

## Hírlevél 2016. július

Tisztelt kollégák!

A Laboratóriumi Medicina Intézet aktuális hírlevele a molekuláris allergia vizsgálatot, a szérumban angiotenzin konvertáz mérésének jelentőségét és a hiponatrémia kivizsgálási szempontjait mutatja be. Kellemes böngészést kívánunk!

dr. Papp Enikő szerkesztő

**dr. Szabó Tamás**

szaklektor dr. Belezna Zsuzsa részlegvezető

### **A molekuláris (vagy komponens-alapú) allergia vizsgálatok jelentősége az allergén specifikus IgE hagyományos kimutatási eljárásaihoz képest**

A szűkebb értelemben vett allergiás reakció hátterében az I. típusú túlérzékenység áll, melynek patomechanizmusában központi szerepet játszanak az allergénhez kötődni képes IgE osztályú immunglobulinok. Ezt használják ki az allergiás megbetegedések diagnosztikájában, amikor a szérumban található IgE molekulák jelenléte alapján igyekszünk kimutatni, hogy a betegekben várhatóan mely allergének válthatják ki a reakciót. Amennyiben egy adott allergénre specifikus IgE jelenlétét sikerül kimutatni, az indirekt módon utal a betegség kiváltó okára. Így ki lehet iktatni a kóroki tényezőt a beteg környezetéből. Újabban egyre több allergén képezheti deszenzitizációs terápia célpontját is.

Gondot okozhat azonban az, ha a beteg vérében keringő IgE molekulák több különböző allergénnel is reakciót mutatnak. A deszenzitizációs terápia várható hatékonyságát ugyanis jelentősen befolyásolja, hogy a beteg immunrendszere milyen mértékben elkötelezett az immunglobulinok IgE irányú fejlődése felé. A specifikus IgE vizsgálat során több allergén esetében is pozitív reaktivitást produkáló, poliszzenitizált betegek esetében pedig felmerül egy ilyen, a deszenzitizációs terápiát is megnehezítő elköteleződés lehetősége. Egészen más az eredmény megítélése viszont akkor, ha a polireaktivitást ugyanannak az IgE molekulának a keresztreakciója okozza az allergének valamely közös összetevőjével.

Az allergének ugyanis összetett felépítésűek, több alegységből (peptid láncból) állnak és ezeken az alegységeken is több antitest-kötőhely (epitóp) található. Ezek közül az epitópok közül néhány megtalálható más allergéneken is, ami aztán a keresztreaktivitás alapját képezi. Ilyen keresztreakció lehet például a méh és a darázs mérge között (egy hasonló szénhidrát oldallánc miatt), melynek kimutatását laboratóriumunk is végzi immunoblot módszerrel. Ennek a vizsgálatnak az eredménye pedig az eddigi tapasztalatok alapján segítheti a

deszenzitizációs terápia megválasztását. Számos további olyan allergén komponens ismert, melyekkel szemben kimutatható reaktivitás a deszenzitizáció indokoltását is befolyásolja a jelenlegi protokollok szerint. Támogatja például a deszenzitizációs terápia indikációját a Der p 1/2 komponens jelenléte poratka allergiában, vagy a Bet v 1 elleni reaktivitás nyírfapollen allergiában. A nyírfapollen kivonatra adott pozitív bőrtesztet viszont hiába magyarázza a Bet v 2 vagy a Bet v 4 jelenléte, ezek nem támogatják a deszenzitizációs terápia indikációját.

Az ételallergiák közül a legtöbb bizonyíték a mogyoró, a tej és a tojás esetében gyűlt össze arra vonatkozóan, hogy a komponens-alapú diagnosztikának klinikai haszna van. A Bet v 1 komponenssel homológ szerkezetű a mogyoró Ara h 8 és a földimogyoró Cor a 1 allergén komponense, melyeknek elsősorban prognosztikai jelentősége van: ha ez adta a specifikus IgE reakció pozitívítását, akkor csak mérsékelt tünetek várhatók. Az Ara h 2 vagy a Cor a 9 példának okáért komoly kockázatot jelent viszont a súlyos anafilaxiás reakciókra nézve. A tej és a tojás esetében a komponens alapú diagnosztika arra vonatkozóan is iránymutatást tud adni, hogy a denaturált származékok fogyasztása várhatóan mennyire tolerálható a beteg számára.

Ez a néhány, a teljesség igénye nélkül bemutatott adat is jól illusztrálja, hogy – jóllehet ma még kevés igazán meggyőző bizonyíték gyűlt össze, mely közvetlen hasznukat kimutatta volna – az allergének molekuláris, komponens-szintű diagnosztikája (component-resolved diagnosis, CRD) hatalmas lehetőségeket rejt magában, ami hamarosan be fog épülni a mindennapi klinikai gyakorlatba. A laboratóriumban ezek az ismert jelentőséggel bíró epitópok két alapvetően eltérő stratégia mentén vizsgálhatók. A nagy áteresztőképességű, tipikusan microarray alapú módszerek nagymennyiségű allergénre és azok epitópjaira nézve egyszerre képesek meghatározni a beteg reaktivitási mintázatát. Ebből a rengeteg adatból aztán nagyon sok hasznos és klinikailag releváns információ kinyerhető, ám az eredmény egyes részletei ma még nehezen interpretálhatóak.

A másik stratégia a hagyományos, specifikus IgE vizsgálatok eredményére támaszkodva indul el és ezeket a klinikai tünetekkel együtt értékelve néhány konkrét kérdést tesz fel, melyeknek várhatóan lesz is terápiás következménye. Ezekre a jól megfogalmazott, konkrét kérdésekre választ kínál már néhány allergén komponens vizsgálata is egyszerű, szilárd hordozó fázishoz kötött allergéneket használó immunológiai módszerrel. Ennek a kétlépcsős megközelítésnek tipikus gyakorlati megvalósulása, amikor ELISA segítségével, vagy intézetünkben kemilumineszcens módszerrel egy allergén panellel szembeni reaktivitás specifikus IgE szintek kerülnek meghatározásra. Ezt követően a reaktivitást mutató allergének esetében további, komponens alapú meghatározást végzünk blot módszerrel. Újabban felmerült azonban annak is a lehetősége, hogy egyértelmű klinikai tünetek mellett az első lépcső nem feltétlenül szükséges – így például méh- és darázméreg allergia esetén van létjogosultsága a komponens-szintű módszerrel kezdeni a laboratórium kivizsgálást.

A komponens-szintű allergénvizsgálatokban rejlő lehetőségeket felismerve, laboratóriumunk is igyekszik bővíteni eszköztárát a molekuláris allergiavizsgálatok irányában. A jelenlegi lehetőségeket és igényeket figyelembe véve intézetünk az utóbb felvázolt diagnosztikus megközelítést tartja előnyösnek és ennek megfelelően bevezettünk egy, a méh- és darázméreg allergének komponens-szintű vizsgálatára alkalmas immunoblot módszert. A

terület fejlődését látva pedig ennek a vizsgálatnak a bevezetése minden bizonnyal csak az első lépése volt intézetünkben a vizsgálati paletta ilyen irányú bővülésének.

## **Bertalan Tímea**

szaklektor: Molnár-Világos Györgyi részlegvezető

### **A szérumban angiotenzin konvertáló enzim aktivitás meghatározása és klinikai jelentősége**

Az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) az angiotenzin I átalakulását katalizálja angiotenzin II-vé. Az enzim a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer része, mely a só-vízháztartás legfontosabb regulátora és a vérnyomás szabályozásban is fontos szerepet tölt be. Az ACE a tüdő vaszkuláris endothel sejtjeiben, a vese epithel sejtjeiben, a Leydig-sejtjeiben és a központi idegrendszerben termelődik. Az enzim szintje 20 éves korig magasabb, később alacsony szinten stabilizálódik. Emelkedett a szérumban ACE szintje cukorbetegségben, hipertireózisban, alkoholos májkárosodásban, Gaucher kórban, leprában, TBC-ben, berillium és azbeszt mérgezésben, bizonyos gombafertőzésekben és sarcoidosisban.

A sarcoidosis ismeretlen eredetű granulomatózus betegség, amely több szervet érinthet. Elsősorban a tüdőben, a szemben, a bőrben jelentkezik, ritkábban a májat, lépét, szívet, idegrendszert, csontokat és ízületeket is károsíthatja. A granuloma sejtek ACE-t termelnek, a sarcoidosis betegek 50-80%-ában emelkedett a szérumban ACE szintje. Az érték jól korrelál a betegség lefolyásával, így alkalmas a betegség monitorozására. Mivel több betegség esetén is emelkedett lehet a szérumban ACE szint, ezért önállóan nem alkalmas diagnózis felállításra. A betegség prognózisa kedvező. Néhány éven belül a betegség elmúlhat, de olykor maradandó hegesedés léphet fel a tüdőben. Kezelése ACE-gátló szer adásával történik.

A Labormedicina Intézetben szérumban ACE-aktivitást mérünk Beckman Coulter AU 5800-as automatán BÜHLMANN ACE kinetikus teszttel.

A spektrofotometriás ACE aktivitás meghatározás menete:

A szérumban ACE enzim hatására egy szintetikus szubsztrát (FAPGG=N-[3-(2-furil)acrilil]-L-phenilalanil-L-glicil-L-glicin), FAP aminosavra és egy dipeptidre (glicilglicin) bomlik. A szintetikus szubsztrát hidrolízisének kinetikáját az abszorbancia csökkenés követésén keresztül detektáljuk 340 nm-en.

A szérumban ACE referencia érték tartománya: <18 év 29-112 U/L

18-99 év 20-70 U/L

A vizsgálat a KPLAHORM kéréslapon kérhető. Némely pont értéke: 537 Kizárólag natív minta (piros kupakos cső) vétele szükséges. A vizsgálat szérumból történik, a leletátfordulási idő egy hét.

A szérumban angiotenzin konvertáló enzim mérésének lehetősége segítséget nyújt a sarcoidosis diagnosztikájához, a betegség lefolyásának követéséhez.

**Szerző: dr. Lakatos Kinga**

Szaklektor: Dr Kocsis Ibolya laboratórium vezető

## **Hiponatrémia laboratóriumi kivizsgálása**

Hiponatrémiának a 135 mmol/L alatti szérumból nátrium koncentrációt nevezzük, bár ettől a különböző laboratóriumok eltérő referencia tartományai miatt kisebb eltérések előfordulhatnak. Klinikailag is jelentős hiponatrémiáról 130 mmol/L alatti szérumból nátrium koncentráció esetén beszélhetünk. A hiponatrémia hátterében gyakorlatilag minden beteg esetében fokozott per os vagy intravénás volumenfelvétel és volumen-visszatartás áll.

Normálisan vízbevitel után a szérumból ozmolalitás (az oldott anyagok és a szabad víz aránya) csökken, aminek hatására az ADH (antidiuretikus hormon, vazopresszin) elválasztás szupprimálódik, így a felesleges vízmennyiség a híguló vizelettel távozik a szervezetből. Ezzel szemben azokban a betegekben, akikben hiponatrémia alakul ki, nem megfelelő a vízkiválasztás a vesében, többnyire az ADH szabályozás zavara miatt, ezt általában a szérumból ozmolalitás csökkenése is követi ( $< 275$  mOsm/kg). A szérumból ozmolalitást majdnem kizárólag a nátrium ionok mennyisége határozza meg, így a nátrium koncentráció jól mutatja, hogy milyen az oldott anyagok és a teljes test víztartalom aránya. A plazma ozmolalításban szerepet játszik még a glükóz koncentráció (főleg hiperglikémiában) és a karbamid (ami azonban szabadon átjut a membránokon, tehát koncentrációjának változása nem jár jelentős vízmozgással, ún. ineffektív ozmol).

Két fő szempont alapján osztályozhatjuk az alacsony szérumból ozmolalitással együtt járó hiponatrémiákat. Az egyik csoportosítási szempont, hogy az ADH szint inadekvátan emelkedett, vagy megfelelően szuppresszált, a másik a volumen státusz alapján történő osztályozás. Így hipovolémia, euvolémia vagy hipervolémia melletti hiponatrémia kategóriákat állapíthatunk meg.

A hiponatrémia és alacsony szérumból ozmolalitás hátterében 2 fő ok állhat, ezek mind emelkedett szérumból ADH szinttel járnak. Az effektív artériás térvolumen csökkenése valódi térvolumen veszteség (hányás, hasmenés, tiazid- vagy kacsdiuretikumok), vagy relatív térvolumen csökkenés miatt (csökkent szöveti perfúzió szívelégtelenségben és szisztémás vazodilatáció májcirrózisban) - utóbbi betegekben szisztémás hipervolémia áll fenn a térvolumen visszatartás miatt. SIADH, azaz a nem megfelelő ADH elválasztás számos betegség mellett vagy gyógyszer mellékhatásaként kialakulhat és hiponatrémiával és hipozmolalitással jár együtt. Egyéb kórállapotok hiponatrémia és hipozmolalitás hátterében: mellékvesekéreg elégtelenség, hipotireózis, hCG hatás várandósság alatt, ektópiás ANP termelés pl. kisbetegek tüdőrákban, maraton futás, előrehaladott veseelégtelenség, primer (pszichogén) polidipszia, és alacsony sóbevitel.

Magas szérumból ozmolalitás melletti hiponatrémiát találunk hiperglikémiában, előrehaladott veseelégtelenségben, mannitol vagy maltóztartalmú infúzió után. Normális szérumból ozmolalitás mellett kialakuló hiponatrémia oka izozmotikus, de nátriumot nem tartalmazó irrigációs folyadékok felszívódása pl. transzuretrális prosztata rezekció műtét során.

A kivizsgálás része az anamnézis felvétel, fizikális vizsgálat és laboratóriumi tesztek elvégzése. Hiperglikémia fennállása esetén az ozmolárisan aktív glükóz a víz kiáramlását eredményezi a sejten kívüli terekbe, így a nátrium koncentrációja csökken. Általánosságban elmondható, hogy minden 5,5 mmol/L glükózkoncentráció emelkedésre 2 mmol/L nátriumkoncentráció csökkenéssel számolhatunk. Jelentősen emelkedett plazma triglicerid koncentráció (lipémiás szérum), obstrukciós ikterusz, illetve magas fehérjetartalom (myeloma multiplex) esetén a plazmában a vizes fázis aránya csökken, ez bizonyos mérőmódszereknél tévesen alacsony nátrium szintekhez vezethet (pszeudohiponatrémia), ennek kiszűrése a laboratórium feladata. Az ágy melletti készülékek (pl. artériás vérgáz analizátorok) azonban olyan módszert használnak, amelyeknél a lipémia vagy magas fehérje tartalom a mérést nem befolyásolja.

Ha a betegnél prosztata műtétet (TUR), laparoszkópos, hiszteroszkópos műtétet végeztek, a felszívódott folyadék növeli az extracelluláris volument, így a nátrium koncentráció csökken. A plazma ozmolalitás mérése ilyenkor segíthet a diagnózisban.

A szérum kreatinin koncentráció és a GFR értéke a vesefunkció állapotáról adnak felvilágosítást, jelentősen csökkent GFR ( $< 15 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ ) esetén a vesében a szabad víz kiválasztása csökken. A visszatartott vízmennyiség növekedése pedig hiponatrémiához vezet. Thiazid típusú diuretikumok szedése erősen hajlamosít a hiponatrémiára, különösen a gyógyszer bevezetése utáni időszakban, vagy hosszútávú thiazid kezelés alatt, akut betegség esetén. Ezeknél a betegeknél alacsony szérum húgysav szintet is találhatunk. A diagnózist megerősíti, ha gyógyszerelhagyás után a nátriumszint rendeződik. A csökkent ozmolalitás mellett fennálló hiponatrémiáknál, ha a beteg GFR-je nem csökkent és nem szed thiazid diuretikumot, illetve egyéb ok is felmerül, a továbbiakhoz a fizikális vizsgálattal látható ödéma megléte vagy hiánya ad támpontot. A perifériás ödémával jelentkező betegeknél a szívelégtelenség és a májcirrózis irányába végezhetünk további laboratóriumi tesztek: NT-proBNP, illetve májfunkciós enzimek mérése jön szóba. Azon betegek, akiknél ödéma nincs, általában eu- vagy hipovolémiás státuszban vannak. A legtöbb betegnél, akiknél valódi volumenvesztés történt, a hipovolémia/kiszáradás fizikális jelei fennállnak: csökkent turgorú bőr, száraz nyálkahártyák, szédülés, alacsony vényomás. Ebben az esetben renális vagy extrarenális folyadékvesztés irányában kell vizsgálgódn, amit a vizelet nátrium- és kloridion koncentrációjának mérésével lehet elkülöníteni: alacsony vizelet nátrium gasztrointesztinális folyadék- és ionvesztésre utal (hasmenés), vagy diuretikumok hatására történő renális folyadékvesztésre. Magas vizelet nátrium és egyidejűleg alacsony vizelet klorid szint a metabolikus alkalosist (pl. hányás) és a vese kompenzációs működését jelzik. Magas vizelet nátrium és klorid szint renális sóvesztő szindrómák esetén jelentkezik: congenitális adrenális hiperplázia azon formája, ahol aldosteron hiány is van. A fizikális vizsgálattal euvolémiásnak imponáló betegek esetében a hiponatrémia hátterében leggyakrabban SIADH áll fenn. Ezen szindróma fennállásával egyidejűleg egyéb kóros tényezők is jelen lehetnek: valódi volumencsökkenés, primer polidipszia, malnutrició, glükokortikoid hiány vagy súlyos hipotireózis. Ebben az esetben vizelet nátrium, vizelet ozmolalitás, kortizol- és TSH-szint mérése javasolt.