

The logo for Thermo Scientific, featuring the word "thermo" in white lowercase letters and "scientific" in white lowercase letters, both set against a red rectangular background.

Tryptáza žírných buněk

Pro diagnostiku a predikci

Lars Jacobsen/Lene Heise Garvey
for Thermo Fischer Scientific

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Úvod

Úvod	3	Kapitola 5	19
Kapitola 1	4	Měření tryptázy.....	19
Tryptáza - enzym.....	4	Metoda měření hladiny cirkulující tryptázy.....	19
Souhrn struktury a funkce tryptázy.....	5	Normální hladina tryptázy.....	19
Úloha v anafylaxi.....	6	Kdy měřit.....	20
Normální hladina tryptázy.....	6	Tryptáza- monitorování při alergii na hmyzí jedy.....	20
Kapitola 2	7	Stanovení tryptázy při lékové alergii.....	20
Žírné buňky.....	7	Stanovení tryptázy při mastocytóze.....	20
FcεRI-závislá aktivace alergenem.....	10	Porovnání bazální hladiny tryptázy mezi jednotlivci.....	21
Aktivace žírných buněk bez přítomnosti alergenu.....	11	Co zvážit při měření tryptázy a jejím přechodném zvýšení.....	21
Seznam funkcí žírných buněk.....	11	Kapitola 6	23
Žírné buňky komunikují s ostatními buňkami imunitního systému.....	11	Praktické příklady využití měření sérové tryptázy v klinické praxi.....	23
Bazofilní granulocyty.....	11	Obecně o využití tryptázy.....	23
Kapitola 3	13	Kazuistika č. 1 - Tryptáza v perioperativním vyšetření.....	23
Role žírných buněk v patologických procesech.....	13	Kazuistika č. 2 – Tryptáza na pohotovosti.....	24
Mastocytóza.....	13	Kazuistika č. 3 – Tryptáza jako diagnostický marker pokud je diagnóza nejasná.....	24
WHO klasifikace mastocytózy 2016.....	14	Kazuistika č. 4 – Tryptáza u anafylaxe vyvolané hmyzím jedem.....	24
Hlavní kritéria.....	15	Kazuistika 5 – Tryptáza u mastocytózy.....	25
Vedlejší kritéria.....	15	Slovo závěrem.....	26
Symptomy vyvolané mediátory žírných buněk.....	15	Seznam literatury.....	26
Kapitola 4	16		
Anafylaxe.....	16		
Spouštěče anafylaxe.....	17		
Anafylaxe u pacientů s mastocytózou.....	17		
Anafylaxe způsobená alergií na léky a v perioperačním období.....	17		
Anafylaxe způsobená alergií na hmyzí bodnutí.....	17		

Úvod

Podtyp granulocytů v periferních tkáních hraje klíčovou úlohu v alergických a jiných zánětlivých reakcích. Tyto buňky, které se nazývají „žírné buňky“ uvolňují mnoho prozánětlivých mediátorů. Jedním z nich je tryptáza, neutrální serinová proteáza, která je nejvíce zastoupeným prozánětlivým mediátorem v granulích žírných buněk. Tryptáza se uvolňuje z granulí žírných buněk při jejich degranulaci a hraje významnou roli při zánětu, avšak její biologická role ještě není zcela objasněna. Tryptáza se podílí na udržování homeostázy v dýchacím systému, cévní relaxaci a kontrakci, ovlivňuje činnost střevní hladké svaloviny, střevní transport a koagulaci.⁽¹⁾ Během anafylaktické reakce se její hladina v séru zvyšuje. Zvýšené hladiny sérové tryptázy jsou detekovatelné při některých hematologických onemocněních a u pacientů se systémovou mastocytózou. Výrazné uvolnění tryptázy z žírných buněk slouží k detekci a odlišení systémových reakcí,

kteří jsou závislé či nezávislé na žírných buňkách, avšak manifestují se podobnými klinickými projevy. Zvýšené hladiny tryptázy se vyskytují u imunologicky zprostředkovaných reakcí, ale mohou se objevit i při přímé stimulaci žírných buněk. Protože žírné buňky hrají klíčovou roli v alergických reakcích, musí být pacienti se zvýšenou hladinou tryptázy v séru vyšetřeni na alergii zprostředkovanou IgE protilátkami. Avšak také pacienti bez zvýšených hladin sérové tryptázy by měli být vyšetřeni, pokud klinický obraz ukazuje na závažnou anafylaxi.⁽¹⁾ Tento manuál shrnuje důležité aspekty biologických funkcí a význam stanovení sérové tryptázy jako diagnostického markeru. Poznatky jsou podloženy informacemi z originálních článků a review o tryptáze, funkci žírných buněk, mastocytóze, anafylaxi a přidružených onemocněních.

Tryptáza – enzym:

Endopeptidázy, též endoproteinázy jsou proteolytické enzymy, které štěpí peptidové vazby uvnitř peptidových řetězců. Endopeptidázy většinou neštěpí peptidy na monomery jako tomu je v případě některých exopeptidáz. Jako příklad endopeptidázy uvádíme oligopeptidázu, jejímž substrátem je oligopeptid a neintaktní protein.

„PA skupina“ (Proteázy ze smíšené nukleofilní, superrodiny A) jsou největší skupinou proteáz se společným původem, který byl identifikován díky strukturálním homologiím. Rodina má chymotrypsinový záhyb a podobné proteolytické mechanismy, ale sekvenční identita je menší než 10 %. Rodina se skládá z cysteinových a serinových proteáz (rozdílné nukleofily).^(2, 3)

PA skupina představuje příklad konvergentní evoluce molekulární struktury pro katalytickou hydrolytickou třídu.⁽⁴⁾

Serinové endopeptidázy jsou enzymy, které štěpí peptidové vazby v proteinech. Ve svém aktivním centru mají nukleofilní aminokyselinu serin. Vyskytují se v eukaryotních i prokaryotních buňkách.⁽⁵⁾ Na základě struktury se serinové proteázy řadí do dvou skupin: chymotrypsin podobná (trypsinu-podobná) a subtilisinu podobná skupina. Jak již bylo zmíněno, u lidí je tato skupina enzymů zodpovědná za udržování fyziologických funkcí jako je trávení, imunitní odpověď, krevní srážení a rozmnožování.⁽⁵⁾

Endopeptidázy, jako například serinové proteázy, jsou většinou specifické pro určité aminokyseliny. Příklady různých endopeptidáz:

- Trypsin – štěpí za Arg nebo Lys, pokud nenásleduje Pro.
- Chymotrypsin – štěpí za Phe, Trp, nebo Tyr, pokud nenásleduje Pro.
- Elastáza – štěpí za Ala, Gly, Ser nebo Val, Pokud nenásleduje Pro.
- Thermolysin – štěpí před Ile, Met, Phe, Trp, Tyr, or Val, pokud předchází Pro.
- Pepsin – štěpí před Leu, Phe, Trp or Tyr, Pokud předchází Pro.

Specifita trypsinových proteáz spočívá ve schopnosti štěpit peptidové vazby v místě, kde se vyskytují pozitivně nabitě kyseliny (lysin nebo arginin). Vazebné místo těchto enzymů leží v S1 kapse enzymu (obecně se jedná o záporně nabitě kyseliny jako je kyselina asparagová nebo kyselina glutamová.)

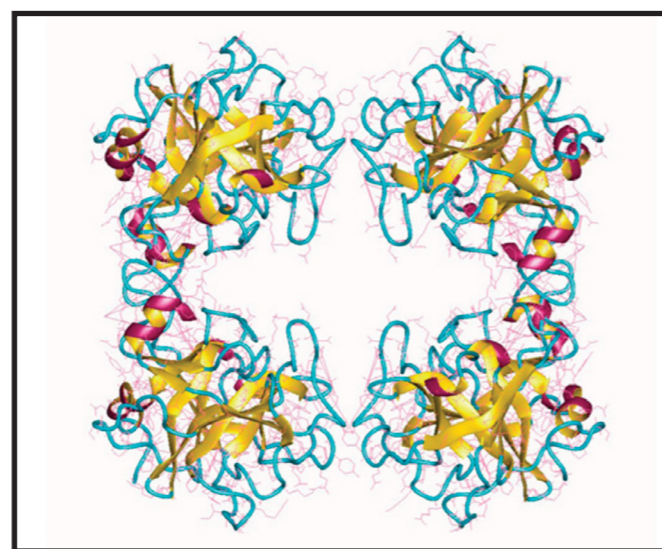


Fig 1. Tryptáza alfa/beta 1 – tetramerní struktura

Rodina trypsinových serinových proteáz, které jsou primárně produkovány a uskladněny v granulích žírných buněk a méně v nezralých krevních basofilích se nazývá tryptáza.^(6, 7) Tryptáza je produkována a uvolňována nezávisle na umístění, maturaci nebo subtypu žírné buňky.⁽⁶⁾

Dva nejvíce zastoupené podtypy tryptázy produkovány v žírných buňkách jsou alfa a beta tryptáza.⁽⁷⁻⁹⁾ Zatímco alfa-tryptázu produkují žírné buňky konstantně, betatryptáza je primárně skladována v granulích žírných buněk a uvolňuje se až po stimulaci, např. během anafylaktické reakce.⁽¹⁰⁾

Každá z těchto dvou tryptáz je kódovaná jinými geny. Obě tryptázy jsou syntetizovány jako neaktivní proenzymy. Alfa i beta-protryptázy jsou spontánně uvolňovány z klidových žírných buněk. Hladiny protryptáz odrážejí absolutní počty žírných buněk v těle, ale nejsou indikátorem jejich aktivity.

Beta-protryptáza je procesována do zralé formy, která je následně skladována v granulích a uvolněna jako aktivní tetramer (fig 1), který se váže na heparin nebo chondroitin sulfát.

Záměna v aminokyselinovém řetězci alfa-protryptázy zabraňuje její přeměně ve zralou formu. Po stimulaci žírné buňky a její degranulaci dochází k uvolnění zralé formy tryptázy, která je téměř výlučně ve formě beta.

Relativně malé změny v sekvenci aminokyselin mezi alfa a různými beta-tryptázami způsobí velké rozdíly v aktivaci, sekreci a aktivitě těchto enzymů. Alfa-tryptáza ve formě propeptidu brání její degradaci a aktivaci. To má za následek neschopnost neschopnost zaujmout aktivní konformaci a nahromadění v sekrečních granulech. Místo toho inaktivní monomerní proenzym podléhá konstitutivní sekreční dráze. To je také případ nezpracované pro-beta-tryptázy, která často tvoří velký podíl celkové produkované tryptázy. Proto se imunoreaktivní tryptáza v séru skládá hlavně z pro-alfa a pro-beta tryptázy.⁽¹¹⁾ Situace je stejná i v případě anafylaxe. Protože alfa-tryptáza není skladována, nepřispívá ke zvýšení koncentrace tryptázy při akutní degranulaci žírných buněk. Alfa-tryptáza má navíc defektní katalytickou doménu, což limituje její aktivitu při přípravě enzymů, ze kterých je propeptid uměle odstraněn. Samotná alfa-tryptáza proto není vhodným markerem aktivity žírných buněk. Z tohoto důvodu je více než pravděpodobné, že hlavní úlohu při patofyziologii anafylaxe sehraje beta-tryptáza.^(11,12)

Tryptáza má široké spektrum biologických aktivit, ale její účinek je limitován na několik identifikovaných substrátů. Tryptáza se účastní regulace buněčné proliferace a růstu, zpracování (pro)hormonů, aktivaci fibrinolytických enzymů, degradaci plazmatických molekul a molekul extracelulární hmoty. Zdá se, že tryptáza je jeden z nejvíce účinných mitogenů různých mezenchymálních buněk jako jsou fibroblasty a endotelové buňky⁽¹³⁻¹⁵⁾. Navíc tryptáza degraduje fibrinogen a aktivuje pro-urokinázy^(16,17). Další biologická funkce zahrnuje vazbu vazoaktivního střevního peptidu⁽¹⁸⁾. Biologická aktivita beta-tryptázy je závislá na okolních faktorech. Optimální podmínky jsou v granulích žírných buněk, které jsou primárním místem exprese tohoto enzymu a zároveň jejich uskladnění. Vznik tetramerní struktury je optimální při nižším pH (6.0), iontové síle 160 mM NaCl a teplotě mezi 22–37 °C.⁽¹⁹⁾

Během anafylaktické reakce žírné buňky degranulují a uvolňují velké množství tryptázy. Její navýšení je

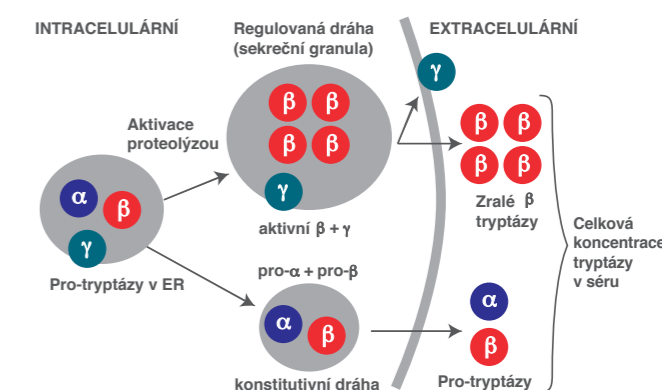


Fig 2. Aktivace a sekrece α , β a γ tryptázy (11).

Souhrn struktury a funkce tryptázy

Struktura	Biologická funkce
<ul style="list-style-type: none"> • Tetramerní neutrální proteáza • Molekulární hmotnost 134 kDa • Alfa a beta-tryptáza • Beta-tryptáza je uskladněna v sekrečních granulích žírných buněk • Alfa-protryptáza je uvolňována neustále ve formě neaktivního proenzymu a je dominantní formou • regulace neznámá 	<ul style="list-style-type: none"> • Váže: <ul style="list-style-type: none"> – vazoaktivní střevní peptidy – kalcitonin příbuzné peptidy – fibronectin – kininogeny • Stimuluje IL-8 • Zvyšuje ICAM-1 expresi • Mobilizace prozánětlivých buněk • Stimuluje ostatní žírné buňky • Znasobuje degranulaci žírných buněk

detekovatelné v periferní krvi 15 minut po zahájení anafylaktické reakce. Hladiny tryptázy v krvi postupně klesají, kdy poločas rozpadu je okolo 2 hodin. V porovnání s histaminem (další imunologický mediátor uvolňovaný aktivovanými žírnými buňkami), který je v krvi nedetekovatelný již po několika minutách, je proto tryptáza lepším markerem. Zvýšené sérové hladiny se mohou vyskytnout při alergické reakci, u pacientů se systémovou mastocytózou nebo u syndromu aktivity žírných buněk. V případě anafylaktické reakce, vyvolané alergií nebo ne, je role tryptázy velmi důležitá.

Úloha v anafylaxi ⁽⁶⁸⁾

Anafylaxe je zprostředkována zejména tryptázou z žírných buněk.

- α -tryptáza
 - neustále uvolňována z žírných buněk
 - ve zvýšené míře uvolňována při mastocytóze
- β -tryptáza
 - uskladněna v granulích žírných buněk
 - uvolněna po IgE-dependentní stimulaci
 - > specifitější marker než celková tryptáza
 - NEJLEPŠÍ marker systémové aktivity žírných buněk při anafylaxi

Normální hladina tryptázy

- U zdravých jedinců jsou hladiny tryptázy 1–15 $\mu\text{g/l}$.⁽⁷⁰⁾
- Každý jedinec má unikátní hladinu bazální tryptázy, která je obvykle stabilní. Někteří jedinci se zvýšenou hladinou tryptázy >10 $\mu\text{g/l}$, spadají do rizikové skupiny se zvýšenou pravděpodobností vzniku závažné anafylaktické reakce.
- Zvýšená hladina tryptázy je detekovatelná mezi 3–6 hodinami po anafylaktické reakci. Návrat na fyziologické hladiny je detekovatelný přibližně po 24 hodinách po reakci.^(69, 70)
- Aby bylo zajištěno naměření maximálních hodnot, vzorky by měly být odebírány mezi 15 minutami až 3 hodinami po podezření na událost, která způsobila aktivaci žírných buněk.^(69, 70) Zvýšené hladiny tryptázy lze detekovat u skupiny pacientů trpících mastocytózou, myelodysplastickým syndromem (CMML), myeloproliferativní neoplazií, akutní myeloidní leukémií (AML), chronickou myeloidní leukémií (CML) a chronickou eosinofilní leukémií (CEL).

KAPITOLA 2

Žírné buňky

Žírné buňky jsou přítomny ve všech vrstvách kůže a mukózy dýchacího a trávicího traktu. Degranulace těchto buněk hraje významnou roli v patogenezi onemocnění způsobených poruchami imunitního systému, jako jsou inhalační alergie, potravinové alergie, lékové alergie a mastocytózy. Žírné buňky hrají roli v dalších onemocněních, která s alergiemi nijak nesouvisí, avšak těch se tato publikace netýká.

Žírné buňky jsou hlavním zdrojem produkce, uskladnění a uvolňování tryptázy do krevního oběhu. Od té doby, kdy Paul Ehrlich před více jak 130 lety objevil žírné buňky (mastzellen) započal intenzivní výzkum, který napomohl k lepšímu pochopení funkce žírných

buněk v biologii a medicíně. Objev imunoglobulinu E.^(20, 21) a později vysokoafinitního receptoru pro IgE a IgG na povrchu žírných buněk vedl k hlubšímu pochopení akutních alergických mechanismů. Žírné buňky produkují celou řadu zánětlivých mediátorů zahrnujících tryptázu, histamin, cytokiny, chemokiny a růstové faktory. Sehrávají úlohu v mnoha onemocněních od alergických reakcí, parazitárních onemocnění, hematologických malignit, artritidy až po osteoporózu.

Pilotní výzkumy v oblasti aktivity a komunikace buněk lidského imunitního systému sahají do roku 1878.⁽²²⁾ Tabulka 3 zachycuje důležité historické milníky. Pro bližší informace Vás odkazujeme na originální článek.⁽²³⁾

ROK	
1878	Paul Ehrlich popsal žírné buňky ve své doktorské práci na univerzitě Leipzig, kde je pojmenoval jako "mastzellen".
1891	Paul Ehrlich demonstroval rozpustnost žírných buněk ve vodním prostředí.
1891	Paul Ehrlich popsal přítomnost buněk s bazofilními granulemi při leukémii.
1898	Paul Ehrlich popsal dva typy buněk s bazofilními granulemi. Jedny v tkáních (tkáňové žírné buňky) a druhé pocházející z kostní dřene a přítomné v krevním řečišti (krevní žírné buňky, bazofily).
1900	Jolly prokázal původ žírných buněk z kostní dřene.
1900	Paul Ehrlich popisuje teorii vzniku protilátek.
1902	Paul Portier a Charles Richet popsali anafylaxi.
1906	Clemens von Pirquet popisuje pojem alergie.
1908	Paul Ehrlich spolu s Iljou Iljičem Mečnikovem získali Nobelovu cenu za fyziologii a medicínu za objevy v imunologii.
1913	Charles Richet získal Nobelovu cenu za objev anafylaxe.
1921	Popis pasivního přenosu hypersenzitivity sérem Prausnitzem. Reakce je známá pod pojmen Prausnitz-Kustner reakce (P-K reakce).
1952	Objev histaminu v žírných buňkách Jamesem Rileym a Geoffreyem Westem.
1961	Identifikace žírných buněk v tkáni průdušek u bronchiálního astmatu.
1967	Kimishige Ishizaka popisuje imunoglobulin E jako reakční protilátka.
1973	Identifikace IgE receptoru na žírných buňkách.
1979	Pomalou reagující substance přítomná při anafylaxi (SRS-A) z žírných buněk pojmenována leukotrien.
1989	Plaut a Paul prokázali, že žírné buňky jsou schopny sekrece lymfokinů.
1990	Steel locus kit ligand (KL) byl identifikován jako ligand c-kit receptoru. Tato signalizace ovlivňuje proliferaci žírných buněk.
1991	Byla naklonována lidská chymáza žírných buněk.
1994	Demonstrace schopnosti žírných buněk fagocytovat bakterie.
1994	Byla demonstrována schopnost myších žírných buněk prezentovat antigen T buňkám.
1996	Popsán význam žírných buněk při obraně proti E. Coli infekci.
2001–2003	Popsána přítomnost Toll-like receptorů na žírných buňkách.
2003	Toll-like receptory a vysokoafinitní IgE signalizace byly popsány při indukci genů v žírných buňkách.
2004	Popsána přítomnost NO syntázy a oxidu dusnatého v lidských žírných buňkách.
2009–2010	Popsáno zapojení žírných buněk při onemocněních trávicího traktu jako je například Crohnova choroba a eosinofilní ezofagitida.
2012	Pilotní výzkumy, které propojují ekzém s onemocněními dýchacího traktu na myším modelu.

Tab 3. Vybrané historické milníky v oblasti výzkumu žírných buněk-upraveno z ⁽²³⁾

Žírné buňky se v pojivových a mukózních tkáních hojně vyskytují na rozhraní vnitřního a vnějšího prostředí. Jsou převážně umístěny v blízkosti oblastí, kde může dojít k poškození tkání. Jsou evolučně velmi staré a jejich primární imunodeficit prozatím nebyl popsán. Jsou potřebné pro normální vývoj a udržování homeostázy v tkáních. Žírné buňky sehrávají důležitou úlohu v součinnosti zánětlivé odpovědi a opravných mechanismech při tkáňovém poškození.⁽²⁵⁾

Funkce a účast na patologických reakcích žírných buněk je zřejmá při alergických reakcích v dýchacím traktu a pokožce jako jsou rinitida, alergické astma a IgE zprostředkovaná reakce při atopické dermatitidě. Zdá se, že žírné buňky také ovlivňují průběh pulmonární fibrózy a hypertenze. Aktivace žírných buněk může být důležitá při rozvoji syndromu respirační tísně, chronickém obstrukčním plicním onemocnění (CHOPN) a plicní neoplazii.⁽²⁵⁾

Žírné buňky pocházejí z granulo/monocytového Q3 progenitoru z pluripotentní CD341+ a CD171+ hematopoetické kmenové buňky z kostní dřeně.⁽²⁶⁾ Mononukleární progenitor vstupuje do systémové cirkulace a následně migruje do různých tkání. Přesný mechanismus této migrace do tkání není přesně znám. Avšak dnes již známe mnoho chemoatraktantů pro lidské žírné buňky, které se podílejí na jejich migraci do tkání. To vše je detailně popsáno v dalších článcích.⁽²⁷⁾ Progenitory žírných buněk mají původ v hematopoetické kmenové buňce v kostní dřeni, kde vznikají přes myeloidní linii. Progenitory se dostávají krevním řečištěm do tkání, kde vlivem okolních buněk a cytokinového prostředí dochází k jejich diferenciaci a maturaci v určitý typ zralé žírné buňky. Změny v prostředí při patologiích, ve kterém se buňka vyskytuje, vedou k heterogenitě žírných buněk.

Zralé diferenciované lidské žírné buňky jsou schopné proliferace. Proto při mnohých onemocněních dochází k zvýšení počtu žírných buněk díky jejich proliferaci a současně migraci buněk nových do místa postižení.^(28, 29)

Mezi morfoloické charakteristiky žírných buněk patří přítomnost denzních granul, které jsou navázané na vnitřní část buněčné membrány. U lidí tato granula

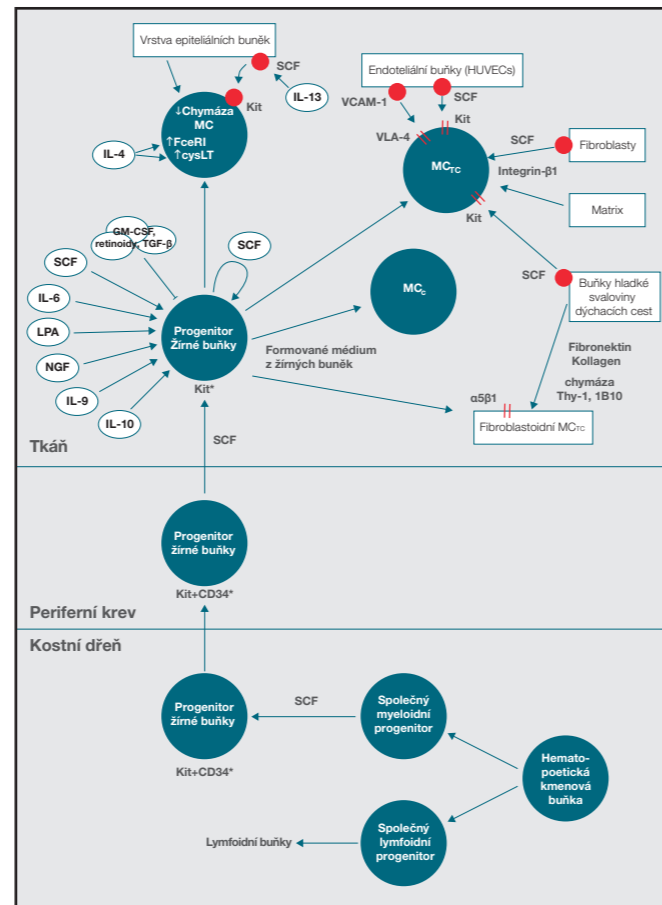


Fig 4. Získ progenitorů žírných buněk a jejich diferenciace do různých typů žírných buněk⁽²⁷⁾.

obsahují kyselou proteoglykanovou matrix, která se skládá z heparin sulfátu, histaminu, serinových proteáz (tryptáza, chymáza, katepsin G a karboxypeptidáza A) a některých vázaných cytokinů. Kyselý prostředí granul udržuje všechny mediátory v neaktivní formě dokud není obsah granul z buňky uvolněn exocytózou. K fúzi a uvolnění obsahu granul dochází při aktivaci přes FcεRI. Taková aktivace se nazývá „anafylaktická degranulace.“ Proces není cytotoxický a žírné buňky jsou schopné revitalizace a obnovy obsahu svých granul.

Přestože FcεRI-spouští exocytózu při onemocněních jako je astma a plicní fibróza, kdy dochází ke zcela úplné degranulaci žírných buněk, někdy však po jejich aktivaci dochází jen k částečné degranulaci, kdy žírné buňky i membrány granul zůstanou nedotčené.^(25,30,31)

Žírné buňky jsou zdrojem mnoha cytokinů a chemokinů s pleiotropním efektem. Produkce těchto mediátorů je regulována vnějšími vlivy závislými na

požadované imunologické odpovědi. Tabulka 8. shrnuje seznam nejdůležitějších proteáz a mediátorů obsažených v granulech žírných buněk.⁽²⁷⁾

Žírné buňky, které obsahují pouze tryptázu (MCT), se nacházejí v mukóze bronchiálního epitelu při astmatu, zatímco žírné buňky, které obsahují tryptázu, chymázu, katepsin G a CPA (MCTC) jsou v pojivových tkáních.^(27, 32)

Proteázy žírných buněk jsou uloženy v granulech ve formě aktivních enzymů a tvoří okolo 25 % proteinů obsažených v těchto buňkách. Chymáza, tryptáza a karboxypeptidáza A jsou primárně obsažené v žír-

jejich rozdílná odpověď vyvolaná jejich aktivací.⁽²⁴⁾

Aktivace žírných buněk může nastat různými způsoby. Aktivovat je mohou neuropeptidy, cytokiny, růstové faktory, toxiny, bazické sloučeniny, komplex, imuno-komplexy, některé léky a fyzikální faktory. Během alergické reakce je adaptivní imunitní odpověď mediována vazbou specifického alergenu na vysokoafinitní IgE receptor na povrchu žírných buněk. Tato vazba pak způsobí aktivaci buňky

Mediátor	Uloženo/nově syntetizován v granulech	Biologické efekty
Histamin	Uloženo	Indukce bronchokonstrikce a tkáňového otoku, zvýšení cévní permeability, sekrece hlenu, proliferace fibroblastů, syntéza kolagenu, proliferace endotelových buněk, aktivace dendritických buněk.
Heparin	Uloženo	Antikoagulans, poskytuje proteoglykanovou matrix pro ostatní mediátory v granulech žírných buněk, ochraňuje růstové faktory před jejich degradací, aktivuje fibroblasty, indukuje migraci endotelových buněk.
Tryptáza	Uloženo	Degraduje respirační alergeny, spojené IgE a neuropeptidy, generuje C3a a bradykinin, zvyšuje bronchiální odpověď a kontraktilitu hladké svaloviny, nepřímo aktivuje kolagenázu, zvyšuje proliferaci fibroblastů a syntézu kolagenu, aktivuje epitelální buňky a TGF-β, usnadňuje uvolňování histaminu z žírných buněk, atraktant pro neutrofilů, váže a inaktivuje CCL5 a 11.
Chymáza	Uloženo	Zvyšuje sekreci hlenu, degraduje extracelulární matrix a IL-4, usnadňuje zpracování molekul pro-kolagenu typu I, indukuje syntézu angiotenzinu II, redukuje adhezi T buněk hladkou svalovinu, aktivuje IL-1β; uvolňuje membránovou vazbu faktoru kmenových buněk, zlepšuje aktivitu IL-33 proteolytickým štěpením.
PGD2	Nově syntetizován	Indukuje bronchokonstrikci a tkáňový otok, zvyšuje sekreci hlenu, aktivuje dendritické buňky, chemoatraktant eozinofilů, a Th2 buněk a bazofilů přes CRTh2 receptor, aktivuje ILC2 buňky.
LTC ₄ (a extracelulárně nově syntetizovaný D ₄ a E ₄)		Indukce bronchokonstrikce a tkáňového otoku, zvyšuje sekreci hlenu, IL-13 dependentní proliferace buněk hladké svaloviny arterií a fibróza tkání, účastní se maturace a migrace dendritických buněk, indukce IL-4 eozinofilů a IL-5,8 a TNF-α uvolňování z žírných buněk, chemoatraktant pro žírné buňky, indukce produkce IL-4, IL-5 a IL-13 myšimi ILC2 buňkami.

Fig 5. Seznam proteáz a mediátorů žírných buněk⁽²⁷⁾.

ných buňkách a sehrávají významnou modulační úlohu během alergické reakce. Oproti tomu beta-tryptáza zabraňuje vzniku alergického zánětu vazbou IgE po jejím uvolnění z aktivovaných žírných buněk.^(24,33)

Zralé žírné buňky mohou být rozděleny do dvou velkých skupin na základě obsahu proteáz. Žírné buňky tryptáza/chymáza (MCTC) skupiny obsahují granula s tryptázou, chymázou a karboxypeptidázou. Žírné buňky skupiny MCT naopak obsahují pouze tryptázu. Heterogenita žírných buněk se odráží v jejich náchylnosti k aktivaci, rozdílném obsahu granul a uvolněných mediátorech. Důsledkem této heterogenity je

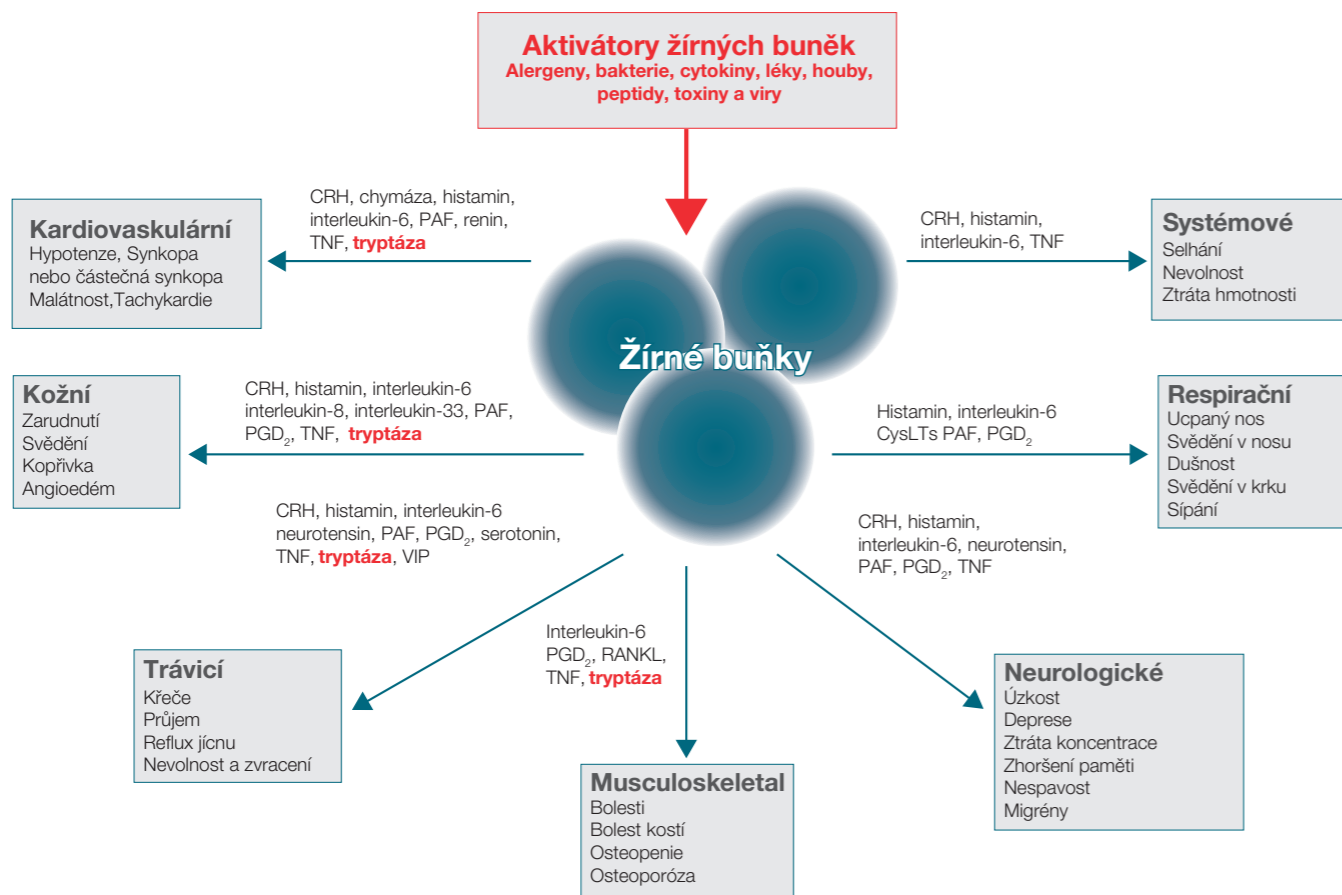


Fig 6. Klinicky významné mediátory uvolněné z žírných buněk a jejich předpokládané účinky. Nejvýznamnější klinicky relevantní mediátory uvolněné z žírných buněk, korespondující orgány a systémy a potenciálně asociované symptomy.⁽³⁴⁾

Klinická odpověď je ovlivněna místem, kde jsou žírné buňky přítomny a kde interagují s ostatními buňkami spolu s alergenem a IgE specifickými protilátkami.

FcεRI-závislá aktivace alergenem

FcεRI je vysokoafinitní receptor pro IgE. FcεRI-závislá aktivace žírných buněk je významná při alergických onemocněních zahrnujících alergickou rýmu, alergickou astmu a potravinové alergie. Tato aktivace patří mezi nejvíce studované mechanismy vzniku alergií. FcεRI receptor je přítomen na plasmatické membráně žírných buněk, kde tvoří tetramer složený ze čtyř podjednotek.⁽³⁵⁾ Vazba specifického alergenu mezi dvěma specifickými IgE molekulami, kdy dojde k jejich překřížení, vyvolá aktivaci a degranulaci žírné buňky (Fig 7).

Následný kontakt s alergenem

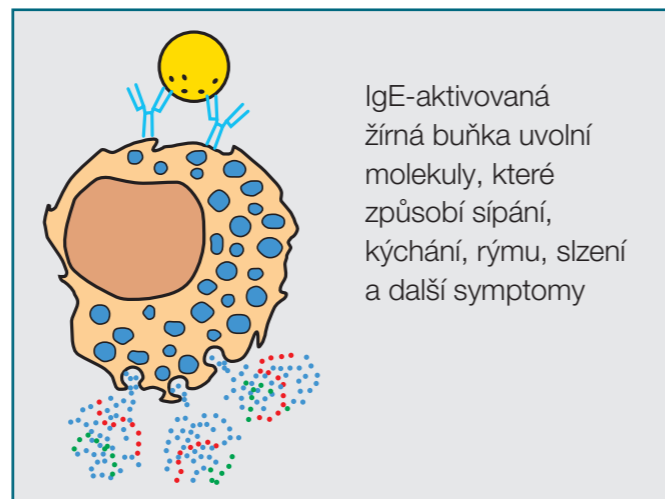


Fig 7. Reference: Imunologie, Janis Kuby, Třetí vydání

Aktivace žírných buněk bez přítomnosti alergenu

Vazba IgE na FcεRI může ovlivnit vývoj, přežívání a funkce žírných buněk bez přítomnosti alergenu. Jedná se zejména o zahájení intracelulární signalizace, která vede k uvolnění mediátorů. Žírné buňky exprimují mnoho receptorů, díky kterým mohou detekovat patogeny a jejich produkty.^(25, 36)

Překřížení FcεRI-a IgE po vazbě alergenu nebo vazba samotného IgE na FcεRI může zahájit intracelulární signalizaci, kdy dojde k fosforylaci proteinů, Ca²⁺ influxu a následnému uvolnění mediátorů. Žírné buňky exprimují mnoho tříd receptorů, které je aktivují nezávisle na vazbě IgE.⁽²⁷⁾

Žírné buňky exprimují receptory pro zánětlivé mediátory, které po vazbě na svůj receptor vyvolají její aktivaci a následnou produkci mediátorů/cytokinů a/nebo degranulaci buňky. Jedná se například o faktor nádorové nekrózy (TNF-α), proteázy, PAF, komplement, SCF, IL-33, TSLP, IL-1b a INFγ⁽²⁷⁾. Existují důkazy, že mediátory žírných buněk jsou zodpovědné za bronchokonstrikci u brzké i pozdní astmatické reakce.^(25, 27)

Díky těmto vlastnostem jsou žírné buňky hlavní efektorové buňky alergických reakcí. Jsou aktivovány jak alergeny, tak jinými spouštěči, jako jsou anafylatoxiny, agregované IgG, některé léky, jedy a fyzikální podněty, (tlak nebo teplota). Mezi další spouštěče patří cytokiny a neuropeptidy jako jsou kortikotropin uvolňující hormon, neurotensin, SCF a P substance.

Pokud se mediátory z žírné buňky uvolní, většinou působí lokálně. Poločas aktivity histaminu je velmi krátký kvůli jeho degradaci histamin-N-methyltransferázou (HMT). Aktivní tetramer tryptázy je velmi rychle rozložen na neaktivní monomery při nepřítomnosti heparinu.

Seznam funkcí žírných buněk

- žírné buňky sekretují heparin, tryptázu a tkáňový aktivátor plazminogenu (tPA), díky kterému se podílí na fibrinolytických procesech
- vazoaktivní aminy, tryptáza, IL-4 a NGF přispívají k regeneraci poničených nervových vláken
- tryptáza může specificky aktivovat proteinázami aktivovaný receptor-2 (PAR-2), který inhibuje diferenciaci osteoklastů
- angiogeneze
- proteázy žírných buněk přispívají k imunitní toleranci, kde redukuje antigenicitu a rekrutují leukocyty pomocí vazby antigenů, toxických peptidů, cytokinů a chemoatraktantů

Žírné buňky komunikují s ostatními buňkami imunitního systému

Tento aspekt je důležitý v případě alergické a anafylaktické odpovědi na cizí alergeny. To bylo pečlivě prokázáno v článku, zabývající se astmatem od Braddinga a Arthura.⁽²⁷⁾

Bazofilní granulocyty

Bazofily jsou odlišné buněčné typy, které však mají některé stejné efektorové funkce jako žírné buňky. Oba buněčné typy mohou pocházet ze stejného prekursoru. Oba buněčné typy mají hlavně efektorovou funkci v adaptivních imunitních reakcích a často nejsou samotnými iniciátory imunitní odpovědi. Žírné buňky a bazofily spolupracují v boji proti sekundární infekci. Jedná se například o klíšťata a červy. Hlavní rozdíl mezi těmito dvěma buněčnými typy je, že bazofily produkují velmi malé množství tryptázy a příbuzných enzymů.⁽³⁷⁾ Fig. 11 popisuje vybrané a společné charakteristiky žírných buněk a bazofilů.

KAPITOLA 3

Role žírných buněk v patologických procesech

Charakteristika	Žírné buňky	Bazofily	Oba buněčné typy
Velikost	5–10µm	5–7µm	–
Morfologie jádra	Kulaté	Členité nebo segmentované	–
Životnost	Týdny až měsíce	60 hodin	–
Proteázy	Chymázy a tryptázy	mMCP8 a mMCP11	CPA, granzimy a kathepsiny
Proteoglykany	Heparin	–	Chondroitin sulfát
Cytokiny produkované	IL-8, IL-10, IL-25, TNF and VEGF	–	IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13, IL-15, TSLP a další
Aktivační receptory	KIT, FcγRI a FcγRIIA	2B4, LIR7 leptinový receptor	FcεRI, FcγRIIIA, CD200R3, C3aR, C5aR, LTB4R1, IL-3R, IL-18R, IL-33R a TSLPR
Inhibiční receptory	–	LIR3	CD200R1, CD300a (též znám jako LMIR1 u myši), FcγRIIB, GP49B1 and LIR2
Faktory přežití	BCL-X	PIM1 kináza	MCL1 a BCL-2
Transkripční faktory	MITF	P1-RUNX1 a C/EBPa	GATA faktory a STAT5
Imunomodulační mediátory	PGD ₂ a LTB4	–	LTC4, PAF, histamin a serotonin
Ostatní přidružené molekulární markery	–	CD49b, bazogranulin a CD203c	CD40L and CRTH2

Fig 11. Vybrané charakteristiky žírných buněk a bazofilů⁽³⁷⁾.

Žírné buňky komunikují s buňkami v jejich těsné blízkosti. Uvolnění bioaktivních mediátorů z žírných buněk může v některých případech vést k neadekvátní (nechtěné) aktivaci, která vyústí v patologický proces v organismu. Příklady onemocnění, která souvisejí s nekontrolovatelnou proliferací žírných buněk a uvolňováním jejich bioaktivních sloučenin jsou⁽²⁴⁾:

Alergické reakce

Crohnova choroba

- U tohoto onemocnění můžeme žírné buňky najít ve svalovině střev, což vedlo k názoru, že se žírné buňky a jejich mediátory podílejí na rozvoji tohoto onemocnění.

Autoimunitní onemocnění

- Příklady autoimunitních onemocnění asociovaných s žírnými buňkami jsou: Diabetes I. typu, Guillain-Barré syndrom, bulózní pemfigoid, Sjögrenův syndrom, chronická kopřivka.

Kardiovaskulární onemocnění

- Chymáza i tryptáza uvolněné z žírných buněk indukují proteolytické změny v lipoproteinech s vysokou hustotou (HDL), což ve výsledku zasahuje do metabolismu cholesterolu a tvorbě pěnových buněk z makrofágů, které přispívají k tvorbě aterosklerotických plátů v krevních cévách.

Mastocytóza

- U onemocnění způsobených poruchou žírných buněk jako je například mastocytóza jsme schopni naměřit zvýšené hodnoty tryptázy. Toto měření má klinický význam.

Mastocytóza

Mastocytóza je onemocnění, které je charakterizováno zvýšeným počtem žírných buněk v kůži, kostní dřeni, trávicím systému, játech, slezině a lymfatických uzlinách. Není známo, kolik lidí trpí mastocytózou. Incidence tohoto onemocnění v populaci je v rozmezí 3 až 7 nových pacientů na milion obyvatel každý rok. Většina případů mastocytózy není smrtelná. Některé se projeví již v brzkém dětství a raném dospívání a jiné až v dospělosti. Některé případy mastocytózy, které se projevily v dětství odezní a často zasahují pouze pokožku. Závažnější jsou pak případy, které se projeví až v dospělosti. Jedná se často o chronický průběh a onemocnění zasahuje nejen pokožku, ale projevuje se systémově.

Mastocytóza představuje heterogenní skupinu onemocnění, která je charakterizována abnormálním růstem a akumulací žírných buněk v tkáních. Abnormální růst se může objevit jen v jednom typu tkáně nebo i ve více tkáních současně. Kožní i systémová forma mastocytózy jsou asociovány s proliferací a akumulací klonu žírných buněk. Kožní forma je charakterizována nepřítomností klonální populace žírných buněk v dýchacím a svalovém systému. Při systémové mastocytóze dochází k akumulaci žírných buněk v několika orgánech, avšak kontaminace klonálními buňkami povětšinou nepozorujeme v plicích ani ledvinách a plicní symptomy nebývají signifikantní.⁽³⁹⁾

Systémová mastocytóza je více závažná forma, která se vyskytuje převážně v dospělosti. Má mnoho symptomů z nichž nejčastějším jsou kožní léze. Mezi další symptomy patří viscerální bolest orgánů, bolest kostí, průjem a zvracení, ztráta hmotnosti a kardiovaskulární poruchy.

U systémové mastocytózy většinou detekujeme zvýšené hladiny tryptázy, avšak jsou i případy, kdy ke zvýšení tryptázy nedochází. V případě kožní formy mastocytózy jsou většinou hladiny tryptázy v normě. U kožní mastocytózy je nutné provádět pravidelný screening, protože existuje riziko rozvoje více závažné formy systémové mastocytózy.^(39–42)



Podle WHO můžeme rozoznat mnoho variant mastocytózy. Jejich přehled naleznete zde.⁽⁴⁰⁾ Mastocytóza se projevuje jako velmi komplexní onemocnění s různými klinickými příznaky.

Níže naleznete detailní WHO klasifikaci kožní i systémové formy mastocytózy spolu s klinickými kritérii systémové mastocytózy.⁽⁴³⁾

Fig 9. Typická polymorfní makulopapulární kožní forma mastocytózy u dětí/urticaria pigmentosa, která se projevuje červeno-hnědými makulami a přítomností mírného povlaku na trupu a končetinách⁽⁴³⁾. (Knut Brockow)

WHO klasifikace mastocytózy 2016

CM (kožní mastocytóza)	MPCM = UP (makulopapulární kožní mastocytóza = urticaria pigmentosa) DCM (difúzní kožní mastocytóza) Mastocytom kůže (cutaneous mastocytoma)
SM (systémová mastocytóza)	ISM (indolentní systémová mastocytóza) SSM (doutnající systémová mastocytóza) SM s AHN (systémová mastocytóza asociovaná s hematologickými onemocněními, která nevycházejí z žírných buněk) ASM (agresivní systémová mastocytóza) MCL (leukémie z žírných buněk)
MC sarkom	

* Valent P et. al. Mastocytosis: 2016 Aktualizováno z WHO classification and novel emerging treatment concepts. Blood. 2017;129(11):1420-1427.

Hlavní kritéria

Přítomnost multifokálních denzních agregátů s více jak 15 žírnými buňkami detekovatelnými barvením na tryptázu nebo jiným specifickým barvením v kostní dřeni nebo jiných orgánech (vyjma kůže).

Vedlejší kritéria

1) Atypická morfolgie nebo větvenovitý tvar u více jak 25 procent žírných buněk v kostní dřeni nebo jiných orgánech (vyjma kůže).

2) Molekulárně genetická analýza c-kit s mutací v 816 kodonu (Asp816Val) v buňkách kostní dřene, krve nebo jiných orgánech, vyjma kůže. (uvedeno níže v tomto manuálu).

3) Buňky kostní dřene nebo jiných orgánů (vyjma kůže) exprimující povrchový CD2, CD25 samostatně nebo jejich kombinaci.

4) Hladiny sérové tryptázy vyšší než 20 ng/ml. (Toto kritérium neplatí pro pacienty s AHNMD).

(WAO http://www.worldallergy.org/professional/allergic_diseases_center/mastocytosis/#table1)

Mastocytóza jakožto komplexní onemocnění může být asociována s osteopenií a osteoporózou. Patologická lámavost kostí nebo osteoporóza patří v některých případech k symptomům, které indikují manifestaci mastocytózy. Bolest kosterních svalů je také jednou z indikací mastocytózy. Ze studie, která zahrnuje 362 pacientů s mastocytózou, 54 % trpělo nějakou formou bolesti a 18 % pociťovalo, že bolest je nesnesitelná.⁽⁴⁰⁾

Mezi další orgány, které jsou při agresivní formě systémové mastocytózy velmi často zasaženy patří játra, slezina a lymfatické orgány. Ve studii 41 pacientů s mastocytózou, 61 % trpělo onemocněním jater, kde 24 % mělo hepatomegalii se zvýšenou hodnotou jaterních enzymů.⁽⁴⁰⁾

Symptomy vyvolané mediátory žírných buněk

Žírné buňky obsahují mnoho sekrečních granul s proteázami. Nejvíce zastoupenou proteázou uvolňovanou z žírných buněk je endopeptidáza tryptáza. Celková hladina tryptázy v séru se skládá z tryptázy uvolněné z granul žírných buněk po jejich aktivaci a z nezralé (pro)tryptázy, která je průběžně uvolňována žírnými buňkami. Pacienti s mastocytózou mají ve většině případů zvýšenou hladinu sérové tryptázy a histaminu. Spolu se symptomy zmíněnými výše v tomto manuálu je dalším významným symptomem abdominální bolest následovaná nevolností, průjmem a zvracením. Průjem většinou nijak nesouvisí se střevní hypersekrecí, ale je vyvolán změnou střevní sekrece, změnami struktur v mukóze a hypermobilitou⁽⁴⁰⁾. Tyto symptomy jsou vyvolány mediátory, které jsou ve zvýšené míře uvolňovány z žírných buněk.

Někteří pacienti hlásí opakující se epizody jednoho nebo kombinaci symptomů a diagnostika ukazuje na příznaky anafylaxe. Přítomnost, četnost a závažnost těchto symptomů nelze předvídat, avšak tyto epizody jsou mnohem častější v případě systémových onemocnění. Závažná nebo dlouhotrvající anafylaxe se může projevit u pacientů s rozsáhlým onemocněním. Tyto IgE mediované epizody předpokládáme po senzibilizaci včelím bodnutím, u senzibilizovaných pacientů nebo u pacientů senzibilizovaných potravními nebo lékovými alergeny.⁽³⁸⁾

Anafylaxe

První popis definice anafylaxe pochází z roku 1902 od Richeta a Portiera, kde opakovaná injekce cizí substance psům vyprovokovala systémovou reakci, která vedla k jejich smrti za pár minut. Richet a Portier prokázali, že druhá injekce nematocysty *Physalia* vyprovokovala reakci, která vedla k smrti velkého pokusného psa jménem Neptunus. Psi však netrpěli žádnými projevy, pokud dostali pouze jednu injekci této nematocysty.⁽⁴⁴⁾

Anafylaxe je definována jako systémová reakce, která zasahuje více orgánů. Souvisí s procesy, které se odehrávají v žírných buňkách a bazofilech a vedou k uvolnění a následné systémové distribuci jejich mediátorů. Porozumět mechanismu aktivace a degranulace žírných buněk je klíčový krok, pokud chceme porozumět mechanismu vzniku anafylaxe. Nedávné studie identifikovaly centrální regulační mechanismy signalizačních kaskád a potenciální terapeutické cíle.⁽⁴⁵⁾

Ačkoliv všechny detaily týkající se přeměny lokální reakce na systémovou anafylaxi ještě nejsou plně pochopeny, existuje detailní přehled vzniku celého procesu a je velmi dobře popsán.⁽⁴⁵⁾ WAO zveřejnila sjednocující postup diagnostiky a léčby anafylaxe. Na závěr dodáváme, že je potřeba provést další výzkum na poli anafylaxe k úplnému porozumění detailům a mechanismům vzniku anafylaktické reakce.⁽⁴⁶⁾

Pro porozumění mechanismům vzniku anafylaxe je nutné porozumět regulaci intracelulárních procesů, které vedou k uvolnění anafylaktických mediátorů. Rychlá degranulace žírných buněk, bioaktivní sloučeniny a tvorba metabolitů kyseliny arachidonové (lipidové mediátory), produkce cytokinů a chemokinů jsou vyvolány aktivací intracelulárních signalizačních kaskád. Aktivace a uvolnění mediátorů z žírných buněk je většinou závislá na navázání IgE na vysokoafinitní receptor FcεRI. Po vazbě antigenu na IgE, dochází k agregaci receptoru a zahájení signalizačních kaskád v buňce.

Také změny v koncentraci vápenatých iontů hrají důležitou roli v degranulaci. Zvýšená koncentrace vápenatých iontů aktivuje vápenaté kanály, které způsobí degranulaci žírných buněk.⁽⁴⁵⁾

Mediátory jako jsou histamin, tryptáza, leukotrieny, prostaglandiny, TNF-α, a PAF, které jsou synteti-

zovány žírnými buňkami nebo bazofily se účastní manifestace anafylaxe.⁽⁴⁷⁾

Při „nealergické“ anafylaxi jsou klinické příznaky přímým důsledkem farmakologické nebo toxické stimulace žírných buněk a bazofilů. Tento stimul vede k uvolnění zánětlivých mediátorů. Nealergická anafylaxe nezahrnuje imunologické mechanismy, a proto předchází kontakt s jednou z výše zmíněných substancí není nutný.⁽⁴⁸⁾

Anafylaxe je charakterizována jednou nebo více z následujících podmínek:

- systémový, potenciálně život ohrožující stav
- alergický nebo nealergický průběh
- rychlá, nepředvídatelná, generalizovaná imunitní reakce
- uvolnění potenciálních vasoaktivních mediátorů z žírných buněk a bazofilů
- může se vyskytnout v rámci sekund až minut po expozici spouštěče

Známky a symptomy anafylaxe	
Svědění spojivek	
Rýma	
Svědění rtů, jazyka nebo svědění v krku	
Centrální nervový systém	<ul style="list-style-type: none"> • malátnost • ztráta vědomí • zmatenost • bolest hlavy • úzkost
Srdce a cévní systém	<ul style="list-style-type: none"> • zrychlený nebo zpomalený tep • nízký krevní tlak
Dýchací systém	<ul style="list-style-type: none"> • dušnost • pískání nebo stridor • chrapot • bolestivé polykání • kašel
Pokožka	<ul style="list-style-type: none"> • kopřivka • svědění • zčervenání
Trávicí systém	<ul style="list-style-type: none"> • bolest břicha a křeče • průjem • zvracení
Bolest pánve	
Ztráta kontroly nad močovým měchýřem	

Fig 10. Známky a symptomy anafylaxe

V praxi se anafylaxe může projevit níže uvedenými příznaky:

- Pokud nastane některý ze tří následujících příznaků během několika minut nebo hodin po expozici spouštěče existuje riziko vzniku anafylaxe.

- 1) Kožní nebo mukózní projevy a dýchací potíže nebo snížení krevního tlaku
- 2) Dva nebo více z následujících symptomů po setkání s potenciálním alergenem
 - a. kožní nebo mukózní projevy
 - b. dýchací potíže
 - c. nízký krevní tlak
 - d. symptomy zasahující trávicí trakt
- 3) Snížení krevního tlaku po setkání se známým alergenem

- Kožní projevy zahrnují: kopřivku, svědění nebo otok jazyka.
- Dýchací potíže mohou zahrnovat: dušnost, stridor, snížení hladiny kyslíku.
- Individuální nízký krevní tlak je definován jako snížení o více jak 30 % běžného krevního tlaku. U dospělých jedinců je systolický krevní tlak snížen na méně než 90 mmHg.

Spouštěče anafylaxe

Mezi nejčastější spouštěče anafylaxe patří hmyzí jedy, léky a potraviny.

Běžné spouštěče anafylaxe jsou léky, hlavně penicilin, potraviny jako jsou burské oříšky a ostatní ořechy (pekanové, mandle, lískové nebo kešu), pšenice (hlavně u dětí), ryby, mořské plody, mléko a vejce.

Včelí, vosí nebo sršňí bodnutí, mravenčí kousnutí. Mezi méně časté spouštěče patří latex a léky užívané k anestezii nebo NSAID medikace (46,51).

Anafylaxe u pacientů s mastocytózou

Z review od Brackowa a Metcalfa⁽³⁸⁾ vyplývá, že dospělí pacienti s mastocytózou mají prevalenci anafylaxe ve 49 %, což je hodnota, která je výrazně zvýšená oproti celkové populaci. U dětských pacientů s kožní formou mastocytózy je prevalence vzniku anafylaxe výrazně nižší (6 % až 9 %).

U dospělých pacientů se systémovou mastocytózou je zvýšená pravděpodobnost vzniku anafylaxe v porovnání s dospělými pacienty, kteří trpí pouze kožní formou mastocytózy. U dětí je riziko vzniku anafylaxe omezeno na pacienty s rozsáhlými kožními příznaky a zvýšenou hladinou tryptázy v séru. Nejčastější a nejzávažnější symptomy anafylaxe u pacientů s mastocytózou jsou snížení krevního tlaku a tachykardie. Symptomy jako závrať, dušnost, nevolnost a průjem jsou typické pro pacienty trpící mastocytózou. Spouštěče anafylaxe u pacientů s mastocytózou jsou stejné jako u anafylaxe u zdravých jedinců. Rizikové faktory pro vznik anafylaxe jsou zvýšená hladina tryptázy v séru a indolentní varianta systémové mastocytózy.^(38, 50)

Anafylaxe způsobená alergií na léky a v perioperačním období

Anafylaxe, která se objeví v souvislosti s operací nebo použitím anestezie se může projevit jinak, než běžná anafylaxe. Symptomy a známky jsou často podobné běžné anafylaxi, ale mohou být maskovány podanou anestezii nebo rozsáhlou bloádou. Kožní projevy jako jsou zčervenání, kopřivka a otok jsou běžné, avšak v případě anestezie nejsou vidět, protože je pacient zakryt chirurgickou přikrývkou.⁽⁴⁸⁾

Hypotenze a tachykardie jsou typické symptomy, které se projeví v kardiovaskulárním systému a mohou velmi rychle vést k vážné arytmii až kolapsu kardiovaskulárního systému. Jsou to nejčastější a nejzávažnější symptomy a v některých případech je kolaps kardiovaskulárního systému jediným symptomem. Respirační symptomy jako je bronchospasmus vyvolaný anestezii jsou méně časté, objevují se však častěji u pacientů s astmatem. Existuje mnoho různých diagnostických postupů anafylaxe v perioperačním období. Jedním z velmi užitečných markerů anafylaxe v předoperačním období je tryptáza.

Anafylaxe způsobená alergií na hmyzí bodnutí

Alergie na hmyzí bodnutí tvoří více jak 10 % spouštěčů anafylaxe v běžné populaci. Onemocnění žírných buněk jako je mastocytóza jsou asociovány s anafylaxi vyvolanou hmyzím bodnutím, a proto by při hledání spouštěče anafylaxe mělo být zvažováno.⁽⁵²⁾

Měření tryptázy

U pacientů s alergií na jed blanokřídých je zvýšená hladina tryptázy asociovaná s těžkou anafylaxií. Smrtelné reakce na hmyzí bodnutí byly reportovány u pacientů s mastocytózou, převážně při vysazení protijedové imunoterapie. Během specifické protijedové imunoterapie je většina pacientů s mastocytózou chráněna proti závažným reakcím. Na základě těchto pozorování je imunoterapie doporučovaná pro pacienty s mastocytózou a alergií na jedy.^(46,53) U všech pacientů, kteří mají anafylaxi vyvolanou hmyzím bodnutím by se měla stanovit hladina tryptázy v séru. Hodnota okolo 11,4 mikrog/l je často vyvolána přítomností mastocytózy a naznačuje možný rozvoj těžké anafylaxe při příštím bodnutí.^(39,54)

Klíčové body z výzkumu hmyzího bodnutí a anafylaxe jsou následující⁽⁵⁵⁾:

- Anafylaxe po hmyzím bodnutí se objeví u dospělých ve 3 % a u dětí v méně než 1 % případů
- Anafylaxe vyvolaná hmyzím bodnutím se u dětí projevuje méně, avšak s přibývajícím věkem se po bodnutí může vyskytnout těžká anafylaxe
- Diagnostické testy mohou potvrdit senzibilizaci hmyzím jedem, ale nejsou dostačující pro predikci vzniku anafylaxe vyvolané hmyzím bodnutím
- Existuje asociace mezi hmyzím bodnutím a mastocytózou, zejména pokud se po bodnutí objeví hypotenze
- Protijedová imunoterapie je velmi efektivní prevence vzniku anafylaxe po hmyzím bodnutí a vede k vzniku tolerance u pacientů léčených alespoň po dobu 5 let

Zvýšené hladiny tryptázy můžeme nalézt u některých pacientů s myelodysplastickým syndromem, chronickou myelocytární leukémií, myeloproliferativní neoplazií, akutní myeloidní leukémií, chronickou myeloidní leukémií a chronickou eozinofilní leukémií.

U pacientů s hematologickými onemocněními, jako je reaktivní leukocytóza/trombocytóza nebo idiopatická cytopenie nalézáme hladiny sérové tryptázy >15 ng/ml (>99 percentil zdravých kontrol). Týká se to také skupiny myeloidních neoplazií jako jsou SM, MDS, MPN, AML, CML and CEL. U pacientů s lymfoidními neoplaziemi, jako jsou lymfomy a mnohočetný myelom jsou většinou hodnoty tryptázy v normě.⁽⁵⁶⁾

Normální hladiny tryptázy většinou nalézáme u pacientů s nehematologickými onemocněními jako jsou reaktivní leukocytóza/trombocytóza nebo idiopatická cytopenie zahrnující i pacienty s idiopatickou cytopenií nejasného významu.⁽⁵⁷⁾ Vysoké procento pacientů s myeloidními onemocněními má zvýšené hladiny tryptázy. Jedná se o SM, akutní myeloidní leukémie (AML), myelodysplastický syndrom (MDS), chronická myelomonocytická leukémie (CMML), chronická myeloidní leukémie (CML), achronická eozinofilní leukémie (CEL). Ne všichni pacienti, kteří patří do těchto skupin hematologických malignit mají zvýšenou hladinu tryptázy. Více jak 90 % pacientů se SM má výrazně zvýšenou hladinu sérové tryptázy. Okolo 30–40 % všech pacientů s AML a 30–35 % všech pacientů s CML má zvýšenou hladinu tryptázy. Hladina tryptázy u těchto pacientů je >15 ng/ml.⁽⁵⁶⁾

Metoda měření hladiny cirkulující tryptázy

- Anti-tryptáza, která je kovalentně navázaná na pevný podklad reaguje s tryptázou ve vzorku séra pacienta.
- Po promytí se přidá protilátka proti tryptáze. Vytvoří se komplex protilátka-tryptáza. Na přidávanou protilátku je navázaný enzym.
- Po inkubaci se nenavázaná protilátka s enzymem odmyje. Komplex je následně inkubován se substrátem pro enzym.
- Po zastavení reakce se změří fluorescence eluátu. Intenzita fluorescence je přímo úměrná koncentraci tryptázy ve vzorku séra pacienta.

ImmunoCAP Tryptase je in vitro test, který slouží k určení celkové koncentrace tryptázy v lidském séru.

Test zahrnuje všechny inaktivní proformy alfa a beta-tryptázy a enzymaticky aktivní zralou beta-tryptázu. ImmunoCAP Tryptase test je možno použít pro měření na přístrojích: Phadia 100, Phadia 200, Phadia 250 a Phadia 1000.

Proformy tryptázy jsou kontinuálně uvolňovány z žírných buněk do krevního oběhu, a proto jejich koncentrace koreluje s množstvím žírných buněk. Nejnižší detekční limit je 1 mikrog/l, reprodukovatelnost mezi jednotlivými testy je velmi vysoká. Ve zdravé populaci jsou hodnoty tryptázy v séru od 3,4 mikrog/l (geometrický průměr) s horním 95 % percentilem odpovídajícím 11,4 mikrog/l. U pacientů se systémovou mastocytózou jsou vyšší než 20 mikrog/l a odhaduje se, že hodnoty 10–20 mikrog/l odrážejí zvýšení počtu a aktivity žírných buněk a indikují zvýšené riziko vzniku anafylaktické reakce, pokud je vyvolána vnějšími vlivy (alergie). Zdraví pacienti mohou mít bazální hladinu až do 20 µg/l.

Referenční hodnoty pro děti od 6 měsíců do 18 let jsou podobné hodnotám pro dospělé. Medián je 3,5 ng/ml. Hodnoty pro novorozence mladší 6 měsíců mají medián 6,1 ng/ml.⁽³⁹⁾

Normální hladina tryptázy

Studie se 124 zdravými jedinci (56 mužů a 68 žen) byla provedena na měřicím přístroji Phadia 250. Věk účastníků studie byl 3–67 let pro muže a 4–63 let pro ženy.

Následující výsledky za použití ImmunoCAP Tryptase jsou: Geometrický průměr 4 µg/l
95 horní percentil 11,0 µg/l

U pacientů se systémovou mastocytózou byly hodnoty tryptázy trvale zvýšeny nad hodnoty 20 µg/l.

Hladiny tryptázy 10–20 µg/l odrážejí zvýšenou aktivitu žírných buněk a zvyšují pravděpodobnost vzniku opakované vážné anafylaktické reakce.

U závažných případů, kdy dojde ke zvýšení tryptázy musí být identifikován spouštěč reakce.

Zvýšení hladiny tryptázy obvykle značí zvýšenou proliferaci žírných buněk nebo zvýšené uvolňování mediátorů žírných buněk. Přechodné zvýšení hladin tryptázy naznačuje, že se jedná o probíhající alergickou nebo anafylaktickou reakci. Dlouhodobě zvýšené hladiny tryptázy mohou indikovat mastocytózu.

Žírné buňky	Celková tryptáza ve zdraví a nemoci		Hladina tryptázy
Klidové	Proformy α-tryptáza β-tryptáza	Bazální hodnota zdravých jedinců	1–1,5 µg/l
Rizikovi pacienti	Zvýšení bazální hladiny Skrutá mastocytóza		>10 µg/l
Zvýšené hladiny	Proformy α-tryptáza β-tryptáza	1–1,5 µg/l	>20 µg/l >>200 µg/l
Aktivované	Zralé β-tryptáza Proformy α-tryptáza β-tryptáza	Anafylaktická reakce Závažná nebo smrtelná systémová reakce	Přechodné zvýšení hodnot

Fig 11. Hladiny celkové tryptázy u zdravých jedinců a různých onemocnění.^(70, 71, 72)

Kdy měřit

Hladiny tryptázy jsou přechodně zvýšeny u pacientů se systémovou anafylaxií a protože je uvolňována pomaleji než histamin, tak jsou její maximální hodnoty měřitelné mezi 15 až 120 minutami po propuknutí anafylaxe. Poločas rozpadu tryptázy jsou 2 hodiny.⁽⁶⁹⁾ Většinou můžeme zvýšené hladiny tryptázy detekovat i po 3 až 6 hodinách po prodělané anafylaxi a její hodnoty se vrací na základní hladinu po 12 až 24 hodinách. U velmi závažných případů se její hladina ustálí i po více než 24 hodinách.⁽⁶⁹⁾ Pokud jsou hladiny tryptázy zvýšené i po 24 hodinách, je nutné odebrat další patientský vzorek po 1 až 2 týdnech od prvního odběru. Tento druhý odběr slouží k určení základní hodnoty tryptázy u daného pacienta. Po sobě následující měření během anafylaxe a porovnání se základními hodnotami pacienta je doporučeno – viz. níže.

Tryptáza- monitorování při alergii na hmyzí jedy

Pokud je bazální (klidová) hodnota tryptázy zvýšená u pacientů s alergií na hmyzí jedy, dochází u nich s větší pravděpodobností ke vzniku vážné anafylaktické reakce.⁽⁵⁸⁾ Prevalence systémové anafylaxe vyvolané hmyzím bodnutím je okolo 3 %. Více jak 25 % pacientů s vážnou alergií na hmyzí jed má zvýšenou bazální hladinu tryptázy. Význam diagnostiky těchto pacientů je velmi důležitý, protože mají predispozici k rozvoji vážné systémové anafylaxe. Zvýšené hodnoty tryptázy mohou, ale nemusí být způsobeny současnou přítomností mastocytózy.^(59, 60)

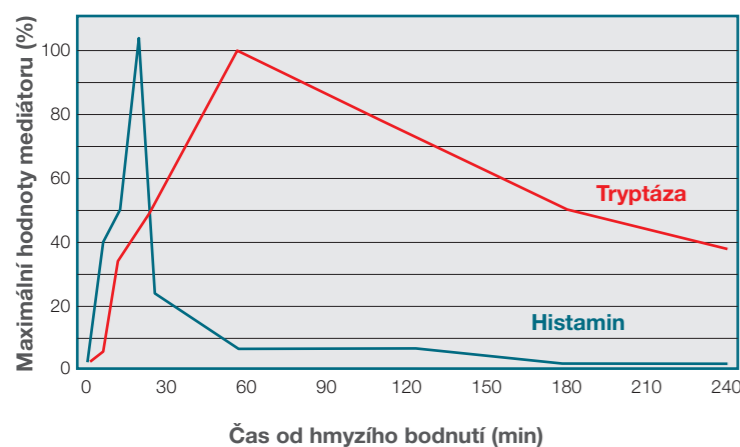


Fig 12. Kinetika hladin tryptázy a histaminu v séru do 4 hodin po expozici hmyzím jedem.⁽⁶⁹⁾

Stanovení tryptázy při lékové alergii

Závažné reakce během anestezie a operace nejsou běžné. Avšak pokud se vyskytnou je velmi důležité identifikovat mechanismus jejich vzniku a základní příčinu k zahájení preventivních opatření. Při alergii na léky by měl být proveden test na tryptázu a výsledek má být porovnán s klidovými hodnotami. Tryptáza žírných buněk je užitečným markerem možné anafylaktické reakce během anestezie. Zvýšené hladiny tryptázy z žírných buněk s největší pravděpodobností značí imunitní reakci. Pacienti se zvýšenou hladinou tryptázy žírných buněk musí být vyšetřeni na alergii. Pacienti bez zvýšené hladiny tryptázy by měli být dále vyšetřeni, pokud klinický obraz odpovídá závažné anafylaxi.

Zvýšená výchozí hladina tryptázy naznačuje zvýšenou aktivitu žírných buněk. Tento stav je rizikovým faktorem pro vznik závažné reakce během operace. K potvrzení anafylaktické reakce je velmi důležité měřit přechodně zvýšenou hladinu tryptázy během perioperační fáze. Toto vyšetření je dobře zavedeno.

Měření přechodně zvýšené hladiny tryptázy okamžitě po reakci může napomoci při identifikaci, zda byla reakce vyvolána aktivací žírných buněk.^(48, 61–63)

Pokud je to možné doporučuje se následně provést některý z alergologických testů, jako je titr IgE, kožní testy nebo provokační testy, které poslouží k identifikaci spouštěče reakce.⁽⁴⁶⁾

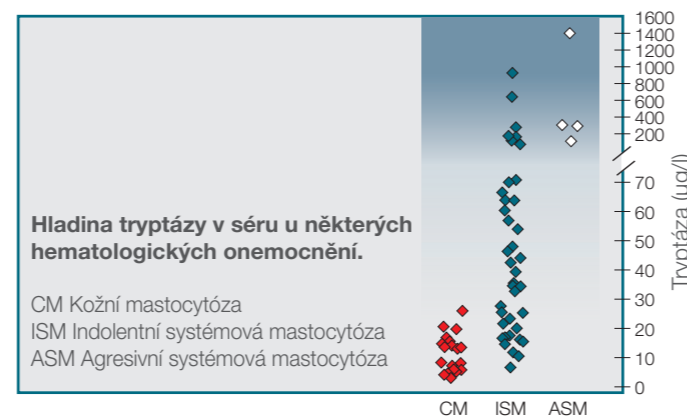


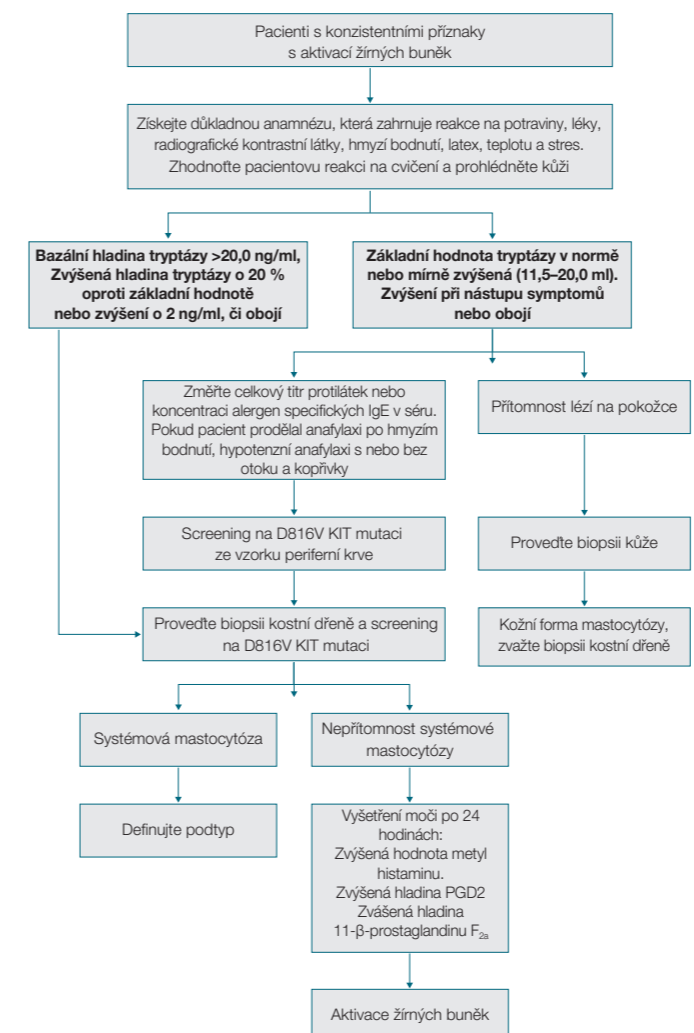
Fig 13. Relativní koncentrace tryptázy u různých forem mastocytózy (převzato z⁽⁶⁴⁾ a EAACI tréninkového kurzu).

Stanovení tryptázy při mastocytóze

Sérové koncentrace tryptázy mohou být při mastocytóze dramaticky zvýšené.⁽⁶⁴⁾

Pokud se projeví příznaky a současně došlo ke zvýšení tryptázy během těchto příznaků, mělo by se měření tryptázy provést znovu alespoň po 24 hodinách od odeznění příznaků. V případě anafylaxe se zvyšuje hladina beta tryptázy v séru a po odeznění příznaků se vrací na základní hodnotu. Pokud je základní hodnota tryptázy stále zvýšená, měli bychom zvážit podezření na mastocytózu. Navíc se doporučuje provést stanovení celkového titru protilátek a alergen-specifického sérového IgE k vyloučení alergického onemocnění. Stanovení protilátek by mělo být provedeno u pacientů s historií alergické reakce (vyvolané zejména hmyzím bodnutím), bez ohledu na to, jestli pacient trpí na systémovou mastocytózu.⁽³⁴⁾

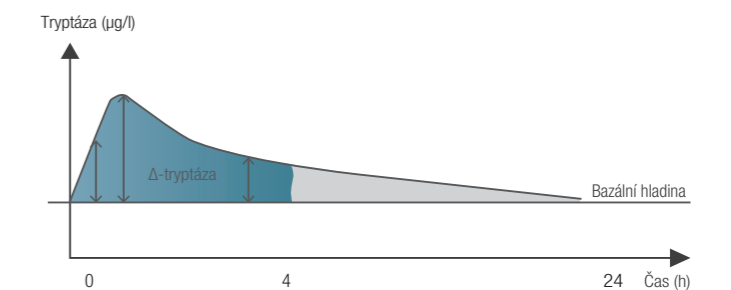
Doporučený postup pro evaluaci a diagnostiku mastocytózy⁽³⁴⁾:



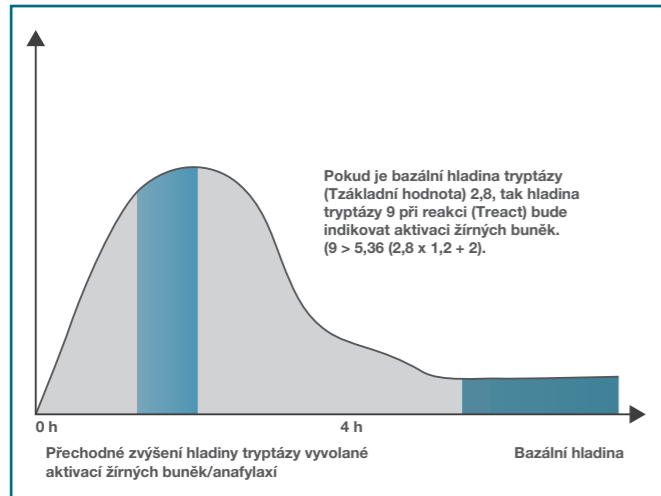
Porovnání k individuální bazální hladině Tryptázy

Měření hladiny tryptázy u jednotlivce během a po systémové alergické reakci nebo při anafylaxi je efektivní způsob potvrzení nebo vyloučení aktivace žírných buněk. Základní hodnoty tryptázy se liší mezi zdravou populací a pacienty, kteří jsou v riziku vzniku anafylaxe. Bylo prokázáno, že nejvyšší hodnoty tryptázy jsou výrazně vyšší u pacientů s anafylaxi vyvolanou léky v porovnání s pacienty s anafylaxi vyvolanou potravinovou alergií.⁽²²⁾ Bylo též dokázáno, že maximální hodnoty tryptázy se liší v závislosti na závažnosti anafylaktické reakce.⁽²²⁾

V případě, že chceme učinit co nejlepší diagnostiku anafylaxe, je vhodnější porovnat akutní hladinu tryptázy s hodnotou základní. Toto porovnání nám poskytne robustnější průkaz aktivace žírných buněk než akutní absolutní hodnoty tryptázy. Zvýšená hladina tryptázy ≥ 11.4 ng/mL nemusí značit aktivaci žírných buněk a ani normální hodnoty tryptázy nevylučují přítomnost anafylaxe.⁽²⁵⁾ U primárních onemocnění žírných buněk (mastocytóza a MCAS) jsou základní hodnoty tryptázy většinou zvýšené.⁽²⁶⁾ Na konsenzuální konferenci bylo ustanoveno, že pokud je hladina tryptázy zvýšená alespoň o 20 % základní hladiny tryptázy plus 2 ng/ml, je tato hodnota indikativní pro aktivaci žírných buněk.⁽⁹⁾ Pokud má pacient například základní hodnotu tryptázy 10 ng/ml, tak akutní hodnota tryptázy bude ≥ 14 ng/mL ($10 + 0,2 \cdot 10 + 2$ ng/mL). Akutní hodnota tryptázy však může být u některých pacientů nižší než 11,4 ng/ml.



Co zvážit při měření tryptázy a jejím přechodném zvýšení



- Přechodné zvýšení koncentrace tryptázy krátce (15 minut až 3 hodiny) po vážné reakci, jako je například anafylaxe je indikátorem aktivace žírných buněk.
- Hladina tryptázy se za normálních okolností vrátí na bazální hodnoty do 24-48 hodin po odeznění všech symptomů.
- Bazální hodnota tryptázy je u každého jedince poměrně stálá v čase.

Algoritmus: Tryptáza v čas reakce (Treact) > základní bazální hodnota tryptázy (Tzákladní hodnota) $\times 1,2 + 2$.

Důležité: Vzorek krve odebírat 1–3 hodiny po začátku reakce. Bazální hodnota tryptázy musí být stanovena ze vzorku krve odebraného nejméně 24 hodin od prvního odběru.

KAPITOLA 6

Praktické příklady využití měření sérové tryptázy v klinické praxi

Obecně o praktickém využití tryptázy

- Analýza je možná ze séra i z plazmy.
- Hodnoty jsou velmi stabilní v čase.
- Není potřeba speciálního zacházení se vzorkem před odesláním do laboratoře.
- Reprodukovatelné hodnoty u stejného pacienta.
- Výsledek není k dispozici v akutní fázi

Kazuistika č. 1 – Tryptáza v perioperativním vyšetření

Padesátiletý pacient před laparoskopickou operací kýly. Podání anestezie proběhlo bez komplikací. Patnáct minut po zavedení močového katetru při operaci se u pacienta objevil zrychlený pulz a snížení krevního tlaku. Chirurg popsal, že pokožka pacienta byla velmi červená. Anesteziolog si po odstranění operační příkrývky všiml generalizovaného zarudnutí pokožky. Protože se jednalo o podezření na anafylaxi, pacient byl léčen adrenalinem a tekutinami pro stabilizaci stavu. Po dokončení operace se stanovila celková hladina tryptázy. Tryptáza byla stanovena 1½ hodiny od propuknutí symptomů.

Pacient byl poslán na speciální perioperativní alergologické vyšetření. Hladina tryptázy 1½ hodiny po reakci byla 10,8 µg/l. Sérová hladina tryptázy při dalším odběru po 8 hodinách po reakci byla 3,1 µg/l.

Bazální hladina tryptázy 2,6 µg/l byla naměřena ze vzorku krve odebraného 5 týdnů po anafylaktické reakci. Za pomoci absolutního normálního horního limitu 11,4 µg/l nebyla hladina tryptázy během reakce zvýšená. Avšak i nepatrné zvýšení může být důležité. Proto byl použit algoritmus pro identifikaci malých relevantních zvýšení v koncentraci tryptázy. Algoritmus je založen na porovnání naměřené hodnoty v čase reakce s pacientovou bazální klidovou hodnotou tryptázy.

Algoritmus: Tryptáza v čas reakce > bazální klidová hodnota tryptázy $\times 1,2 + 2$

Při srovnání hladin tryptázy měřených 1½ hodiny po reakci s bazální hodnotou tryptázy a použitím algoritmu vyšla změna v hladině tryptázy při reakci jako signifi-

kantní a klinicky významná:

Při použití hladiny tryptázy obdržené 1½ hodiny po reakci: $10,8 > 2,6 \times 1,2 + 2 = 5,12$

Toto diskrétní navýšení může naznačovat IgE zprostředkovanou degranulaci žírných buněk.

Následující alergologické testy odhalily IgE zprostředkovanou alergii na chlorhexidin. Pacient byl upozorněn na možná rizika spojená s jeho užitím v budoucnu.

Při porovnání hladiny tryptázy naměřené 8 hodin po anafylaktické reakci a jejím porovnání s bazální hodnotou nebylo diagnostikováno signifikantní zvýšení.

Při použití hladiny tryptázy obdržené 8 hodin po reakci: $3,1 < 2,6 \times 1,2 = 5,12$

Tato kazuistika ukazuje, jak důležitý je odběr krve pro získání sérové hladiny tryptázy při podezření na alergickou reakci co nejdříve je to možné.

K zapamatování

Stanovení hladin tryptázy v séru je užitečné při diagnostice IgE zprostředkované alergické reakce v perioperativním vyšetření. Zvýšení hladiny tryptázy, které je stále v rozmezí fyziologických hodnot může být klinicky relevantní. Proto by měla být hodnota tryptázy získaná při podezření na alergickou reakci vždy srovnána s pacientovou bazální hladinou. Bazální hladina u pacienta je většinou velmi reprodukovatelná.

Optimální časové intervaly pro odběr krve pro měření tryptázy je 15 minut – 3 hodiny po reakci. Vzorky odebrané později již nemusí mít výpovědní hodnotu. Normální hladina tryptázy nevyklučuje IgE zprostředkovanou alergickou reakci, pokud jsou přítomné klinické symptomy. V takových případech je doporučeno provést alergologické testy.

Kazuistika č. 2 – Tryptáza na pohotovosti

Třicetiletá pacientka se slabostí a generalizovaným svěděním, kopřivkou a sípáním 20 minut po steroidní injekci. Přítomný lékař měl podezření na anafylaxi a podal pacientce intramuskulárně adrenalin. Pacientka byla převezena na pohotovost na další pozorování.

Sérová hladina tryptázy naměřená hodinu po rozpoznání symptomů byla 35,7 µg/l.

Pacientka byla poslána na alergologické testy. Bazální hladina tryptázy naměřená o 4 týdny později byla 4,5 µg/l.

Signifikantní zvýšení tryptázy během anafylaktické reakce může znamenat IgE zprostředkovanou degranulaci žírných buněk.

Alergologické testy potvrdily vzácnou IgE zprostředkovanou alergii na carboxymethylcelulózu, pomocnou látku přítomnou ve steroidních injekcích. Tato pomocná látka se vyskytuje v lécích, kosmetice a produktech pro domácnost.

Po nepříjemném zážitku s anafylaktickou reakcí měla pacientka neustálé obavy týkající se možné re-expozice s pomocnou látkou, která by jí mohla způsobit další život ohrožující anafylaktickou reakci. Jedno ráno asi 20 minut po užití medikace, kterou používala každý den, cítila slabost, palpitace a dušnost. Pacientka si přivolala ambulanci a byla odvezena na pohotovost. Na pohotovosti si všimli, že má úzkost, avšak její životní funkce byly stabilní. Pacientka neměla žádnou vyrážku ani nesípala. Primární příznaky ustaly, když jí nemocniční personál ujistil, že se nejedná o alergickou reakci. Doktoři jí informovali, že se nejspíš jednalo o záchvat úzkosti s přidruženou hyperventilací. Sérová hladina tryptázy naměřená hodinu po objevení se symptomů byla 4,3 µg/l. Nejednalo se tedy o zvýšení hladiny tryptázy. Toto měření vyloučilo, že by se mohlo jednat o degranulaci žírných buněk a následnou alergickou reakci.

K zapamatování:

Stanovení hladin sérové tryptázy je užitečné při potvrzení IgE zprostředkované degranulace žírných buněk. Může se také použít k prokázání nedostatečného zvýšení sérové tryptázy v případech, kdy je alergický mechanismus méně pravděpodobný.

Je důležité zdůraznit, že normální hladiny sérové tryptázy nevylučují IgE zprostředkovanou alergickou reakci. Pokud jsou klinické symptomy jednoznačné, je doporučeno vždy udělat alergologické testy.

Kazuistika č. 3 – Tryptáza jako diagnostický marker pokud je diagnóza nejasná

Šedesátipětiletý pacient byl v plné anestezii při operaci fraktury levé ruky. Když byl převezen na pokoj, došlo u něj po 15 minutách po operaci, k výraznému snížení krevního tlaku a srdeční zástavě. Nebyly přítomny žádné respirační ani kožní projevy. Pacient byl po pár minutách úspěšně resuscitován a byl převezen na kardiologické oddělení s podezřením na akutní koronární příhodu. Alergická reakce byla považována za méně pravděpodobnou z důvodu nedostatku kožních a respiračních symptomů a protože nebyly podány žádné léky bezprostředně před operací. Protože však alergická reakce nemohla být plně vyloučena, odebral anesteziolog vzorek krve pro stanovení sérové hladiny tryptázy hodinu po reakci. Ukázalo se, že hladina tryptázy byla velmi zvýšená a to na hodnotu 69,4 µg/l. Pacientovi byly provedeny alergologické testy a jeho bazální hladina tryptázy byla 5,8 µg/l. Signifikantní zvýšení hladiny sérové tryptázy během reakce napovídá na IgE zprostředkovanou degranulaci žírných buněk.

Následující alergologické testy ukázaly, že pacient měl alergickou reakci na kostní cement použitý při operaci jeho ruky 30 minut před propuknutím reakce.

K zapamatování:

Sérová hladina tryptázy je užitečný diagnostický marker dokonce i když je diagnóza anafylaxe nejistá.

Kazuistika č. 4 – Tryptáza v anafylaxi vyvolané hmyzím jedem

Šedesátiosmiletý muž ucítil bodnutí do pravé paže během sekání trávníku. Všiml si vosy a odehnal ji. Po několika minutách ucítil svědění, které se šířilo do celého těla. Cítil závrať, a tak si sedl. Přivolal svou ženu, která ho našla v polobezvědomí ležet na trávě. Zavolala tedy sanitku, která dorazila během několika minut.

Když sanitka přijela, již měl oteklou tvář a ruce

a kopřivku všude po těle. Záchranář pacientovi okamžitě podal intramuskulárně adrenalin. Po druhé dávce adrenalinu nabyl pacient vědomí a byl převezen na pohotovost. V nemocnici mu byl naměřen nízký krevní tlak a byly použity přípravky běžně používané k léčbě anafylaxe: adrenalin, tekutiny, antihistaminika a steroidy. Sérová hladina tryptázy byla měřena dvě hodiny od prvního projevu symptomů. Pacient byl stabilizován po dobu několika následujících hodin. Druhý den byl z nemocnice propuštěn s adrenalinovým auto-injektorem.

Hladina tryptázy v séru 2 hodiny po reakci byla 78,3 µg/l.

Alergologické testy potvrdily alergii na vosí jed s pozitivním kožním testem a IgE specifickými na vosí jed.

Bazální hladina tryptázy byla mírně zvýšená na 14,6 µg/l. Protože zvýšená bazální hladina tryptázy je považována za rizikový faktor pro vznik závažné anafylaktické reakce vyvolané alergií na hmyzí jed, byla pacientovi naordinována imunoterapie a bylo mu doporučeno, aby u sebe nosil adrenalinový auto-injektor.

K zapamatování:

Při alergii na hmyzí jed je stanovení bazální hladiny tryptázy dobrým predikčním markerem pro vznik možné anafylaktické reakce v budoucnu. Protože hladina tryptázy dosahuje maxima 1–2 hodiny po reakci, pro stanovení bazální hladiny by měl být odběr krve proveden, až bude pacient stabilizován.

Kazuistika 5 – Tryptáza u mastocytózy

Čtyřicetiletý muž podstoupil chirurgické odstranění žlučníku. Z nenadání u něj došlo k akutnímu snížení krevního tlaku, zrychlení tepu a generalizovanému zarudnutí kůže. Symptomy možné anafylaxe byly léčeny a operace byla dokončena. Vzorek krve byl odebrán 45 minut po propuknutí symptomů.

Pacient byl poslán na speciální perioperativní alergologické vyšetření. Byly mu udělány testy na všechny léky a substance, kterým byl vystaven během operace. Testy nepotvrdily žádnou přecitlivělost na léky. Hladina tryptázy po 45 minutách od propuknutí symptomů byla zvýšená na 46,8 µg/l. Pacientova bazální hladina tryptázy byla 11,2 µg/l, což je horní

limit bazální hodnoty. Protože nebyl identifikován žádný alergen, pacient byl poslán na testy na mastocytózu, kvůli mírně zvýšené hladině tryptázy při anafylaktické reakci.

Vzorek krve byl poslán na analýzu KIT816 mutace. Test vyšel pozitivní a potvrdil, že pacient trpí mastocytózou.

K zapamatování:

Pacienti trpící mastocytózou mohou mít anafylaxi i bez specifického alergenu (spouštěče reakce). V tomto případě, kdy testování alergenů vyšlo negativní a bazální hladina tryptázy blíží se horní hranici normálních hodnot, bylo vyhodnoceno, že by se mohlo jednat o mastocytózu. Pacient byl následně vyšetřen a diagnóza mastocytóza byla potvrzena. Mastocytóza může být přítomna, i když je bazální hladina tryptázy blízko horní hranici základních hodnot 11,4 µg/l.

Slovo závěrem

Cílem tohoto manuálu je poskytnout informace o využití měření tryptázy žírných buněk za pomoci velmi specifické a senzitivní metody. Je známo, že sérová tryptáza může být korelovaná jak s různými onemocněními, tak fyziologickými stavy pozměněnými zvýšeným uvolňováním tryptázy z žírných buněk. Tryptáza je nejvíce zastoupenou složkou mezi enzymy a mediátory, které jsou uvolňovány z žírných buněk během systémové alergické reakce a anafylaxe, ale onemocnění spojená s aktivitou mastocytů

nebo abnormálním řízením populace mastocytů (mastocytóza) jsou komplexní povahy.

Žírné buňky jsou zodpovědné za závažné systémové patofyziologické procesy, jako jsou anafylaktické reakce, které v některých případech mohou vést k život ohrožujícím stavům. Proto je doporučeno implementovat a rutinně používat stanovení bazální hladiny a akutní hladiny tryptázy, která poslouží k diagnostice a predikci závažných, život ohrožujících stavů.

Seznam literatury:

- Payne V, Kam PCA. Mast cell tryptase: a review of its physiology and clinical significance. *Anaesthesia*. 2004 Jul;59(7):695–703.
- Rawlings ND, Barrett AJ, Bateman A. MEROPS: the database of proteolytic enzymes, their substrates and inhibitors. *Nucleic Acids Res*. 2012 Jan;40(Database issue):D343–50.
- Bazan JF, Fletterick RJ. Viral cysteine proteases are homologous to the trypsin-like family of serine proteases: structural and functional implications *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988 Nov;85(21):7872–6.
- Buller AR, Townsend CA. Intrinsic evolutionary constraints on protease structure, enzyme acylation, and the identity of the catalytic triad. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Feb 19;110(8):E653–661.
- Hedstrom L. Serine protease mechanism and specificity. *Chem Rev*. 2002 Dec;102(12):4501–24.
- Schwartz LB, Irani AM, Roller K, Castells MC, Schechter NM. Quantitation of histamine, tryptase, and chymase in dispersed human T and TC mast cells. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1987 Apr 15;138(8):2611–5.
- Miller JS, Moxley G, Schwartz LB. Cloning and characterization of a second complementary DNA for human tryptase. *J Clin Invest*. 1990 Sep;86(3):864–70.
- Vanderslice P, Ballinger SM, Tam EK, Goldstein SM, Craik CS, Caughey GH. Human mast cell tryptase: multiple cDNAs and genes reveal a multigene serine protease family. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 May;87(10):3811–5.
- Miller JS, Westin EH, Schwartz LB. Cloning and characterization of complementary DNA for human tryptase. *J Clin Invest*. 1989 Oct;84(4):1188–95.
- Schwartz LB, Min H-K, Ren S, Xia H-Z, Hu J, Zhao W, et al. Tryptase precursors are preferentially and spontaneously released, whereas mature tryptase is retained by HMC-1 cells, Mono-Mac-6 cells, and human skin-derived mast cells. *J Immunol Baltim Md* 1950. 2003 Jun 1;170(11):5667–73.
- Caughey GH. Tryptase genetics and anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Jun;117(6):1411–4.
- Caughey GH. Mast cell tryptases and chymases in inflammation and host defense. *Immunol Rev*. 2007 Jun;217:141–54.
- Hartmann T, Ruoss SJ, Raymond WW, Seuwen K, Caughey GH. Human tryptase as a potent, cell-specific mitogen: role of signaling pathways in synergistic responses. *Am J Physiol*. 1992 May;262(5 Pt 1):L528–534.
- Blair RJ, Meng H, Marchese MJ, Ren S, Schwartz LB, Tonnesen MG, et al. Human mast cells stimulate vascular tube formation. Tryptase is a novel, potent angiogenic factor. *J Clin Invest*. 1997 Jun 1;99(11):2691–700.
- Gruber BL, Kew RR, Jelaska A, Marchese MJ, Garlick J, Ren S, et al. Human mast cells activate fibroblasts: tryptase is a fibrogenic factor stimulating collagen messenger ribonucleic acid synthesis and fibroblast chemotaxis. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1997 Mar 1;158(5):2310–7.
- Schwartz LB, Bradford TR, Littman BH, Wintroub BJ. The fibrinolytic activity of purified tryptase from human lung mast cells. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1985 Oct;135(4):2762–7.
- Stack MS, Johnson DA. Human mast cell tryptase activates single-chain urinary-type plasminogen activator (pro-urokinase). *J Biol Chem*. 1994 Apr 1;269(13):9416–9.
- Caughey GH, Leidig F, Viro NF, Nadel JA. Substance P and vasoactive intestinal peptide degradation by mast cell tryptase and chymase. *J Pharmacol Exp Ther*. 1988 Jan;244(1):133–7.
- Schwartz LB, Bradford TR. Regulation of tryptase from human lung mast cells by heparin. Stabilization of the active tetramer. *J Biol Chem*. 1986 Jun 5;261(16):7372–9.
- Bennich HH, Ishizaka K, Johansson SG, Rowe DS, Stanworth DR, Terry WD. Immunoglobulin E: a new class of human immunoglobulin. *Immunology*. 1968 Sep;15(3):323–4.
- Ishizaka K, Ishizaka T. Immune mechanisms of reversed type reaginic hypersensitivity. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1969 Sep;103(3):588–95.
- Zhang J, Shi G-P. Mast cells and metabolic syndrome. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Jan;1822(1):14–20.
- Ghably J, Saleh H, Vyas H, Peiris E, Misra N, Krishnaswamy G. Paul Ehrlich's mastzellen: a historical perspective of relevant developments in mast cell biology. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2015;1220:3–10.
- da Silva EZM, Jamur MC, Oliver C. Mast cell function: a new vision of an old cell. *J Histochem Cytochem Off J Histochem Soc*. 2014 Oct;62(10):698–738.
- Virk H, Arthur G, Bradding P. Mast cells and their activation in lung disease. *Transl Res J Lab Clin Med*. 2016 Jan 20;
- Dahlin JS, Hallgren J. Mast cell progenitors: origin, development and migration to tissues. *Mol Immunol*. 2015 Jan;63(1):9–17.
- Bradding P, Arthur G. Mast cells in asthma - state of the art. *Clin Exp Allergy* 2016 Feb; 46(2):194–263.
- Duffy SM, Lawley WJ, Kaur D, Yang W, Bradding P. Inhibition of human mast cell proliferation and survival by tamoxifen in association with ion channel modulation. *J Allergy Clin Immunol*. 2003 Nov;112(5):965–72.
- Kambe N, Kambe M, Kochan JP, Schwartz LB. Human skin-derived mast cells can proliferate while retaining their characteristic functional and protease phenotypes. *Blood*. 2001 Apr 1;97(7):2045–52.
- Aborg CH, Novotný J, Uvnäs B. Ionic binding of histamine in mast cell granules. *Acta Physiol Scand*. 1967 Apr;69(4):276–83.
- Humphries DE, Wong GW, Friend DS, Gurish MF, Qiu WT, Huang C, et al. Heparin is essential for the storage of specific granule proteases in mast cells. *Nature*. 1999 Aug 19;400(6746):769–72.
- Brightling CE, Bradding P, Symon FA, Holgate ST, Wardlaw AJ, Pavord ID. Mast-cell infiltration of airway smooth muscle in asthma. *N Engl J Med*. 2002 May 30;346(22):1699–705.
- Rauter I, Krauth M-T, Westritschnig K, Horak F, Flicker S, Gieras A, et al. Mast cell-derived proteases control allergic inflammation through cleavage of IgE. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Jan;121(1):197–202.
- Theoharides TC, Valent P, Akin C. Mast Cells, Mastocytosis, and Related Disorders. *N Engl J Med*. 2015 Jul 9;373(2):163–72.
- Galli SJ, Tsai M. IgE and mast cells in allergic disease. *Nat Med*. 2012 May 4;18(5):693–704.
- Marshall JS. Mast-cell responses to pathogens. *Nat Rev Immunol*. 2004 Oct;4(10):787–99.
- Voehringer D. Protective and pathological roles of mast cells and basophils. *Nat Rev Immunol*. 2013 May;13(5):362–75.
- Brockow K, Metcalfe DD. Mastocytosis. *Chem Immunol Allergy*. 2010;95:110–24.
- Valent P, Horny HP, Escribano L, Longley BJ, Li CY, Schwartz LB, et al. Diagnostic criteria and classification of mastocytosis: a consensus proposal. *Leuk Res*. 2001 Jul;25(7):603–25.
- Carter MC, Metcalfe DD, Komarow HD. Mastocytosis. *Immunol Allergy Clin North Am* [Internet]. 2014 Feb [cited 2015 Oct 22];34(1). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3863935/>
- Valent P, et al. Definitions, Criteria and Global Classification of Mast Cell Disorders with Special Reference to Mast Cell Activation Syndromes: A Consensus Proposal. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011(157):215–25.
- Metcalfe DD. Mast cells and mastocytosis. *Blood*. 2008 Aug 15;112(4):946–56.
- Odette McNeill, Constance Katelaris. Mastocytosis - Where are we now? WAO Online [Internet]. 2011. Available from: www.worldallergy.org/professional/allergic_diseases_center/mastocytosis/#table1
- Portier P, Richet C. De l'action anaphylactique de certains venins [The anaphylactic reaction to certain venoms]. *C R Seances Soc Biol*. 1902(54):170.
- Peavy RD, Metcalfe DD. Understanding the mechanisms of anaphylaxis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2008 Aug;8(4):310–5.
- Simons FER, Arduoso LR, Bilò MB, Cardona V, Ebisawa M, El-Gamal YM, et al. International consensus on (ICON) anaphylaxis. *World Allergy Organ J*. 2014;7(1):9.
- Ogawa Y, Grant JA. Mediators of anaphylaxis. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2007 May;27(2):249–260, vii.
- Kroigaard M, Garvey LH, Gillberg L, Johansson SGO, Mosbech H, Florvaag E, et al. Scandinavian Clinical Practice Guidelines on the diagnosis, management and follow-up of anaphylaxis during anaesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2007 Jul;51(6):655–70.
- Sampson HA, Muñoz-Furlong A, Campbell RL, Adkinson NF, Bock SA, Branum A, et al. Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: summary report-second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network symposium. *Ann Emerg Med*. 2006 Apr;47(4):373–80.
- Górska A, Niedoszytko M, Lange M, Chelmińska M, Niedoszytko B, Wasa, g B, et al. The risk factors of anaphylaxis in patients with mastocytosis. *Pol Arch Med Wewn*. 2015 Jan 12;
- Alvarez-Perea A, Tomás-Pérez M, Martínez-Lezcano P, Marco G, Pérez D, Zubeldia JM, et al. Anaphylaxis in Adolescent/Adult Patients Treated in the Emergency Department: Differences Between Initial Impressions and the Definitive Diagnosis. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2015;25(4):288–94.
- Tankersley MS, Ledford DK. Stinging insect allergy: state of the art 2015. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2015 Jun;3(3):315–322; quiz 323.
- Blum S, Gunzinger A, Müller UR, Helbling A. Influence of total and specific IgE, serum tryptase, and age on severity of allergic reactions to Hymenoptera stings. *Allergy*. 2011 Feb;66(2):222–8.
- Valent P, Sperr WR, Sotlar K, Reiter A, Akin C, Gotlib J, et al. The serum tryptase test: an emerging robust biomarker in clinical hematology. *Expert Rev Hematol*. 2014 Oct;7(5):683–90.
- Golden DBK. Anaphylaxis to insect stings. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2015 May;35(2):287–302.
- Sperr WR, El-Samahi A, Kundi M, Girschikofsky M, Winkler S, Lutz D, et al. Elevated tryptase levels selectively cluster in myeloid neoplasms: a novel diagnostic approach and screen marker in clinical haematology. *Eur J Clin Invest*. 2009 Oct;39(10):914–23.
- Goffredo V, Gadaleta CD, Laterza A, Vacca A, Ranieri G. Tryptase serum levels in patients suffering from hepatocellular carcinoma undergoing intra-arterial chemoembolization: Possible predictive role of response to treatment. *Mol Clin Oncol*. 2013;1(2):385–9.
- Ruëff F, Przybilla B, Bilò MB, Müller U, Scheipl F, Aberer W, et al. Predictors of severe systemic anaphylactic reactions in patients with Hymenoptera venom allergy: importance of baseline serum tryptase—a study of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Nov;124(5):1047–54.
- Bilò MB, Bonifazi F. The natural history and epidemiology of insect venom allergy: clinical implications. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2009 Oct;39(10):1467–76.
- Fellinger C, Hemmer W, Wöhrl S, Sesztak-Greinecker G, Jarisch R, Wantke F. Clinical characteristics and risk profile of patients with elevated baseline serum tryptase. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2014 Dec;42(6):544–52.
- Ebo DG, Fisher MM, Hagendorens MM, Bridts CH, Stevens WJ. Anaphylaxis during anaesthesia: diagnostic approach. *Allergy*. 2007 May;62(5):471–87.
- Dybendal T, Guttormsen AB, Elsayed S, Askeland B, Harboe T, Florvaag E. Screening for mast cell tryptase and general IgE antibodies in 18 patients with anaphylactic shock during general anaesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2003 Nov;47(10):1211–8.
- Garvey LH, Bech B, Mosbech H, Krøigaard M, Belhage B, Husum B, et al. Effect of general anesthesia and orthopedic surgery on serum tryptase. *Anesthesiology*. 2010 May;112(5):1184–9.
- Sperr WR, Jordan J-H, Fiegl M, Escribano L, Bellas C, Dirnhofer S, et al. Serum tryptase levels in patients with mastocytosis: correlation with mast cell burden and implication for defining the category of disease. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002 Jun;128(2):136–41.
- Sala-Cunill A, Cardona V, Labrador-Horrillo M, Luengo O, Esteso O, Garriga T, et al. Usefulness and limitations of sequential serum tryptase for the diagnosis of anaphylaxis in 102 patients. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;160(2):192–9.
- Wongkaewphothong P, Pacharn P, Sripramong C, Boonchoo S, Piboonpocanun S, Visitsunthorn N, et al. The Utility of Serum Tryptase in the Diagnosis of Food-Induced Anaphylaxis. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2014 Jul;6(4):304–9.
- Borer-Reinhold M, Haeblerli G, Bitzenhofer M, Jandus P, Hausmann O, Fricker M, et al. An increase in serum tryptase even below 11.4 ng/mL may indicate a mast cell-mediated hypersensitivity reaction: a prospective study in Hymenoptera venom allergic patients. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2011 Dec;41(12):1777–83.00, Phadia 250 and Phadia 1000.
- Bradding P, Saito H. Roles in anaphylaxis Middleton's Allergy 8th edition, 2013, 228-251.
- Schwartz LB, Yunginger JW, Miller J, Bokhari R, Dull D. Time course of appearance and disappearance of human mast cell tryptase in the circulation after anaphylaxis. *J Clin Invest* 1989 May;83(5):1551-5.
- Schwartz LB: Diagnostic Value of Tryptase in Anaphylaxis and Mastocytosis. *Immunol Allergy Clin N Am* 2006;26:451–463.
- Horny HP, Metcalfe DD, Bennet JM et al. Mastocytosis. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al., eds. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC; 2008:54-63.
- Valent P, Sperr WR, Sotlar K, Reiter A, Akin C, Gotlib J, Horny HP, Arock M. The serum tryptase test: an emerging robust biomarker in clinical hematology. *Expert Rev Hematol*. 2014 Oct;7(5):683-90.

thermoscientific

thermoscientific.com/phadia

ThermoFisher
SCIENTIFIC