

A

ALLERGOLOGIA

Gli allergeni molecolari: una nuova sfida per diagnosticare le allergie

Daniela Peruzzi - Prof.ssa Associata di Biologia Applicata - Consulente Gruppo Bios SpA



Negli ultimi decenni si è verificato un aumento delle malattie allergiche, sia nei bambini sia negli adulti. Tra le varie forme di allergia quelle più comuni sono causate dalla produzione di molecole IgE specifiche verso sostanze innocue con insorgenza di malattie come l'asma, l'orticaria, l'eczema e le congiuntiviti. Le manifestazioni con le quali si presentano sono spesso diverse, poiché dipendono dall'allergene e dall'età del paziente, e così alcuni sintomi possono essere banali come il lacrimare oppure il prurito. Si possono verificare anche malattie gastrointestinali, diarrea, perdita di peso e vomito. I bambini più piccoli generalmente sono allergici al cibo (specialmente il latte e le uova), mentre crescendo diventano maggiormente allergici alle sostanze inalate.



Tra gli adulti gli allergeni più comuni sono le noccioline, le noci, il grano, il latte, le uova, la frutta, gli acari della polvere, la forfora di gatti e cani, ma ogni proteina può diventare un allergene.

Per molti anni è stato usato lo “skin test” come unico esame fondamentale per la diagnosi di allergie, ma il test presenta alcuni limiti. Richiede, infatti, la presenza di un operatore per poter effettuare l'analisi; è limitato all'uso di alcune molecole allergeniche e ne esclude altre che non possono essere utilizzate “in vivo” sull'uomo. Inoltre, anche la composizione del materiale usato può essere variabile dipendendo dalla procedura di preparazione per l'estrazione, dalla degradazione proteolitica e dalla qualità del materiale di partenza. Nel caso di estratti di frutta, ad esempio, la reazione allergica può dipendere dalla maturazione della frutta stessa, oppure dai trattamenti utilizzati per

la coltivazione. Anche il consumo di cibi cotti oppure crudi può determinare una diversa reazione allergica perché molti allergeni non sono stabili al calore.

Alla fine degli anni Novanta del XX secolo, l'arrivo dell'allergologia molecolare ha rivoluzionato la cura del paziente allergico. La diagnosi molecolare, infatti, identifica proprio a livello molecolare l'allergene a cui è sensibile un paziente, utilizzando allergeni ricombinanti, invece di estratti di allergeni. Così si è dimostrato che non ogni paziente che è allergico alla stessa sostanza ha lo stesso profilo allergico [1]. In laboratorio l'identificazione di IgE specifiche è effettuata nel siero di un prelievo di sangue periferico, con l'utilizzo di proteine allergeniche. Generalmente alti livelli di IgE specifiche nel sangue contro un determinato allergene indicano un'alta probabilità di sviluppare una reazione clinica, ma ci sono alcuni allergeni che inducono reazioni gravi anche a basse concentrazioni di IgE specifiche.

Nel gennaio del 1988 fu pubblicato il clonaggio della sequenza del cDNA dell'allergene della polvere, il primo allergene ricombinante [2].

Una sostanza allergenica può così avere più frazioni che inducono allergie e si possono sviluppare diversi tipi di reazioni cliniche, a seconda della porzione verso la quale si è allergici. Per esempio, a proposito di frutta, nella pesca sono state identificate tre proteine che possono indurre allergie, chiamate Pru p1, Pru p3, Pru p4. Soggetti allergici alla pesca nella zona del Mediterraneo presentano allergie alla regione Pru p3 sviluppando una forma sistemica e più grave, mentre soggetti del centro-nord Europa sviluppano prevalentemente allergie più lievi contro la regione Pru p1. Questo è dovuto probabilmente al diverso trattamento delle pesche, essendo Pru p3 facilmente degradabile. Inoltre, Pru p3 è localizzata prevalentemente sulla buccia e non nella polpa. Sbucciando la pesca infatti si perde l'effetto allergico. Pertanto l'identificazione esatta dell'allergene primario, tramite l'uso di allergeni ricombinanti, aiuta nella scelta del trattamento del paziente allergico.

Oggi sono disponibili commercialmente più di 130 allergeni per analizzare in vitro le IgE specifiche.

Alcune molecole possono avere sequenze simili, per cui lo stesso anticorpo IgE può legarsi e indurre una risposta immunitaria con molecole diverse che presentano la stessa struttura. Si parla in questo caso di “cross reazione”. Quest’ultima solitamente può verificarsi tra specie vicine, come per esempio tra varie piante, tra vari acari oppure tra specie diverse come il gambero e l’acaro della polvere. La conoscenza molecolare di vari allergeni risulta pertanto importante per evitare reazioni, che altrimenti rimarrebbero nascoste, dovute appunto a cross reazioni. Altre molecole invece, presentano regioni uniche, per cui risulta più semplice identificare l’allergene primario ^[3].

Gli allergeni ricombinanti sono anche una valida alternativa agli allergeni naturali, soprattutto quando quest’ultimi sono espressi in basse quantità.

La diagnosi molecolare di allergia utilizza sia allergeni naturali sia ricombinanti per distinguere tra l’intolleranza ed un’allergia. L’intolleranza determina una reazione a livello locale mentre l’allergia molecolare dà luogo ad una reazione sistemica ed a persistenza del sintomo clinico. Distinguere tra intol-

leranza, cross reazioni e allergene primario diventa fondamentale per scegliere un preciso protocollo di immunoterapia. Infatti, essendo quest’ultimo lungo e costoso, l’identificazione dell’allergene primario aiuta a formulare la diagnosi corretta, a scegliere i pazienti idonei per la terapia ed a contenere la spesa. Ovviamente questo nuovo approccio richiede ulteriori studi al fine di identificare allergeni non conosciuti ed ha portato all’aumento dei costi delle analisi, specialmente se un individuo risulta essere allergico a più sostanze.

In conclusione, gli allergeni ricombinanti non solo hanno aumentato considerevolmente la nostra conoscenza sui meccanismi immunitari delle allergie, ma rappresentano pure un arricchimento di tecniche per la diagnosi ed il trattamento delle malattie allergiche.

Presso la Bios SpA questi esami vengono effettuati giornalmente, con risposta a tre giorni lavorativi con lo strumento Phadia Immucap 250, Thermofischer. Attualmente vengono esaminati 201 allergeni naturali e 71 molecolari.



BIBLIOGRAFIA

1. C. Alessandri, R. Ferrara, M. L. Bernardi, et al. Diagnosing allergenic sensitizations in the third millennium: why clinicians should know allergen molecule structures. *Clin. Transl Allergy* (2017) 7-21.
2. Tscheppe A., Breiteneder H. Recombinant Allergens in Structural Biology, Diagnosis and Immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol* 2017; 172:187-202.
3. Giorgio Walter Canonica, Ignacio J. Ansotegui et al. A WAO - ARIA - GAZLEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics.