dodatnie testy skórne z alergenami kota istnieje większe ryzyko ciężkiego przebiegu astmy oskrzelowej [26,27]. Temat ten jest co prawda kontrowersyjny, a badania są trudne do przeprowadzenia w rzetelny sposób ze względu na znaczne różnice w poszczególnych populacjach, a także różnice w stylu życia osób posiadających zwierzęta domowe i tych, którzy takich zwierząt nie posiadają.

Pacjenci uczuleni na kota reagują także z alergenami innych zwierząt z rodziny kotowatych (łac. *Felidae*), takich jak ocelot, puma, serwal, tygrys syberyjski, lew, jaguar, lampart [28]. Pacjenci uczuleni na kota często także wykazują objawy alergii po kontakcie z innymi zwierzętami futerkowymi, takimi jak pies, koń, gryzonie. Źródłem alergenów jest naskórek, sierść, gruczoły ślinowe, łzowe, łojowe i około odbytne [29]. Sierść kota może być także źródłem alergenów innych niż pochodzenia kociego – roztoczy kurzu domowego a także kocich pasożytów, takich jak pchły (łac. *Ctenocephalides felis*) [30]. Częstość uczuleń na alergeny kota różni się znacząco w poszczególnych populacjach. W polskich badaniach epidemiologicznych ECAP (Epidemiologia Chorób Alergicznych w Polsce) przeprowadzonych na grupie 22700 osób w latach 2006-2008 stwierdzono, że 12,8% ankietowanych podaje subiektywne objawy kliniczne po kontakcie z kotem, natomiast dodatnie testy skórne stwierdza się u 3,7% badanych osób [31]. Znaczne różnice dotyczą także stężeń alergenów kota w przestrzeniach mieszkalnych. Ogólnie w chłodniejszym klimacie koty spędzają więcej czasu wewnątrz pomieszczeń, co w efekcie sprzyja wyższym stężeniom alergenów [32]. Często pacjenci pytają o możliwość obniżenia stężenia alergenów kota w domu. Pomocne może okazać się regularne sprzątanie, pranie ubrań i pościeli, unikanie dywanów. Jednak najefektywniejszą metodą redukcji stężenia alergenów jest zawsze usunięcie kota z domu w którym mieszka osoba uczulona [33].

Nie wszystkie koty są takimi samymi producentami alergenów. Generalnie uznaje się, że samice są mniejszymi producentami alergenów niż samce, kastracja zmniejsza wydzielanie alergenów, a kocięta i młode koty wydzielają mniej alergenów niż starsze zwierzęta [34].

W sierści i surowicy kota znajduje się kilkanaście białek o potencjalnie uczulającym charakterze. Wśród nich dobrze scharakteryzowano kilka o znacznej istotności klinicznej:

- Fel d 1** – sekretoglobina, globulina wydzielnicza, białko podobne do uteroglobuliny, o masie 38kDa, składająca się z 2 podjednostek o masie ok 19kDa. Aż 80-90% pacjentów uczulonych na kota posiada asIgE skierowane przeciwko Fel d 1 [2]. Można stwierdzić obecność Fel d 1 w kocich włosach, sierści i ślinie. Wydzielana jest przez gruczoły łojowe, około odbytnicze, ślinowe i komórki podstawne nabłonka. W przypadku analizy pojedynczego włosa zawsze wyższe stężenie Fel d 1 można zaobserwować bliżej cebulki [35]. Wyższe stężenia Fel d 1 można znaleźć w okolicy kociego pyszczka, niższe na skórze klatki piersiowej. Mycie kota zmniejsza stężenie Fel d 1, jednak w przeciągu 2 dni poziom alergenu wraca do normy [36]. Produkcja alergenu ulega kontroli hormonalnej, wyższe stężenia notowane są u samców, kastracja zaś istotnie zmniejsza wydzielanie alergenu. Co ciekawe, podawanie testosteronu w iniekcjach kotom, u których przeprowadzono kastrację powoduje ponowny wzrost wydzielania Fel d 1 [34]. Długość kocich włosów oraz kolor zwierzaka nie ma wpływu na ilość Fel d 1, które stwierdzono w próbkach kurzu domowego [37]. Fel d 1 w organizmie kota pełni prawdopodobnie funkcję ochronną, poprzez lizanie sierści koty rozpraszają to białko po swojej skórze i sierści. Warto podkreślić, że fakt, że alergen główny kota nie jest lipokalina, lecz globuliną wydzielniczą jest rzadki wśród alergenów ssaków.
- Fel d 2** – albumina surowicy kota, białko o masie 69kDa, 4-23% pacjentów uczulonych na kota wykazuje obecność asIgE skierowanego przeciwko temu białku [20]. Jest to białko ciekawe ze względu na fakt, że odpowiada za występowanie zespołu wieprzowina-kot, gdzie uczulenie na kota jest pierwotne, a nadwrażliwość na wieprzowinę wynika z alergii krzyżowej. Niekiedy u pacjentów uczulonych na Fel d 2 obserwuje się poważne reakcje anafilaktyczne po spożyciu wieprzowiny, zwłaszcza w obecności dodatkowych bodźców, takich jak wysiłek fizyczny. Obserwuje się także alergię zawodową na wieprzowinę u osób uczulonych na kota [38]. Pomimo znacznej homologii sekwencji aminokwasów albuminy różnych gatunków ssaków, istnieje duża zmienność w nadwrażliwości chorych na poszczególne albuminy. Część chorych wykazuje alergię krzyżową między albuminą surowicy kota np. psa i konia, jednak duża grupa pacjentów reaguje tylko z konkretną albuminą. W dużej grupie przypadków współwystępuje alergia na inne białka pochodzenia zwierzęcego, takie jak lipokalina [39].
- Fel d 3** – cystatyna, białko o masie 11 kDa, alergen mniejszy, wiąże asIgE około 10% pacjentów uczulonych na kota. Jest to białko z rodziny inhibitorów proteazy cysteinowej i zostało opisane i sklonowane w 2001 roku przez Ichikawa i wsp. [20,40].
- Fel d 4** – lipokalina o masie 22kDa [20]. W 2004 roku Smith i wsp. przedstawili badanie, które dowodzi, że Fel d 4 ma dużą istotność kliniczną, gdyż 62,96% badanych przez nich chorych posiada asIgE skierowane przeciwko temu białku. Jednak warto podkreślić, że stężenie asIgE było relatywnie niskie w stosunku do stężenia asIgE skierowanego przeciwko Fel d 1. Co ciekawe, Fel d 4 wydzielane jest wyłącznie przez śliniankę podżuchwową kota (co potwierdzono badając obecność RNA lipokaliny w próbkach pobranych z różnych tkanek). W przypadku innych ssaków lipokalina obecna jest w moczu, łzach, ślinie, surowicy i sierści. Lipokaliny ssaków mają zwykle homologię sekwencji w granicach 20%, natomiast ze względu na zachowaną podobną budowę trzeciorzędową alergii krzyżowa jest możliwa. Fel d 4 posiada znaczną homologię sekwencji aminokwasów do Equ c 1 (lipokalina konia), natomiast struktura białka jest zbliżona do struktury lipokaliny innych ssaków (szczur, koń, świnia). Alergia krzyżowa między lipokalina psa i kota występuje tylko w niewielkim zakresie [41].
- Fel d 5** – immunoglobulina A, białko o masie 400 kDa, alergen mniejszy [20]. Adéodoyin i wsp. opublikowali w 2007 roku ciekawe badanie, które wykazało, że 31 z grupy 81 pacjentów uczulonych na kota wykazuje obecność asIgE skierowanego przeciwko IgA kota (38%). Wykazano także silną korelację między wiązaniem IgE z kocim IgA i IgM ($r = 0.94$; $P < .001$). Deglikozylowane IgA wiązało asIgE bardzo słabo, wskazując na obecność na IgA węglowodanowego epitopu wykazującego alergię krzyżową z IgM kota [42]. Niezwykle ciekawą pracę opublikowano w 2011 roku. Poszukiwano związku pomiędzy alergią i obecnością chorób pasożytniczych u mieszkańców środkowej Afryki. Autorzy udowodnili, że węglowodanowym epitopem znajdującym się na IgA jest w istocie α -Gal – galaktoza- α 1,3-galaktozy (ang. *galactose- α 1,3-galactose*). Ogólnie obecność asIgE skierowanego przeciwko α -Gal może być przyczyną reakcji alergicznych po spożyciu czerwonego mięsa. Autorzy wnioskowali, że pacjenci u których stwierdzono obecność chorób pasożytniczych, a którzy nie byli uczuleni na kota mogą, ze względu na alergię krzyżową z α -Gal (obecnego też w tkankach pasożytów), wykazywać obecność asIgE reagującego z Fel d 5. W badanej grupie 47 pacjentów z chorobami pasożytniczymi u 40 (85%) stwierdzono obecność asIgE swoistego dla α -Gal, a u 31 (66%) asIgE swoistego dla Fel d 5. Dla porównania w grupie 31 osób, u których nie stwierdzono chorób pasożytniczych, natomiast które miały potwierdzoną alergię na kota stwierdzono obecność IgE swoistego dla Fel d 1 w 23 przypadkach, Fel d 5 w 2, α -Gal w 2, natomiast 3 pacjentów wykazywało jednocześnie obecność asIgE skierowanego przeciwko Fel d 5 i α -Gal. Na podstawie tych wyników autorzy wyciągnęli wniosek, że uczulenie na Fel d 5 nie jest dobrym markerem alergii na kota – wpływ innych czynników, które mogą być źródłem nadwrażliwości na α -Gal jest zbyt duży [43]. W badaniach prowadzonych w Danii i Hiszpanii przebadano odpowiednio 2297 i 444 dorosłych i stwierdzono, że ogólna częstość występowania u tych osób asIgE skierowanego przeciwko α -Gal wynosi 5,5% i 8,1%. Podkreślono, że istnieje korelacja między występowaniem asIgE anty- α -Gal i atopią, posiadaniem kota i ukąszeniem przez kleszcza, jednak nie ma korelacji między obecnością dodatnich testów skórnych z alergenami kota i obecnością asIgE skierowanego przeciwko α -Gal [44].
- Fel d 6** – immunoglobulina M, o masie 800-1000 kDa [20], reaguje krzyżowo z Fel d 5, prawdopodobnie w związku z obecnością wspólnego węglowodanowego epitopu [42].
- Fel d 7** – białko produkowane przez gruczoły von Ebnera, o masie 17,5 kDa, opisane w 2011 roku przez Smith i wsp. Białko otrzymano poprzez izolację cDNA z tylnej części języka. Stwierdzono, że sekwencja aminokwasów jest podobna do lipokaliny innych ssaków, w przypadku

alergenu głównego psa, Can f 1 homologia wynosi 63% i może wiązać IgE swoiste dla Can f 1 w 52-75% przypadków [45].

8. **Fel d 8** – ang. *latherin-like protein*, białko surfaktantu o masie 24 kDa [20], wykryte również w pocie i ślinie konia [46]. U kota wyizolowane ze ślinianki zuchwowej, o podobnej sekwencji aminokwasów do alergenów głównych konia Equ c 4 i Equ c 5 [45].

Diagnostyka molekularna alergii na zwierzęta

Standardy diagnostyki uczuleń na alergeny psa i kota pozostają niezmiennie od lat. Podstawą diagnostyki jest zawsze szczegółowy wywiad chorobowy i samoobserwacja objawów po kontakcie ze zwierzęciem, często szczegółowo przedstawiana przez pacjenta już na pierwszej wizycie. Bardzo ważnym narzędziem diagnostycznym są testy skórne punktowe z zastosowaniem komercyjnie dostępnych wyciągów alergenowych psa i kota. Szeroko stosowane, zwłaszcza w przypadku przeciwwskazań do wykonania testów skórnych, jest badanie alergenowo swoistego IgE skierowanego przeciwko alergenom psa i kota. U osób, u których podejrzewamy astmę oskrzelową należy wykonać badanie spirometryczne. Zwykle takie postępowanie jest wystarczające w diagnostyce uczuleń na psa i kota. Ale czy zawsze?

Diagnostyka oparta o komponenty alergenowe (ang. *component resolved diagnosis*, CRD) z pewnością jest przełomem w alergologii. Umożliwia dokładną ocenę i analizę profilu uczuleń u pacjenta. Docelowo ma to prowadzić do kompleksowego i zindywidualizowanego podejścia terapeutycznego. Niestety metoda ta posiada kilka istotnych wad. Na pewno znaczącym ograniczeniem jest jej koszt, niska dostępność (tylko nieliczne ośrodki wykonują oznaczenia), a także fakt, że obecnie istnieje możliwość wykonania oznaczeń tylko kilku komponent alergenowych zwierząt, wobec czego wynik ujemny nie wyklucza alergii.

Powyżej wymieniono wyizolowane do tej pory komponenty alergenowe psa i kota. Każda z tych molekuł ma swoją charakterystykę, która sprawia, że różni się ona od pozostałych. Analiza profilu uczuleniowego pacjenta ma z pewnością ważny aspekt poznawczy. Jednak w jaki sposób wiedza o obecności asIgE skierowanego przeciwko konkretnym komponentom alergenowym może zostać wykorzystana w praktyce klinicznej?

Nie wszystkie znane komponenty alergenowe są dostępne komercyjnie. Spośród alergenów kota dostępne są Fel d 1, Fel d 2, Fel d 4, spośród alergenów psa Can f 1, Can f 2, Can f 3 i Can f 5. Komponenty te można wykorzystać do

ilościowego oznaczenia stężenia asIgE w surowicy krwi wysokoczułą metodą immunofluorescencyjną opartą o antygeny związane za pomocą fazy stałej (ImmunoCap). Innym sposobem oceny poziomu przeciwciał IgE skierowanych przeciwko alergenom zwierząt jest półilościowy test mikrooznaczeń ImmunoCap ISAC, który pozwala na oznaczenie poziomu wymienionych wyżej 7 komponent psa i kota, wraz z łącznie 112 komponentami z 51 źródeł alergenowych [47].

Zestawienie komponent alergenowych psa i kota znajduje się w tabeli I.

Otrzymując wynik oznaczonych komponent alergenowych u danego pacjenta najważniejsza jest jego właściwa interpretacja i odpowiedź na pytanie „Jak tę wiedzę wykorzystać w praktyce?”. Istnieje duża grupa pacjentów u których występują uczulenie wyłącznie na jedną, konkretną komponentę alergenową. Niestety u wielu chorych występuje jednoczesne uczulenie na kilka komponent wywodzących się z różnych rodzin białkowych. Analizując profil uczuleniowy pacjenta w oparciu o komponenty alergenowe niezbędne jest skupienie się nie na źródle z którego wywodzi się dany alergen (sierść psa lub kota), ale na określonej rodzinie białek, posiadającej unikalne właściwości.

Lipokaliny – najważniejsza rodzina alergenów wzwiewnych ssaków. Należą do nich alergeny główne psa (Can f 1-2), bydła (Bos d 2), konia (Equ c 1), szczura (Rat n 1), myszy (Mus m 1), świnki morskiej (Cav p 1), królika (Ory c 1), czy chomika (Pho s 21) [48,49]. Lipokaliny mogą reagować ze sobą krzyżowo, lecz nie muszą. Sekwencja aminokwasów i budowa tych białek niejednokrotnie znacząco różni się międzygatunkowo. Znaczna homologia dotycząca budowy i w efekcie reakcji krzyżowych dotyczy **Fel d 4**, Can f 6, Equ c 1, Ory c 4, Mus m 1 and Rat n 1 [49,50].

Albuminy – bardzo rozpowszechnione w surowicy ssaków, o niezwykle ważnej funkcji biologicznej. Budowa albuminy surowiczej ssaków jest zbliżona, co umożliwia występowanie alergii krzyżowej. Mimo to jako alergen zwykle o niewielkim znaczeniu, jednak odpowiedzialne niejednokrotnie za nietypowy przebieg alergii na psa i kota [49]. Dobrym przykładem jest wspomniany wyżej zespół wierzowina-kot, gdzie alergen wzwiewny był pierwotnym źródłem nadwrażliwości, prowadzącym w efekcie do alergii pokarmowej. W 2003 roku opisano bardzo ciekawy przypadek 33-letniej pacjentki leczonej z powodu bezpłodności. Pacjentka była uczulona na alergeny kota i pyłki roślinne. W trakcie zabiegu inseminacji domacicznej (2 próba) u pacjentki wystąpiła pokrzywka na skórze całego ciała, świąd, ból brzucha, nudności i wymioty oraz duszność. Nasienie męża chorej przed zabiegiem inseminacji zostało podda-

Tabela I. Komercyjnie dostępne komponenty alergenowe – zestawienie. Zaznaczono komponenty w chwili obecnej dostępne komercyjnie

Rodzina białek	Komponenty psa	Komponenty kota
Lipokaliny	Can f 1, Can f 2, Can f 4, Can f 6	Fel d 4, Fel d 7
Albuminy	Can f 3	Fel d 2
Sekretoglobina		Fel d 1
alfa-Gal		Fel d 5, Fel d 6
Kalitreina	Can f 5	
Cystatyna		Fel d 3

ne działaniu standardowego płynu INRA B 2 (Laboratoires CCD, Paryż, Francja), w którego skład wchodzi aminokwasy, tłuszcze, witaminy, BSA, penicylina i streptomycyna w roztworze soli nieorganicznych. U chorej wykonano testy skórne z INRA B 2 oraz z BSA, które były dodatnie. Uczulenie na BSA potwierdzono także w teście aktywacji bazoofilii [51].

Sekretoglobina – alergen główny kota, Fel d 1. Jest to białko silnie uczulające, jednak jako alergen wziewny relatywnie rzadko spotykane wśród ssaków. W 2014 roku Hilger i wsp. wyizolowali alergen główny królika Ory c 3, będący sekretoglobina. 77% pacjentów uczulonych na królika posiada aslgE skierowane przeciwko temu białku. Jednak sekwencja aminokwasów w przypadku Fel d 1 i Ory c 3 jest homologiczna tylko w 24% [52]. Na tej podstawie można wnioskować, że ryzyko alergii krzyżowej z alergenem głównym królika u osób uczulonych na kota jest relatywnie niskie.

Kalikreina – jest niezwykle ciekawym alergenem psa (Can f 5), wydzielanym przez gruczoł krokowy pod wpływem androgenów. Odpowiedzialna za uczulenie na psy płci męskiej, natomiast kastracja zmniejsza stężenie tego alergenu. Ze względu na podobieństwo w budowie do ludzkie-

go PSA może być odpowiedzialny za niepłodność u kobiet uczulonych na alergeny psa (reakcja alergiczna na nasienie) [21,23,24].

Z powyższej analizy można wysnuć wniosek, że ogólnie pacjenci uczuleni na alergeny psa mają większą skłonność do równoczesnego uczulenia na inne zwierzęta futerkowe niż chorzy uczuleni na alergeny kota. Analiza występowania komponent alergenowych zwierząt u konkretnego pacjenta może pomóc w odpowiedzi na często zadawane przez pacjentów pytania o to, czy rozwinie się u nich alergia na inne zwierzęta futerkowe, takie jak królik czy koń [49].

Podsumowanie

Alergia na zwierzęta futerkowe jest dużym problemem klinicznym. Analiza molekularna profilu uczuleniowego chorych może pomóc w identyfikacji pacjentów, u których istnieje duże ryzyko alergii krzyżowej z antygenami ssaków innych gatunków. Nie wszystkie poznane komponenty alergenowe psa i kota są obecnie dostępne komercyjnie, jednak te, które mamy do dyspozycji dają możliwość szczegółowej analizy alergii u chorego i odpowiedzi na pytania, na które konwencjonalna diagnostyka nie dawała odpowiedzi.

Piśmiennictwo

- Uhlen T, Reuterby J, Einarsson R. Antigenic/allergenic composition of poodle/alsation dandruff extract. *Allergy* 1984; 39: 125-33.
- De Groot H, Goei KGH, van Swieten P, Aalberse RC. Affinity purification of a major and a minor allergen from dog extract: serologic activity of affinity-purified Can f I and of Can f I-depleted extract. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 1056-65.
- Custis NJ, Woodfolk JA, Vaughan JW, Platts-Mills TA. Quantitative measurement of airborne allergens from dust mites, dogs, and cats using an ion-charging device. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 986-91.
- Custovic A, Green R, Fletcher A i wsp. Aerodynamic properties of the major dog allergen Can f 1: distribution in homes, concentration, and particle size of allergen in the air. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 94-8.
- Hodson T, Custovic A, Simpson A i wsp. Washing the dog reduces dog allergen levels, but the dog needs to be washed twice a week. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 581-5.
- Custovic A, Fletcher A, Pickering CA i wsp. Domestic allergens in public places III: house dust mite, cat, dog and cockroach allergens in British hospitals. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 53-9.
- Partti-Pellinen K, Marttila O, Makinen-Kiljunen S, Haahtela T. Occurrence of dog, cat, and mite allergens in public transport vehicles. *Allergy* 2000; 55: 65-8.
- Ford AW, Kemeny DM. The allergens of dog. II. Identification and partial purification of a major dander allergen. *Clin Exp Allergy* 1992; 22: 793-803.
- Ramadour M, Guetat M, Guetat J i wsp. Dog factor differences in Can f 1 allergen production. *Allergy* 2005; 60: 1060-4.
- Vredegoor DW, Willemsse T, Chapman MD i wsp. Can f 1 levels in hair and homes of different dog breeds: lack of evidence to describe any dog breed as hypoallergenic. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 904-9.e7.
- Kamata Y, Miyanomae A, Nakayama E i wsp. Characterization of dog allergens Can f 1 and Can f 2. 1. Preparation of their recombinant proteins and antibodies. *Int Arch Allergy Immunol* 2007; 142: 291-300.
- Saarelainen S, Taivainen A, Rytkonen-Nissinen M i wsp. Assessment of recombinant dog allergens Can f 1 and Can f 2 for the diagnosis of dog allergy. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1576-82.
- Kamata Y, Miyanomae A, Nakayama E i wsp. Characterization of dog allergens Can f 1 and Can f 2. 2. A comparison of Can f 1 with Can f 2 regarding their biochemical and immunological properties. *Int Arch Allergy Immunol* 2007; 142: 301-8.
- <http://www.phadia.com/fr/5/Produits/ImmunoCAP-Allergens/Epidermals-and-Animal-Proteins/Allergen-Components/rCan-f-5-Dog-plus-rCan-123/>
- Spitzauer S, Schweiger C, Sperr WR i wsp. Molecular characterization of dog albumin as a cross-reactive allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 614-27.
- Hentges F. Allergie aux rongeurs. *Rev Fr Allergol* 2012; 52: 242-5.
- San-Juan S, Lezaun A, Caballero ML, Moneo I. Occupational allergy to raw beef due to cross-reactivity with dog epithelium. *Allergy* 2005; 60: 839-40.
- Vicente-Serrano J, Caballero ML, Rodríguez-Pérez R i wsp. Sensitization to serum albumins in children allergic to cow's milk and epithelia. *Pediatr Allergy Immunol* 2007; 18: 503-7.
- Donnay C, Barderas R, Kopferschmitt-Kubler MC i wsp. Sensitization to pig albumin and gamma-globulin responsible for occupational respiratory. *Allergy* 2006; 61: 143-4.
- The Systematic Allergen Nomenclature, approved by the World Health Organization and International Union of Immunological Societies (WHO/IUIS) Allergen Nomenclature Sub-committee, <http://allergen.org>
- Mattsson L, Lundgren T, Olsson P i wsp. Molecular and immunological characterization of Can f 4: a dog dander allergen cross-reactive with a 23 kDa odorant-binding protein in cow dander. *Clin Exp Allergy* 2010; 40: 1276-87.
- Rytkonen-Nissinen M, Saarelainen S, Randell J i wsp. IgE Reactivity of the Dog Lipocalin Allergen Can f 4 and the Development of a Sandwich ELISA for Its Quantification. *Allergy Asthma Immunol Res* 2015; 7: 384-92.
- Chapelaine P, Potvin C, Ho-Kim MA i wsp. Androgen regulation of canine prostatic arginine esterase mRNA using cloned cDNA. *Mol Cell Endocrinol* 1988; 56: 63-70.
- Basagana M, Bartolome B, Pastor C i wsp. Allergy to human seminal fluid: cross-reactivity with dog dander. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 233-9.

25. Nilsson OB, Binmyr J, Zoltowska A i wsp. Characterization of the dog lipocalin allergen Can f 6: the role in cross-reactivity with cat and horse. *Allergy* 2012; 67: 751-7.
26. Pyrhönen K, Näyhä S, Läärä E. Dog and cat exposure and respective pet allergy in early childhood. *Pediatr Allergy Immunol* 2015; 26: 247-5.
27. Sarpong SB, Karrison T. Skin test reactivity to indoor allergens as a marker of asthma severity in children with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998; 80: 303-8.
28. de Groot H, van Swieten P, Aalberse RC. Evidence for a Fel d I-like molecule in the "big cats" (Felidae species). *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86: 107-16.
29. De Andrade AD, Birnbaum J, Magalon C i wsp. Fel d I levels in cat anal glands. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 178-80.
30. Baldo BA. Allergenicity of the cat flea. *Clin Exp Allergy* 1993; 23: 347-9.
31. http://ecap.pl/pdf/ECAP_wyniki_pl.pdf
32. Warner AM, Björkstén B, Munir AKM i wsp. Childhood asthma and exposure to indoor allergens: low mite levels are associated with sensitivity. *Pediatr Allergy Immunol* 1996; 7: 61-7.
33. Avner DB, Perzanowski MS, Platts-Mills TAE, Woodfolk JA. Evaluation of different techniques for washing cats: Quantitation of allergen removed from the cat and the effect on airborne Fel d 1. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 307-12.
34. Zielonka T, Charpin D, Ansaldi JL i wsp. Effects of castration and testosterone on Fel d 1 production by sebaceous glands of male cats. I. Immunologic assessment. *Clin Exp Allergy* 1994; 12: 1169-73.
35. Mata P, Charpin D, Charpin C i wsp. Fel d I allergen: skin and or saliva? *Ann Allergy* 1992; 69: 321-2.
36. Charpin C, Mata P, Charpin D i wsp. Fel d I allergen distribution in cat fur and skin. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88: 77-82.
37. Siebers R, Holt S, Peters S i wsp. Fel d 1 levels in domestic living rooms are not related to cat color or hair length. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 652-3.
38. Alvarez-Perea A, Caralli ME, Zubeldia JM, Baeza ML. Pork-cat syndrome as a cause of occupational asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2014; 24: 209-11.
39. Spitzauer S, Pandjaitan B, Soregi G i wsp. IgE cross-reactivities against albumins in patients allergic to animals. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 951-9.
40. Ichikawa K, Vailes LD, Pomés A, Chapman MD. Molecular cloning, expression and modelling of cat allergen, cystatin (Fel d 3), a cysteine protease inhibitor. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 1279-86.
41. Smith W, Butler AJ, Hazell LA i wsp. Fel d 4, a cat lipocalin allergen. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1732-8.
42. Adédoyin J, Grönlund H, Oman H i wsp. Cat IgA, representative of new carbohydrate cross-reactive allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 640-5.
43. Arkestål K, Sibanda E, Thors C i wsp. Impaired allergy diagnostics among parasite-infected patients caused by IgE antibodies to the carbohydrate epitope galactose- α 1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 1024-8.
44. Gonzalez-Quintela A, Dam Laursen AS, Vidal C i wsp. IgE antibodies to alpha-gal in the general adult population: relationship with tick bites, atopy, and cat ownership. *Clin Exp Allergy* 2014; 44: 1061-8.
45. Smith W, O'Neil SE, Hales BJ i wsp. Two newly identified cat allergens: the von Ebner gland protein Fel d 7 and the latherin-like protein Fel d 8. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 156: 159-70.
46. Vance SJ, McDonald RE, Cooper A i wsp. The structure of latherin, a surfactant allergen protein from horse sweat and saliva. *J R Soc Interface* 2013; 10: 20130453.
47. <http://www.phadia.com/en/Products/Allergy-testing-products/ImmunoCAP-Allergen-Information/>
48. Konradsen JR, Fujisawa T, van Hage M i wsp. Allergy to furry animals: New insights, diagnostic approaches, and challenges. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135: 616-25.
49. Liccardi G, Bilò MB, Manzi F i wsp. What could be the role of molecular-based allergy diagnostics in detecting the risk of developing allergic sensitization to furry animals? *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2015; 47: 163-7.
50. Hentges F, Leonard C, Arumugan K, Hilger C. Immune response to mammalian allergens. *Front Immunol* 2014; 5: 234.
51. Orta M, Ordoqui E, Aranzábal A i wsp. Anaphylactic reaction after artificial insemination. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003; 90: 446-51.
52. Hilger C, Kler S, Arumugam K i wsp. Identification and isolation of a Fel d 1-like molecule as a major rabbit allergen. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 133: 759-66.