



UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ŠTUDIJ BIOTEHNOLOGIJE

Deja PORENTA

**VLOGA MASTOCITOV IN BAZOFILCEV PRI
ANAFILAKSIJI**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij - 1. stopnja

Ljubljana, 2019

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ŠTUDIJ BIOTEHNOLOGIJE

Deja PORENTA

VLOGA MASTOCITOV IN BAZOFILCEV PRI ANAFILAKSIJI

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij - 1. stopnja

THE ROLE OF BASOPHILS AND MAST CELLS IN ANAPHYLAXIS

B. SC. THESIS

Academic Study Programmes

Ljubljana, 2019

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija – 1. stopnja Biotehnologija.

Študijska komisija 1. in 2. stopnje Študija biotehnologije je za mentorja diplomskega seminarja imenovala doc. dr. Ireno Oven in za somentorja doc. dr. Matijo Rijavca.

Komisija za oceno in predstavitev:

Predsednik: prof. dr. Mojca NARAT
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: doc. dr. Irena OVEN
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: doc. dr. Matija RIJAVEC
Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik, Laboratorij za klinično imunologijo in molekularno genetiko

Član prof. dr. Polona JAMNIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Datum predstavitve: 29.5.2019

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du1
- DK UDK 577.27:57.083.32 (043.2)
- KG biotehnologija, imunologija, anafilaksija, bazofilci, mastociti
- AV PORENTA, Deja
- SA OVEN, Irena (mentor), RIJAVEC, Matija (somentor)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Študij biotehnologije, Univerzitetni študijski program prve stopnje Biotehnologija
- LI 2019
- IN VLOGA MASTOCITOV IN BAZOFILCEV PRI ANAFILAKSIJI
- TD Diplomsko delo (Univerzitetni študij - 1. stopnja)
- OP VIII, 22 str., 1 pregl., 3 sl., 64 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Anafilaksija je življenje ogrožajoča, hitro potekajoča sistemska preobčutljivostna reakcija, ki lahko vodi v smrt. Razvije se lahko v trenutku po izpostavitvi organizma alergenu, kot so hrana, piki žuželk in zdravila. Spremljajo jo potencialno nevarni simptomi prizadetosti dihal in kardiovaskularnega sistema in tako predstavlja skrajni primer neustreznega imunskega odziva ter porušenega imunskega ravnovesja. Pri anafilaksiji imata glavno vlogo dva tipa imunskih celic, mastociti in bazofilci, saj njuna aktivacija in sproščeni mediatorji vodijo do simptomov anafilaksije. Mastociti in bazofilci si delijo nekatere ključne lastnosti, kot sta izražanje receptorja FcεRI, ki z veliko afiniteto veže protitelesa razreda IgE, in sposobnost takojšnje degranulacije. Mastociti so že dolgo poznani kot efektorske celice s ključno vlogo pri klasični, z IgE posredovani anafilaksiji, medtem ko je bila pomembna in specifična vloga bazofilcev ter njihova migracija med anafilaksijo opisana šele nedavno. Različni mehanizmi, sprožilci, lastnosti anafilaktičnih dogodkov, klinični znaki ter vedno bolj očitne specifične vloge posameznih efektorskih celic odražajo izredno kompleksnost anafilaksije in posledično težave z njenim z razumevanjem. V diplomskem delu je predstavljeni pregled obstoječih raziskav in opredeljeni mehanizmi anafilaksije.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du1

DC UDC 577.27:57.083.32 (043.2)

CX biotechnology, immunology, anaphylaxis, basophils, mast cells

AU PORENTA, Deja

AA OVEN, Irena (supervisor), RIJAVEC, Matija (co-advisor)

PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Academic Study Programme in Biotechnology

PY 2019

TI THE ROLE OF BASOPHILS AND MAST CELLS IN ANAPHYLAXIS

DT B. Sc. Thesis (Academic Study Programmes)

NO VIII, 22 p., 1 tab., 3 fig., 64 ref.

LA sl

AL sl/en

AB Anaphylaxis is a potentially life-threatening, rapidly progressing systemic hypersensitivity reaction that can result in death. Because it can be triggered within minutes after antigen exposure (eg. certain foods, insect stings, drugs) and is associated with serious cardiovascular problems and airway obstruction, anaphylaxis can be considered the most aberrant example of incorrect immune response and destroyed immune balance. The key players in anaphylaxis are considered to be mast cells and basophils, which share a few distinct features, such as expression of FcεRI receptor that binds IgE with high affinity and the ability to rapidly degranulate. Mast cells are already well-known as the major effector cells during a classical mechanism called IgE-dependent anaphylaxis, whereas the important and specific role for basophils and their migration occurring during anaphylaxis was described only recently. Distinct mechanisms, triggers, features of anaphylactic reactions, clinical symptoms and arising specific roles of a single effector cell reflect high complexity of anaphylaxis and consequently the difficulties with its understanding. This thesis overviews existing studies on mentioned topic and defines mechanisms of action concerning anaphylaxis.

KAZALO VSEBINE

	KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
	KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
	KAZALO VSEBINE	V
	KAZALO SLIK	VI
	KAZALO PREGLEDNIC	VI
1	UVOD	1
2	ANAFILAKSIJA	2
2.1	DEFINICIJA ANAFILAKSIJE	2
2.2	VZROKI	2
2.3	FAKTORJI, KI DOPRINESEJO K ANAFILAKSIJI	2
2.4	SIMPTOMI	3
2.5	ZDRAVLJENJE	4
2.5.1	Adrenalin	4
2.5.2	Ukrepi drugega reda	4
2.5.3	Antihistaminiki in glukokortikoidi	4
3	MEHANIZMI ANAFILAKSIJE	5
3.1	OD IgE ODVISNI MEHANIZEM	5
3.2	OD IgE NEODVISNI MEHANIZMI	5
3.2.1	Z IgG posredovana anafilaksija	6
3.2.2	Anafilaksija s posredovanjem komplementa	6
3.2.3	Direktna aktivacija mastocitov in bazofilcev	7
3.3	IDIOPATSKA ANAFILAKSIJA	7
4	RECEPTOR FcεRI IN EFEKTORSKE CELICE	8
4.1	RECEPTOR VELIKE AFINITETE FcεRI	9
4.2	MASTOCITI	9
4.2.1	Morfologija in razvoj	9
4.2.2	Diferenciacija	10
4.2.3	Mehanizem aktivacije	10
4.2.4	Mediatorji	11
4.2.5	Degranulacija	11
4.3	BAZOFILCI	12

4.3.1	Morfologija in razvoj	12
4.3.2	Aktivacija	13
4.3.3	Mediatorji	13
4.3.4	Degranulacija	13
4.3.5	Migracija bazofilcev	14
5	EFEKTORSKE FUNKCIJE MEDIATORJEV IN POMEN PRI ANAFILAKSIJI	15
5.1	HISTAMIN	15
5.2	TRIPTAZA	15
5.3	LEVKOTRIENI	16
5.4	FAKTOR AKTIVACIJE TROMBOCITOV	16
5.5	CITOKINI	16
6	DISKUSIJA	17
7	VIRI	18

KAZALO SLIK

Slika 1: Simptomi anafilaksije (Reber in sod., 2017)	3
Slika 2: Alergijski imunski odziv. Slika prikazuje potek alergijskega imunskega odziva na določen alergen, ki vodi v anafilaksijo (Hellman in sod., 2017)	5
Slika 3: Shematski prikaz mastocita, bazofilca in receptorja velike afinitete FcεRI (Hellman in sod., 2017)	8

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Pregled vzrokov anafilaksije ter pripadajočih mehanizmov, ki jih ti vzroki sprožijo	8
--	---

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

IgE	protitelo razreda IgE
IgG	protitelo razreda IgG
FcεRI	receptor velike afinitete do protiteles IgE
PAF	faktor aktivacije trombocitov (ang. Platelet-activating factor)
IL	interlevkin
NSAID	nesteroidna protivnetna učinkovina (ang. Nonsteroidal anti-inflammatory drug)
ITAM	Imunoreceptorski aktivacijski motiv na osnovi tirozina (ang. Immunoreceptor tyrosine-based activation motif)
SCF	dejavniki matičnih celic (ang. Stem cell factor)
NGF	živčni rastni faktor (ang. Nerve growth factor)
GPCR	receptorji, spojeni s proteinom G (ang. G protein-coupled receptors)
celica GMP	predniška celica granulocitov in monocitov (ang. Granulocyte-monocyte progenitor)
TNFα	dejavniki tumorske nekroze alfa (ang. Tumor necrosis factor alpha)
TSLP	timusni stromalni limfopoetin (ang. Thymic stromal lymphopoietin)

1 UVOD

Anafilaksija je potencialno življenje ogrožajoča akutna preobčutljivostna reakcija in velja za najtežjo obliko alergijske reakcije. Je izredno kompleksna sistemska bolezen, v katero je vključenih več organov, njena pogostost pa se v zadnjem obdobju povečuje. Na verjetnost razvoja anafilaksije vplivajo mnogi dejavniki, ki direktno ali posredno pripomorejo k razvoju in so specifični za vsakega posameznika. To so genetske predispozicije, tip alergena, njegova koncentracija v okolju, prisotnost snovi, ki povečajo občutljivost na alergen, alergije in drugo.

Glavne efektorske celice, vključene v mehanizem anafilaksije, so mastociti in bazofilci, ki igrajo ključno vlogo pri vnetjih in alergijskih reakcijah ter vsebujejo citoplazemske granule z vnetnimi mediatorji, ki jih sprostijo tekom procesa degranulacije. Mastociti so dolgo živeči in se večinoma nahajajo v tkivih, njihova vloga v anafilaksiji pa je dobro preučena. Pri bazofilcih je ta zgodba bistveno drugačna. So kratko živeče celice v periferni krvi in predstavljajo manj kot 1 % populacije levkocitov. Zaradi redkosti in svojih fenotipskih podobnosti z mastociti, jim znanstveniki tekom odkrivanja do nedavnega niso namenjali velike pozornosti. Poleg vpliva na razvoj in napredovanje s citokini Th2 posredovanega vnetja so nedavno izvedene raziskave pokazale potencialno pomembno in specifično vlogo bazofilcev ter njihovo migracijo v tkiva med anafilaksijo.

S protitelesi IgE posredovana aktivacija mastocitov in tudi bazofilcev je znana kot glavni in najbolj poznani mehanizem anafilaksije, pri kateri drugi stik celic B z alergenom sproži produkcijo protiteles IgE, ki se navzkrižno vežejo na receptorje velike afinitete FcεRI na mastocitih in bazofilcih. Ta signal sproži sproščanje in sintezo vnetnih mediatorjev in kemokinov, ki vplivajo na vazodilatacijo, permeabilnost žil, kontrakcijo gladkih mišic, izločanje mukoze, poškodbe epitela, ipd., in lahko vodijo v anafilaksijo. Obstajajo tudi drugi mehanizmi anafilaksije, ki ne vključujejo protiteles IgE in bodo opisani v nadaljevanju.

Namen diplomskega dela je predstaviti pomembni vlogi mastocitov in predvsem bazofilcev pri anafilaksiji ter povzeti pregled literature na tem področju.

2 ANAFILAKSIJA

2.1 DEFINICIJA ANAFILAKSIJE

V svetovni literaturi najdemo več definicij anafilaksije, ki so jih sklenile neodvisno delujoče organizacije. Anafilaksija je definirana kot resna, generalizirana, življenje ogrožajoča preobčutljivostna reakcija, ki se lahko razvije v nekaj minutah po stiku z alergenom, ki jo spremljajo za bolnika nevarni simptomi, kot so prizadetost dihal in kardiovaskularnega sistema, pogoste jih spremljajo spremembe na koži in sluznicah. Klinično se anafilaksija vrednoti po kliničnih kriterijih za postavitev diagnoze. Včasih se pri pacientih pojavi le en izmed okarakteriziranih znakov, kar ni anafilaksija. Je pa res, da lahko tudi blaga sistemska alergijska reakcija napreduje v anafilaksijo, kar je lahko v nekaterih primerih podcenjeno (Simons in sod., 2014).

2.2 VZROKI

Anafilaksijo lahko izzovejo alergeni, fizikalni dejavniki, v primeru, da vzroka anafilaksije ne odkrijemo, pa govorimo o idiopatski anafilaksiji. Najpogostejši alergeni so alergeni hrane, ki so vzrok za 30 % do 50 % anafilaksij v Severni Ameriki, Evropi, Aziji in Avstraliji, ter do 81 % anafilaksij pri otrocih. 1-2 % celotne populacije in do 10 % otrok je preobčutljivih na hrano. Ene najresnejših preobčutljivostnih odzivov izzovejo oreščki, najpogosteje arašidi (Osborne in sod., 2011). Pri nas so najpogostejši alergeni oreški, jajca, mleko, mehkužci in ribe, v srednji Evropi pšenica, zelena, soja in morski sadeži, v Aziji pa poročajo o jajcih, rižu, morski hrani in ajdi kot glavnih alergenih (Worm in sod., 2014).

Naslednji alergen so zdravila, ki izzovejo približno 30 % anafilaksij in so pogostejši vzrok anafilaksij pri odraslih osebah ter starejših. Zdravila predstavljajo precejšnje tveganje tudi zato, ker lahko le nekatere kombinacije zdravil pri posameznikih izzovejo anafilaksijo. Primer so inhibitorji encima, ki pretvarja angiotenzin (ACE) in zaviralci beta adrenergičnih receptorjev, ki povečajo tveganje za anafilaksijo, sproženo preko drugih zdravil.

Piki žuželk so prav tako razmeroma pogost alergen, ki lahko sproži resno anafilaksijo, saj alergen v organizem vstopi neposredno v krvni obtok in je njegova koncentracija pogosto višja kot če alergen zaužijemo. Manj pogosti vzročni alergeni so biološka sredstva, perioperativna sredstva, lateks, ipd.

Pregled vseh vzrokov za anafilaksijo in mehanizmov, ki jih izzovejo, je predstavljen v nadaljevanju v poglavju Mehanizmi anafilaksije (Tabela 1).

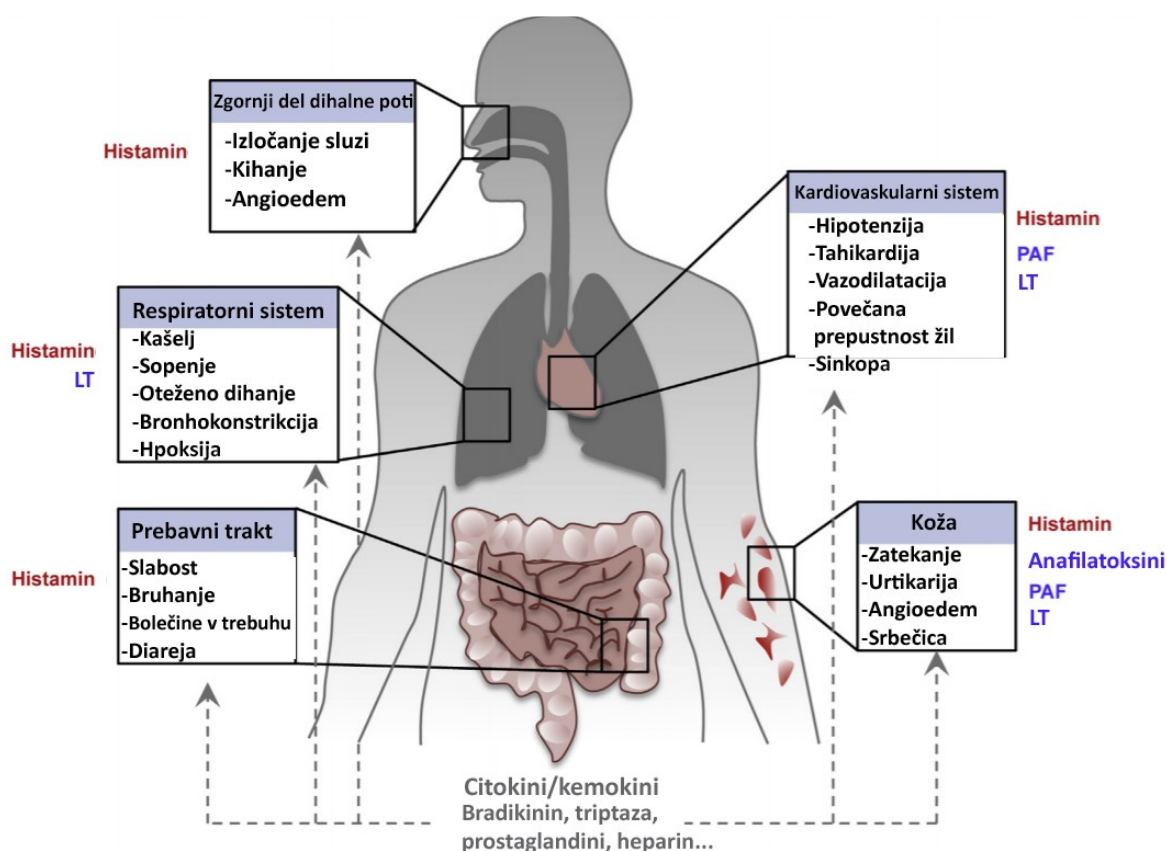
2.3 FAKTORJI, KI DOPRINESEJO K ANAFILAKSIJI

Starost, geografska lokacija, ekonomski status, fiziološko stanje, rasa, spol, način vdora antigena, sočasne bolezni kot so astma, kardiovaskularne bolezni in mastocitoza ter hkratno jemanje zdravil so nekateri izmed faktorjev, ki vplivajo na incidenco anafilaksije (Simons in sod., 2014).

K 30 % anafilaktičnih dogodkov pa doprinesejo še nekateri dodatni faktorji, ki so še posebej pomembni pri s hrano povzročeni anafilaksiji. Telesni napor oz. aktivnost, zaradi katere se pospeši krvni obtok, povzroči, da se alergen prerazporedi po celem telesu, hkrati pa se zniža meja za aktivacijo mastocitov in bazofilcev. Etanol poveča prepustnost črevesne stene in poveča absorpcijo alergena, hkrati pa zamaskira začetni stadij anafilaksije ali celo zavre fiziološki odziv na hipotenzijo, ki nastopi ob anafilaksiji. (Versluis in sod., 2016). Pomembni faktorji so lahko zdravila, najpogosteje so to nesteroidne protivnetne učinkovine, čustveni stres, menstruacija, akutne infekcije, vročina, ipd. (Wölbing in sod., 2013).

2.4 SIMPTOMI

Simptomi se običajno razvijejo od nekaj minut do 2 uri po stiku z alergenom. Najhitreje (po nekaj minutah) se začne odziv na pike žuželk ter parenteralno apliciranih zdravilih, kasnejši pa je odziv na hrano in zaužita zdravila (od pol ure do nekaj ur). Najpogosteje je prizadetih več organov (Slika 1) (Reber in sod., 2017). Prvi izmed njih je koža, ki postane rdeča in topla, pojavijo se lahko srbež in urtike (otekline kože), pogost je tudi angioedem (oteklina globljih predelov kože). Prizadetost dihal se kaže v težkem dihanju, kašlju kot posledici bronhospazma, angioedem zgornjega dela dihalne poti, in hipoksiji, prizadetost kardiovaskularnega sistema pa v hipotenziji in kolapsu, ki ga lahko spremlja izguba zavesti in omotica. Pojavi se lahko tahikardija, bolečine v trebuhu ter bruhanje.



Slika 1: Simptomi anafilaksije (Reber in sod., 2017)

2.5 ZDRAVLJENJE

2.5.1 Adrenalin

Ukrep prvega reda po diagnozi anafilaksije je intramuskularna aplikacija adrenalina. Adrenalin je hormon in fiziološki antagonist histaminu, za katerega je pomembno, da se aplicira takoj po pojavu kliničnih znakov hude anafilaksije. Adrenalin z vezavo na adrenergične receptorje sproži kaskado reakcij, katere rezultat je povišan nivo sekundarnega obveščevalca cAMP. Preko adrenergičnih receptorjev alfa pride do konstrikcije žil, posledično se povečata periferni upor in krvni pritisk ter izboljša prekrvavitev srca. Vezava adrenalina na adrenergične receptorje beta-1 pomeni višji srčni utrip in boljšo krčljivost srca, medtem ko vezava na receptorje beta-2 sproži širitev dihalnih poti in zmanjša izločanje histamina iz efektorskih celic. Adrenalin na splošno spodbudi krčenje srca in sproščanje bronhialnih mišic ter mišic prebavnega trakta.

2.5.2 Ukrepi drugega reda

Pod ukrepe drugega reda sodijo prekinitev stika z alergenom, pravilen položaj bolnika, t.j. ležeči položaj z dvignjenimi nogami, dovajanje kisika in/ali intravenske tekočine, izvajanje postopka oživljanja v primeru srčno-dihalne odpovedi in splošno zagotavljanje pomoči bolniku.

2.5.3 Antihistaminiki in glukokortikoidi

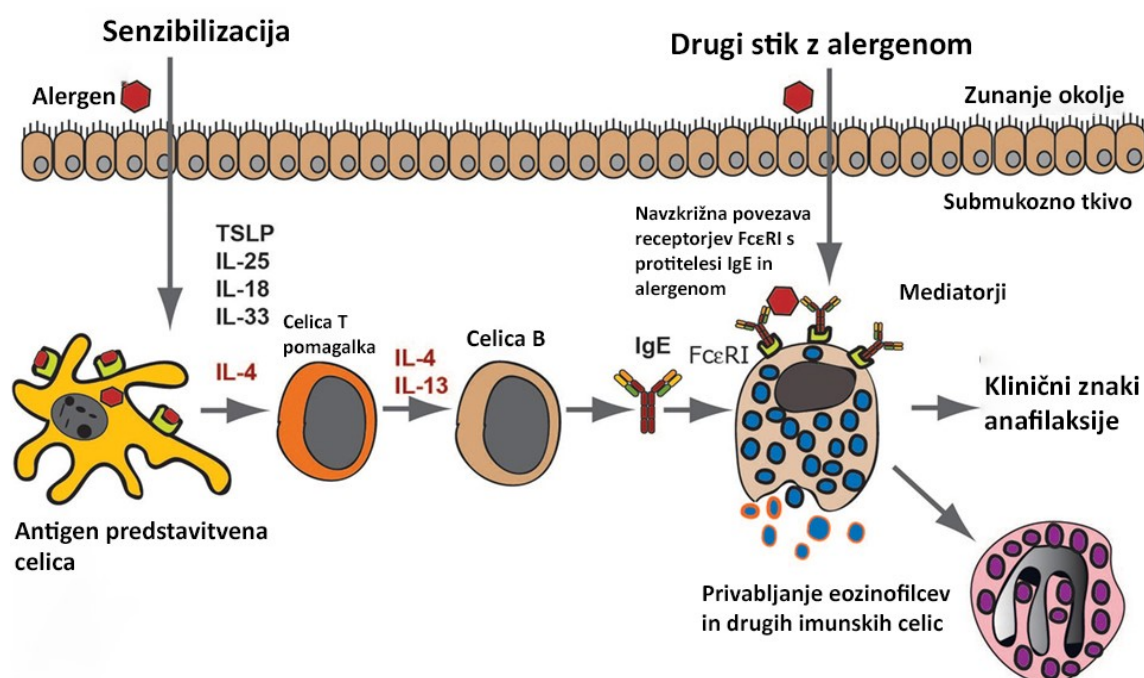
Pod ukrepe tretjega reda sodijo zdravila kot so antihistaminiki in glukokortikoidi. Antihistaminiki so kompetitivni antagonisti histamina, ki se vežejo na histaminske receptorje H1 ali H2, ki na ta način preprečijo vezavo histamina. Čeprav antihistaminiki niso učinkoviti pri preprečevanju anafilaksije močno zmanjšajo srbež in urtikarijo. V nobenem primeru ne morejo nadomestiti učinka adrenalina, v njegovi odsotnosti lahko povečajo dilatacijo in sprožijo hipotenzijo.

Glukokortikoidi so steroidni hormoni, ki hitro inhibirajo napredovanje alergijskih reakcij v pogojih *in vivo* na mišjih modelih, vendar natančen mehanizem delovanja še ni znan. Predvideva se, da pride do inhibicije znotraj signalne poti zaradi določenih genov, katerih izražanje se zaradi glukokortikoidov poveča (Oppong in sod., 2013).

3 MEHANIZMI ANAFILAKSIJE

3.1 OD IgE ODVISNI MEHANIZEM

Najpogostejši mehanizem anafilaksije je preko protiteles IgE in receptorja FcεRI. Gre za neustrezen imunski odziv ob stiku z alergenom, ki poteka v več stopnjah. Ob prvem stiku z alergenom pride v celicah B ob posredovanju celic Th2 in v prisotnosti določenih citokinov ter ligandov do preklopa verig. Celice B so zato ob naslednjem stiku z istim ali podobnim alergenom sposobne produkcije specifičnih protiteles IgE, ki se vežejo na receptorje velike in male afinitete FcεRI in FcεRII. Slednji je izražen na širokem spektru celic, prvega pa izražajo mastociti in bazofilci. Navzkrižna povezava sproži signalno kaskado in če je prag za aktivacijo celice dosežen ter so prisotni vsi potrebni signali, sledi degranulacija imunskih celic. Sproščanje vnetnih mediatorjev in privabljanje dodatnih imunskih celic povzroči simptome anafilaksije (Slika 2) (Hellman in sod., 2017).



Slika 2: Alergijski imunski odziv. Slika prikazuje potek alergijskega imunskega odziva na določen alergen, ki vodi v anafilaksijo (Hellman in sod., 2017).

3.2 OD IgE NEODVISNI MEHANIZMI

Poznani so tudi trije mehanizmi anafilaksije, pri katerih protitelesa IgE v nasprotju s klasičnim potekom anafilaksije ne sodelujejo. Prva možnost je s protitelesi IgG posredovana anafilaksija, pri čemer se protitelesa razreda IgG navzkrižno vežejo na alergen z več epitopi, z deli Fc pa se vežejo na receptorje FcγR na bazofilcih, nevtrofilcih in makrofagih. Anafilaksija je lahko izzvana tudi z vezavo peptidov sistema komplementa, na receptorje mastocitov in bazofilcev, tretji možni način pa je direktna aktivacija mastocitov z zdravili, do katere lahko pride ob stiku z receptorji na celicah.

3.2.1 Z IgG posredovana anafilaksija

Ta mehanizem anafilaksije je bil dokazan v številnih raziskavah na mišjih modelih v odsotnosti običajne poti preko IgE in FcεRI, saj je bil mehanizem izredno podoben z IgE posredovani anafilaksiji. Razlika je, da so bila namesto protiteles IgE, ki so bila odstranjena z monoklonskimi protitelesi anti-IgE, prisotna protitelesa IgG. Poleg tega je bil najpomembnejši mediator faktor aktivacije trombocitov PAF, in ne histamin kot pri z IgE posredovani anafilaksiji. Celični tipi, ki pri tem mehanizmu sodelujejo, so makrofagi, bazofilci ali nevtrofilci, vsi tudi izražajo receptorja za protitelesa IgG, FcγRIII in FcγRIV ter so ob določenem dražljaju sposobni sinteze mediatorja PAF (Strait in sod., 2002; Ishikawa in sod., 2010).

Ali pride do z IgG ali z IgE posredovane anafilaksije je delno odvisno tudi od koncentracije antigena in protiteles. Za z IgG posredovano anafilaksijo je nujna višja koncentracija antigena kot pri z IgE posredovani, zato je manj verjetno sprožena z antigeni kot sta hrana in piki žuželk, saj so v telesu prisotni v manjši količini. Je pa zato bolj verjetna ob vnašanju večjih količin direktno v krni obtok, npr. ob parenteralni aplikaciji terapevtskih protiteles, kemoterapevtikov in drugih učinkovin, še posebno z antigenom, ki ima več epitopov (npr. antigeni, zgrajeni iz ogljikovih hidratov).

Kljub mnogim poskusom na mišjih modelih obstaja možnost, da vseh rezultatov in odkritij ne moremo zgolj prenesti na človeka, saj je med imunološkimi mehanizmi človeka in miši veliko razlik, npr. med imunoglobulinskimi izotopi, receptorji in njihovo razporeditvijo, celicami in na njih izraženimi receptorji, ipd. Vendar je med mehanizmoma tudi veliko poznanih podobnosti, zaradi katerih so potrebne dodatne raziskave za dokončno razjasnitev pomena z IgG posredovane anafilaksije pri človeku. K tej teoriji doprinesejo tudi klinični dokazi, ki nakazujejo na z IgG posredovano anafilaksijo (Cheifetz in sod., 2003; Farnam in sod., 2012).

3.2.2 Anafilaksija s posredovanjem komplementa

Aktivacija komplementa preko encimske kaskade se zgodi kot odziv na različne dražljaje in vodi v nastanek polipeptidov imenovanih anafilatoksinov, C3a, C4a in C5a, ki imajo pomembne protivnetne funkcije, kot so vezava imunskih kompleksov in apoptotičnih celic ter njihovo odstranjevanje iz poškodovanih tkiv in krvnega obtoka preko zmožnosti prepoznavanja tujih struktur, opsonizacije in lize celic. Študije nakazujejo, da je možna vpletenost anafilatoksinov pri mehanizmu anafilaksije, saj aktivirajo mastocite, bazofilce ter druge mieloidne celice in sprožijo degranulacijo, poleg tega pa nivo anafilatoksinov v krvi korelira s težo anafilaksije (Brown in sod., 2013).

Direktna sprožitev anafilaksije preko sistema komplementa in v odsotnosti protiteles je glede na obstoječe študije vprašljiva, saj komplement najverjetneje ni edini aktivirani faktor. Predvideva se, da komplement močno doprinese k obsegu in teži anafilaksije, posredovane z IgE, saj aktivacija komplementa deluje v sinergiji z mastociti ali bazofilci, aktiviranimi s protitelesi IgE.

3.2.3 Direktna aktivacija mastocitov in bazofilcev

Nekatere učinkovine so zmožne direktne stimulacije imunskih celic brez posredovanja protiteles ali sistema komplemента. Najpogosteje gre za zdravila, kot so heparin z visoko vsebnostjo žvepla, aspirin in druge učinkovine NSAID, antibiotiki (vankomicin, fluorokinoloni), opiaty in zdravila, ki se uporabljajo pri anesteziji (Khodoun in sod., 2010).

Mehanizmi anafilaksije, ki jih sproži posamezna učinkovina, so si, kot kažejo testi *in vitro* na človeških celicah ter eksperimenti *in vivo* na laboratorijskih živalih, med seboj različni. Aspirin kot pogosto uporabljano zdravilo za lajšanje bolečin s protivnetnim delovanjem zavira delovanje encimov ciklooksigenaz, ki sodelujejo pri pretvorbi arahidonske kisline v prostaglandine v celicah. Posledično se zniža nivo enega izmed prostaglandinov, ki zavira anafilaksijo (Farnam in sod., 2012). Poleg tega aspirin poveča aktivacijo bazofilcev preko FcεRI, saj poveča fosforilacijo tirozin-kinaze Syk, signalne molekule s pomembno vlogo pri z IgE posredovanem sproščanju histamina iz bazofilcev (Matsuo in sod., 2013).

Drugi primer aktivacije mastocitov je vankomicin, glikopeptidni antibiotik, ki ob infuziji v kri pacientov lahko izzove anafilaksijo preko specifičnega mehanizma, saj sproži sproščanje histamina in drugih mediatorjev (Wong in sod., 1994; Veien in sod., 2000). Novejše študije pa poročajo o aktivaciji mastocitov izključno preko receptorjev, sklopljenih s proteinom G, z zdravili in kationskimi proteini, kar prav tako vodi v degranulacijo (Meneil in sod., 2014).

3.3 IDIOPATSKA ANAFILAKSIJA

Pri približno 20 % anafilaksij se vzroka za ta dogodek ne odkrije, zato v tem primeru govorimo o idiopatski anafilaksiji. Ta tip anafilaksije se potrjuje s t.i. izključitvenim testom, s katerim se izključi preostale diferencialne diagnoze. Ovrednotijo se nekateri markerji v krvi (npr. serumska triptaza, količina protiteles IgE proti alfa galaktozi) in urinu (npr. 5-hidroksiindol očetna kislina).

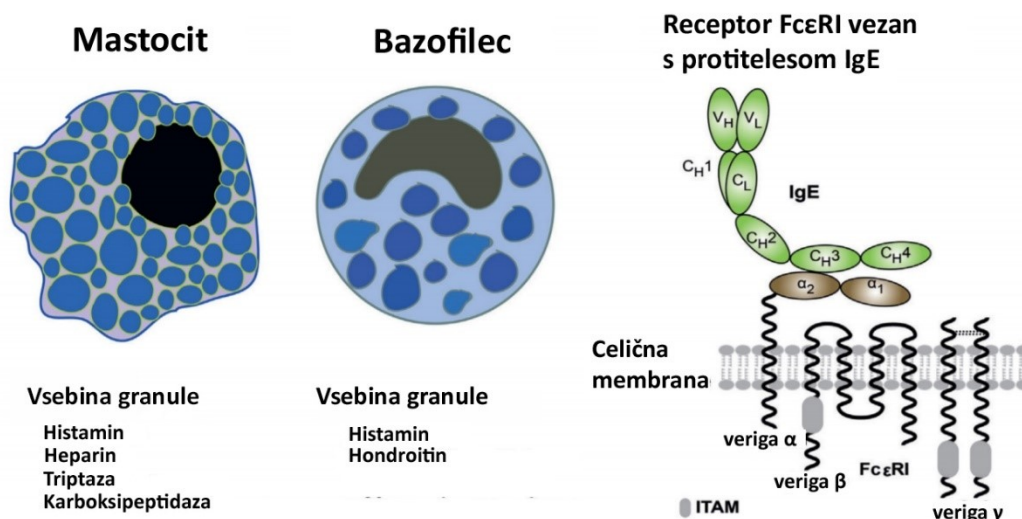
Razlog za idiopatsko anafilaksijo so pogosto skriti alergeni, to so lahko aditivi v hrani, saj v tem primeru ni protiteles za njihovo detekcijo v krvi. Dokazano je bilo, da je nivo citokinov Th2 pri osebah z idiopatsko anafilaksijo povišan v primerjavi z osebami, pri katerih je vzrok alergije poznan. Poleg tega je pogostejša pri ženskah, vendar zaenkrat še ni dokazano, da bi bil razlog za to vpliv hormonov. Raziskav, ki bi boljše opredelile markerje ali vzroke za idiopatsko anafilaksijo je bilo kar nekaj, vendar so si rezultati pogosto nasprotujoči ali nedokončni (Reed in sod., 2006).

Preglednica 1: Pregled vzrokov anafilaksije ter pripadajočih mehanizmov, ki jih ti vzroki sprožijo.

Imunološki vzroki, posredovani preko IgE in FcεRI
Hrana: arašidi in drugi oreščki, mleko, jajca, ribe, školjke
Zdravila: antimikrobna zdravila (betalaktamski antibiotiki), nesteroidne protivnetne učinkovine (aspirin, ibuprofen), kemoterapevtiki, biološka zdravila (omalizumab)
Strupi žuželk: piki os, čebel, sršenov
Perioperativna sredstva: mišični relaksanti, opioidi
Lateks
Imunološki vzroki, neodvisni od IgE in FcεRI
Imunski agregati
Zdravila
Neimunološki vzroki
Fizikalni dejavniki: mraz, vročina, fizična aktivnost, sevanje UV
Etanol
Zdravila: vankomicin, opioidi, nesteroidne protivnetne učinkovine
Idiopatska anafilaksija

4 RECEPTOR FcεRI IN EFEKTORSKE CELICE

Pri anafilaksiji in drugih alergijskih odzivih ima poglavitno vlogo aktivacija dveh vrst imunskih efektivskih celic, mastocitov in bazofilcev, ki si delita marsikatero podobnost, kot je izražanje $\alpha\beta\gamma$ 2 oblike receptorja FcεRI, ki veže IgE z veliko afiniteto. Ta lastnost jima določa poglavitno vlogo pri vnetjih in alergijskih reakcijah. Receptor in oba celična tipa bodo obravnavani ločeno v naslednjih poglavjih.



Slika 3: Shematski prikaz mastocita, bazofilca in receptorja velike afinitete FcεRI (Hellman in sod., 2017).

4.1 RECEPTOR VELIKE AFINITETE FcεRI

Čeprav mastociti in bazofilci izražajo tudi receptor male afinitete za protitelesa IgE FcεRII (CD23), je FcεRI nujen za z IgE posredovane imunске odzive, ki so najpogostejši izvor anafilaksije in podobnih alergijskih reakcij. Prištevamo ga v družino Fc receptorjev protiteles (FcR), ki imajo pomembno vlogo pri imunskih odzivih, saj vežejo specifična protitelesa na širok spekter celic imunskega sistema.

Pri ljudeh poznamo dve obliki, tetramerno $\alpha\beta\gamma_2$, ki je izražena na mastocitih in bazofilcih, in trimerno $\alpha\gamma_2$, ki se nahaja na monocitih, Langerhansovih celicah in dendritičnih celicah, v bistveno manjšem številu. Podenota α z veliko afiniteto veže del Fc (domeno C3) določenega protitelesa in je sestavljena iz zunajcelične domene, transmembranske domene in znotrajcelične domene, brez funkcije prenosa signala. Podenota β je sestavljena iz štirih transmembranskih domen ter kratkega citoplazemskega dela z motivom ITAM, ter je povezana s kinazo Lyn. Podenoti γ tvorita z disulfidno vezjo povezan dimer, vsaka podenota vsebuje motiv ITAM, prav tako v prisotnosti kinaze Lyn. V primeru agregacije FcεRI zaradi multivalentnega antigena, prepoznanega s strani protiteles IgE, kinaza Lyn fosforilira tirozinske ostanke na motivih ITAM podenot receptorja. Fosforilirani tirozinski ostanki nato privabijo kinazo Syk, ki sproži signalno kaskado preko fosforilacije naslednjih signalnih molekul. Ti dogodki vodijo v prenos dražljaja do procesov, aktivacijo in/ali degranulacijo mastocitov in bazofilcev (Garman in sod., 1998; Kepley in sod., 1998).

4.2 MASTOCITI

Mastociti so dolgo živeče celice hematopoetskega izvora, ki se nahajajo v tkivih, primarno ob krvnih žilah in epitelijskih površinah (npr. v koži, pljučih) in se odzivajo na signale prirojene in pridobljene imunosti z vnetnimi mediatorji ter imajo pglavitno vlogo pri vnetnih odzivih ter takojšnjih preobčutljivostnih reakcijah. Mastociti so do 20 μ m velike celice kroglaste in neenakomerno podolgovate oblike, ki vsebujejo značilne metakromatske citoplazemske granule z žveplom vsebujočimi proteoglikani.

4.2.1 Morfologija in razvoj

Mastociti se razvijejo iz CD34+ pluripotentnih hematopoetskih predniških celic, ki nastajajo v kostnem mozgu tekom visoko reguliranega procesa s transkripcijskimi faktorji. V krvni obtok se sprostijo pred diferenciacijo kot predniške celice, ki so morfološko gledano velike mononuklearne celice in ne vsebujejo granul. Na svoji površini izražajo različne molekule, med drugim transmembranski fosfoglikoprotein CD34, značilen za hematopoetske matične celice in KIT (CD117), receptor za dejavnik matičnih celic SCF. Kot takšne migrirajo v vezivna in mukozna tkiva, kjer v prisotnosti določenih molekul podležejo procesom proliferacije in diferenciacije (Tsai in sod., 1994).

Pri teh dogodkih ima poleg drugih pomembnih citokinov ključno vlogo dejavnik matičnih celic SCF, ki je izražen na površini fibroblastov, stromalnih in endotelijskih celic. Od tega je odvisen razvoj mastocitov, ki imajo na svoji površini izražen KIT (CD117), receptor iz družine tirozin kinaz III (Kirshenbaum in sod., 1991). Kodira ga gen *KIT*, ki ima pglavitno vlogo pri regulaciji mnogih kompleksnih bioloških mehanizmov vključno s hematopoezo, razvojem mastocitov,

ipd (Tsai in sod., 1994; Rottem in Okada, 1994). Citokin SCF sodeluje pri adheziji, migraciji, proliferaciji in preživetju mastocitov ter spodbuja sproščanje histamina in triptaze, ki sodelujeta pri alergijskih odzivih. Poleg tega je bilo tudi dokazano, da nekateri citokini, npr. IL-6, IL-11 in IL-9, ob prisotnosti SCF izboljšajo rast in preživetje mastocitov (Matsuzawa in sod., 2015; Shimizu in sod., 2002).

4.2.2 Diferenciacija

Od prisotnih citokinov je tudi odvisen nadaljnji razvoj mastocitov oz. njihova diferenciacija. Zreli mastociti so KIT (CD117) pozitivni in FcεRI pozitivni, izražajo pa tudi druge receptorje, odvisno od njihove lokacije in nivojev diferenciacije oz. aktivacije. Zrele mastocite delimo na dva fenotipsko različna podtipa na osnovi izražanja dveh proteaz, triptaze in himaze, ki se nahajata pretežno na različnih lokacijah in sta v interakcijah z različnimi tkivi. Mastociti MC_T vsebujejo zgolj triptazo in jih najpogosteje najdemo v epiteljskih mukoznih tkivih (npr. respiratorni in gastrointestinalni trakt), medtem ko se v mastocitih MC_{TC}, ki se nahajajo v vezivnih tkivih, izražata triptaza in himaza (serinska proteaza) ter tudi karboksipeptidazo A in katepsin G. Primarna vloga MC_T je zaščita organizma, MC_{TC} pa popravljanje poškodb v tkivih. Podtipa se razlikujeta tudi v profilu izraženih citokinov. V MC_T je visok nivo ekspresije IL-5 in IL-6, pri MC_{TC} pa IL-4 in IL-13, ki se pri MC_T izražata v bistveno nižjih koncentracijah. V povezavi s tolikšnimi razlikami med podtipi se pogosto omenja tudi pojav heterogenosti mastocitov. Oba podtipa sta lahko aktivirana preko protiteles IgE, le MC_{TC} aktivirajo podenote komplemента in spojina P, faktor aktivacija trombocitov pa stimulira zgolj podtip MC_T. (Suzuki in sod., 1995)

Čeprav je SCF pri diferenciaciji mastocitov do posameznega podtipa izredno pomemben, ni zadosten pogoj. Dokazano je bilo, da v pogojih *in vitro* ob prisotnosti citokina SCF mastociti ostanejo nezreli in ohranijo granule, ki vsebujejo zgolj triptazo. V primeru, da omenjeni suspenziji dodamo še IL-6, so celice morfološko bolj podobne zrelim mastocitom, vendar še vedno predstavljajo zgolj MC_T fenotip, saj se triptaza izraža, himaza pa se navadno ne izraža oz. se izraža v izredno majhnih količinah. Šele ob dodatku IL-4, ki poveča ekspresijo FcεRI, v prisotnosti SCF in IL-6 pride do diferenciacije mastocitov do fenotipa MC_{TC}, ki izraža triptazo in veliko količino himaze. Omenjeni podatki nakazujejo, da so za dokončno zrele mastocite poleg citokina SCF potrebni tudi drugi faktorji. V literaturi so poleg IL-4 in IL-6 omenjani tudi drugi, ki potencialno spodbudijo od SCF odvisno rast mastocitov oz. izboljšajo preživetje, in sicer IL-5 (spodbuja proliferacijo v prisotnosti SCF), IL-9, IL-10 in živčni rastni faktor NGF (Toru in sod., 1998; Ischoff in sod., 1999; Mierke in sod., 2000).

4.2.3 Mehanizem aktivacije

Najbolj preučen mehanizem je od IgE odvisna aktivacija mastocitov, ki je tudi najbolj verjetna pot, povezana z alergijskimi in preobčutljivostnimi reakcijami. Gre za aktivacijo preko receptorja velike afinitete FcεRI. Začetni dogodek je vstop polivalentnega antigena v organizem. Proti epitopom na alergenu celice B tvorijo protitelesa IgE, ki se z delom Fc vežejo na receptor FcεRI na mastocitih. Aktivacijo mastocitov sproži navzkrižna povezava protiteles IgE, pomembna signala za to pa sta prisotnost prostih protiteles IgE in IL-4. Dokazano je bilo, da IgE regulirajo ekspresijo receptorjev FcεRI na površini mišjih mastocitov v pogojih *in vivo*. Že vezava prostega, monomernega IgE na receptor sproži znotrajcelične signale, sproščanje

nekaterih mediatorjev in vdor Ca^{2+} ionov v celico preko specifičnih kanalčkov v membrani. Večja je koncentracija protiteles, več molekul IgE je na površini celic, hkrati pa je tudi večja produkcija citokinov, med drugim citokina IL-6 in mediatorja serotonina (Yamaguchi in sod., 1997).

Poleg omenjene aktivacije se mastociti aktivirajo tudi preko od IgE neodvisnih poti, in sicer s komponentama sistema komplementa, C3a in C5a, preko receptorjev C3aR in C5aR, z živčnim rastnim faktorjem NGF preko TRKA, s protitelesi IgG preko receptorja Fc γ R1 in z ligandi TLR preko receptorjev TLR, ki prepoznavajo določene strukturne molekule na mikroorganizmih. Profil in koncentracija citokinov, ki se ob aktivaciji sprosti iz mastocitov, sta odvisna od signalov, ki jih celica prejme, intenzitete signalov ter citokinov, prisotnih v okolici (Tomonobu in sod., 2012).

4.2.4 Mediatorji

Aktivirani mastociti izločajo številne mediatorje, ki jih ločimo na predhodno nastale in na novo nastale lipidne mediatorje ter citokine in kemokine (Ischoff in sod., 1999). Predhodno sintetizirani mediatorji, ki so nastali tekom aktivacije in se skladiščijo v citoplazemskih granulah, so histamin, serotonin, TNF α , karboksipeptidaza A, proteoglikani in širok spekter serinskih proteaz. Proteoglikani, vključno s heparinom, so shranjeni v granulah in zaradi svojega negativnega naboja tvorijo komplekse s histaminom, proteazami in drugimi molekulami. Pomen sproščenih mediatorjev je začetek imunskega odgovora, alergijski odziv ter privabljanje levkocitov na mesto vnetja. Čeprav mastociti izločajo številne mediatorje, lahko laboratorijsko ovrednotimo le nekatere izmed njih, izmed teh pa so le redki specifični za mastocite kot so npr. triptaza, PGD2, histamin in heparin v krvi ter PGD2, LTE4 in N-metil histamin v urinu. Omenjene molekule se skupaj s površinskimi celičnimi markerji pogosto merijo pri testih aktivacije mastocitov.

Sočasno se v mastocitih, aktiviranih preko Fc ϵ RI ali KIT, sproži eikozanoidna sintezna pot, po kateri se iz endogenih zalog arahidonske kisline *de novo* sintetizirajo eikozanoidni mediatorji. Arahidonska kislina je substrat za ciklooksigenaze, ki jo pretvarjajo v prostaglandine, in lipooksigenaze, ki katalizirajo pretvorbo v levkotriene in lipoksine. Najpogosteje so omenjani mediatorji prostaglandin D2 (PGD2), ki ga bazofilci ne sintetizirajo, levkotrien 4 (LTC4), ter peptidolitična produkta LTD4 in LTE4. Širok spekter dražljajev izzove tudi povečano izražanje genov, ki kodirajo citokine (interlevkine, interferone, ipd.), kemokine in rastne faktorje ter sintezo dušikovega oksida (Brown in sod., 2013).

4.2.5 Degranulacija

Degranulacija je celični proces, do katerega pride ob prisotnosti specifičnega antigena ali ustrezne molekule, pri čemer celica v hipu podleže zaporedju strukturnih sprememb, ki vodijo v zlivanje citoplazemskih granul z membrano in sproščanje njihove vsebine v zunanje okolje. Vsebnost mastocitnih granul je tesno pakirana, to omogočajo molekule proteoglikana serglicina, ki v svojem jedru vsebuje več serinskih ostankov, na katere se vežeta ali heparin ali hondroitin sulfat.

Z receptorjem FcεRI posredovana degranulacija, t.i. klasična pot degranulacije mastocitov, je odvisna od vdora kalcijevih ionov in regulirana s strani proteinov SNARE, ki vplivajo na zlivanje granul med seboj in s celično membrano ter se odzivajo na povišane koncentracije kalcija v citosolu. Proteini SNARE so skupina integralnih membranskih proteinov, vključenih v zadnje stopnje procesa zlivanja lipidnih dvoslojev, in so prisotni na sekretornih veziklih (v-SNARE) ter na plazemski membrani (t-SNARE). Ob stiku tvorijo makromolekularni kompleks, ki sodeluje pri reorganizaciji lipidnih dvoslojev in zlitju membran (Nishida in sod., 2005; Castle in sod., 2002).

4.3 BAZOFILCI

Bazofilci so bili odkriti relativno pozno, pred štiridesetimi leti, in predstavljajo najmanj zastopano populacijo granulocitov in hkrati manj kot 1 % levkocitov, zaradi česar jim raziskovalci na začetku po odkritju niso namenjali večje pozornosti. V zadnjem času pa so raziskave potrdile nekatere pomembne funkcije bazofilcev pri ljudeh in miših ter pokazale, da imajo ključno vlogo v alergijskih odzivih in njihovi regulaciji, saj v pogojih *in vivo* migrirajo v tkiva ter sodelujejo pri poteku vnetja, izzvanega s citokini Th2. (Peter Korosec in sod., 2017). Z mastociti si delijo več ključnih lastnosti, vključno z izražanjem receptorja FcεRI, sproščanjem citokinov Th2 ter histamina ob njihovi aktivaciji. Kljub temu predstavljajo povsem drugačno linijo imunskih celic z mnogimi edinstvenimi lastnostmi. Ena izmed njih je pogosto in veliko izražanje IL-4 in IL-13, v nasprotju z mastociti pa imajo bazofilci bistveno manjšo sposobnost proliferacije.

4.3.1 Morfologija in razvoj

Bazofilci so celice s podolgovatim, segmentiranim in kondenziranim jedrom in so kratkoživeče, saj je njihova življenjska doba ocenjena na približno 60 ur. Razlog za njihovo nenehno prisotnost v perifernem krvnem obtoku naj bi bil vseskozi potekajoči razvoj in obnavljanje celic iz kostnega mozga (Ohnmacht in Voehringer, 2009). IL-3 je glavni citokin, ki spodbuja diferenciacijo in preživetje bazofilcev v kostnem mozgu, poleg tega pa so tudi drugi rastni faktorji, ki regulirajo njihov razvoj, in sicer IL-5 in GM-CSF (Yamaguchia in sod., 1992).

V nasprotju z mastociti, ki se iz kostnega mozga v krvni obtok sprostijo še nezreli in razvoj dokončajo v perifernih tkivih, dokončna diferenciacija bazofilcev poteče v kostnem mozgu, kljub temu pa so v eni izmed raziskav ugotovili, da se v primeru vnetja nekatere celice, vključno s celicami GMP, sprostijo iz kostnega mozga ter podležejo ekstramedularni hematopoezi v perifernem krvnem obtoku. Pri tem imajo poveljavno vlogo faktorji, kot je timusni stromalni limfopoetin (TSLP), ki jih sproščajo epitelne celice (Siracusa in sod., 2014).

Poglavitni citokin, ki usmerja razvoj bazofilcev iz matičnih celic kostnega mozga, je IL-3, ki ga sproščajo aktivirane celice T. V tem primeru govorimo o populaciji z IL-3 izzvanih bazofilcev. Druga populacija, s TSLP izzvani bazofilci, se razvije iz predniške celice v odsotnosti IL-3, v prisotnosti citokina TSLP. Posledica obstoja dveh populacij bazofilcev so razlike v funkcionalnih in fenotipskih lastnostih. Heterogenost efektorskih funkcij je najbolj očitna pri prisotnosti posameznega tipa celic pri različnih alergijskih bolezenskih stanjih. Razlika je tudi v tem, da pri s TSLP izzvanih bazofilcih ob vezavi IgE na FcεRI ne pride do degranulacije, v nasprotju z bazofilci, izzvanimi z IL-3, pa se na nekatere interleukine (IL-3,

IL-18 in IL-33) odzovejo z visoko produkcijo IL-4 (Brunner in sod., 1993; Ohmori in sod., 2010).

4.3.2 Aktivacija

Aktivacija bazofilcev lahko poteče preko različnih signalov in izzove izpostavitve več molekul na površini celice. Najpogostejša je aktivacija preko protiteles IgE (z IgE izzvana aktivacija), pri čemer pride do navzkrižne povezave receptorjev FcεRI in protiteles IgE, vezanih na polivalentni antigen, to vodi v takojšnjo sproščanje histamina in levkotrienov ter drugih citokinov. Sočasno se poveča nivo izraženih površinskih celičnih markerjev bazofilcev, kot so CD63, CD203 in CD11, zato na omenjenih molekulah temeljijo testi aktivacije bazofilcev, ki se uporabljajo pri diagnostiki. CD63 je na površini izražen v visoki koncentraciji ob prisotnosti določenih citokinov, npr. IL-3, CD203 in CD11b pa sta locirana znotraj veziklov in se ob zlitju z membrano vzpostavita na površini. Pri miših aktivacija lahko poteče tudi s protitelesi IgG preko receptorjev FcγRIIA na enak način kot pri z IgE izzvani aktivaciji, le da se pri tem sprosti faktor aktivacije trombocitov PAF.

Aktivacijo lahko izzovejo citokini, poleg pglavitnega citokina aktivacije IL-3 so za ta dogodek odgovorni še drugi citokini (IL-18, IL-33, TSLP) (Suzukawa in sod., 2008). Bazofilci so sposobni tudi direktnega odziva na alergen, npr. na tuje proteaze. Dokazana je bila aktivacija bazofilcev ob prisotnosti proteaz pršice in helmitov, ki sproži produkcijo interlevkinov IL-4 in IL-13 (Phillips in sod., 2003).

Tako kot mastociti so tudi bazofilci lahko delno, vendar ne dokončno, aktivirani s C3a in C5a, povečano degranulacijo pa sprožajo naslednji faktorji: IL-5, GM-CSF, histamin sproščujoči faktor HRF in različni kemokini ter ligandi receptorjev TLR.

4.3.3 Mediatorji

Podobno kot pri mastocitih tudi mediatorje bazofilcev delimo v tri skupine: predhodno nastali mediatorji, na novo sintetizirani mediatorji in citokini oz. kemokini. Pglavitni predhodno nastali mediator je histamin, shranjen v citoplazemskih granulah. Nahaja se v kompleksu s proteoglikanom hondroitin sulfatom, ki ob eksocitozi in spremembni vrednosti pH disociira s kompleksa in histamin se sprosti v zunajcelično okolje. Tudi bazofilci lahko vsebujejo triptazo, vendar je njen nivo v primerjavi z mastocitno triptazo bistveno nižji, zato je med markerje aktivacije bazofilcev ne štejemo. Po aktivaciji bazofilcev se hitro aktivira metabolizem arahidonske kisline, ter podobno kot mastociti preko encima lipooksigenaze sintetizirajo levkotireni C4 (LTC4), D4 (LTD4) in E4 (LTE4). Poleg tega aktivirani bazofilci izražajo tudi citokine, kot so IL-4, IL-13 in GM-CSF (Ischoff in sod., 1999).

4.3.4 Degranulacija

Proces degranulacije bazofilcev je podoben mastocitnemu, le da še ni jasno, kdaj in kje tekom migracije pride do tega dogodka. V literaturi sta omenjani dve različni poti degranulacije, v povezavi s celičnim markerjem aktivacije bazofilcev, CD63. Model je nastal na podlagi študij o sproščanju histamina iz humanih bazofilcev ter transportu histamina v granulah v zunajcelično okolje. Prva, delna in počasnejša degranulacija (angl. piece-meal degranulation)

je postopen proces, pri katerem se iz obstoječih granul tvorijo manjši vezikli, ki prenašajo histamin proti membrani, ter ga ob zlitju z membrano sprostijo iz celice. V tem primeru lahko pride do sproščanja histamina v odsotnosti povečanega izražanja površinskega markerja CD63. Druga pot je anafilaktična degranulacija (angl. anaphylactic degranulation), pri kateri naj bi prišlo do zlivanja granul, ki se zlijejo z membrano in sprostijo histamin. V takih okoliščinah pride tudi do povišanega izražanja markerja CD63 (Dvorak in sod., 1976; Dvorak in sod., 1991; MacGlashan, 2010).

Poskusi *in vitro* so pokazali, da povečano izražanje CD63 sovпада z degranulacijo in sproščanjem histamina, pri študijah *in vivo* pa je zaenkrat še precej odstopanj in nejasnosti. Vzrok za to je pomanjkanje študij na bazofilcih v pogojih *in vivo*.

4.3.5 Migracija bazofilcev

Bazofilci se primarno nahajajo v krvnem obtoku, med alergijsko reakcijo pa potujejo na mesto vnetja (Iikura in sod., 2004). V nekaj študijah o sistemskih akutnih alergijskih reakcijah, kakršna je anafilaksija, je bilo detektiranih relativno malo bazofilcev, od tega je bila večina neaktivnih, zato jim niso pripisovali pomembne vloge. Razlog za detekcijo neaktiviranih bazofilcev je bila hipna migracija aktiviranih bazofilcev iz krvnega obtoka v tkivo, medtem ko so bili neaktivirani bazofilci še vedno prisotni v krvi. (Peter Korosec in sod., 2017). Bazofilci imajo na svoji površini izražene adhezijske molekule, integrine, ki se povežejo s svojimi ligandi na žilnem endoteliju. Ob prisotnosti citokina IL-3 se koncentracija izraženih integrinov poveča, hkrati se poveča tudi sposobnost adhezije. Kemokini, ki dokazano vplivajo na migracijo bazofilcev, so CCL2, CCL5 in CCL11, izražajo pa jih številni celični tipi. V kontekstu alergijskih reakcij, predvsem astme, se kot pomembni producenti CCL2 v literaturi najpogosteje omenjajo gladke mišične in epitelijske celice respiratornega trakta (Singh in sod., 2014; Zhao et al., 2014). Na bazofilcih so izraženi receptorji omenjenih ligandov, in sicer receptor CCR2, katerega ligand je CCL2, in receptor CCR3, katerega liganda sta CCL5 in CCL11. Slednji receptor je prisoten tudi na mastocitih, eozinofilcih in celicah Th2, zato je manj specifičen od receptorja CCR2, ki ni izražen na nobeni izmed omenjenih celic. Posledično se predvideva, da je CCL2 pglavilni kemokin za selektivno migracijo humanih bazofilcev, saj vpliva na migracijo bazofilcev z visoko učinkovitostjo, njegova koncentracija v krvi pa inverzno korelira s številom bazofilcev v krvnem obtoku (Peter Korosec in sod., 2017). Mastociti temu signalu ne podležejo (Ugucioni in sod., 1997), monociti, makrofagi in celice T pa, saj izražajo CCR2 in migrirajo k izvoru CCL oz. mestu vnetja, vendar sodelujejo pri prirojenem imunskem odzivu in nimajo ključne vloge pri anafilaksiji. So pomembni regulatorji vnetja in ugotovljeno je bilo, da bazofilci vplivajo na diferenciacijo vnetnih monocitov do M2 makrofagov, ki z zmanjšanjem vnetja regulirajo alergijske reakcije na koži (Egawa in sod., 2013).

Raziskave so pokazale tudi, da migracija humanih bazofilcev v prisotnosti IgE lahko nastopi tudi, če bazofilci niso aktivirani. Predvideva se, da je takšen razplet možen tudi v organizmu. Prisotnost IgE v krvnem obtoku doseže migracijo bazofilcev, ne pa tudi njihove aktivacije in degranulacije, če omenjeni dražljaj ni dovolj močan (Suzukawa in sod., 2005). Kaj je glavni razlog za migracijo bazofilcev med anafilaksijo in preobčutljivostnimi reakcijami, še ni znano. Korošec in sod. (2018) v preglednem članku o vlogi bazofilcev pri akutnih alergijskih reakcijah navajajo dve možni razlagi za ta pojav. Glede na z IgE izzvano migracijo bazofilcev je prva

razlaga ta, da bazofilci dosežejo območje vnetja in hkrati območje vdora antigena, ter na tem mestu podležejo aktivaciji in degranulaciji. S to razlago se predvideva tudi, da pri nekaterih posameznikih lahko prevladuje lokalna degranulacija bazofilcev, in ne generalizirana, kar pojasnjuje različno težo alergijskih reakcij.

Druga možna razlaga za migracijo bazofilcev je zaščita organizma pred prekomerno aktivacijo in degranulacijo bazofilcev v krvnem obtoku, ki bi sicer lahko izzvala resno obliko anafilaksije.

5 EFEKTORSKE FUNKCIJE MEDIATORJEV IN POMEN PRI ANAFILAKSIJI

5.1 HISTAMIN

Histamin je najbolj opisan mediator anafilaksije, ki se kot prvi sprosti iz celic v hipu po aktivaciji, z razpolovnim časom ene minute, zato se meri prisotnost njegovih metabolitov v urinu. Histamin je hidrofilen vazoaktiven amin, ki nastane z dekarboksilacijo histidina v Golgijevem aparatu, od koder se transportira v citoplazemske granule v ionski interakciji s kislinskimi ostanki glukozaminoglikanov. Primarno ga izločajo mastociti, v manjšem obsegu tudi bazofilci. Histamin vpliva na krčenje gladkih mišic, povečano prepustnost žil, zniževanje krvnega tlaka, pospeševanje srčnega utripa, moč kontrakcij srčne mišice, na centralni živčni sistem, itd. Na koži povzroča otekline oz. edeme in urtikarijo. Njegova najpomembnejša vloga je vpliv na vazodilatacijo, ki je posledica aktivacije vsaj enega izmed histaminskih receptorjev H1 in H2, prisotnih na gladkih mišicah žil. Vezava histamina na histaminski receptor H1 sproži sproščanje dušikovega oksida iz endotelija, ki povzroči vazodilatacijo, konstrikcijo gladkih mišic bronhijev in gastrointestinalnega trakta, spontane impulze za krčenje srca, ipd. Ob vezavi na histaminski receptor H2 pa so glavne posledice neposredna vazodilatacija, povečano krčenje srčne mišice in posledično povišan srčni utrip (Kaliner in sod., 1972). Poleg omenjenih dveh receptorjev obstajata še H3 in H4, vsi štirje pa sodijo med receptorje, spojene s proteinom G (GPCR). Slednji je odgovoren za aktivacijo več kinaz. Točen mehanizem poteka degranulacije še ni pojasnjen, predvideva pa se vključenost kompleksa proteinov SNARE v proces (Arrang in sod., 1983; Nanamori in sod., 2007).

5.2 TRIPTAZA

Triptaza se iz mastocitov sprosti takoj po aktivaciji, najvišjo koncentracijo v krvi pa določimo 60-90 minut po aktivaciji. Ker je v serumu bolj stabilna kot histamin in ostane njen nivo povišan do 6 ur po degranulaciji, je pomemben marker aktivacije mastocitov. Zaradi tega se merjenje triptaze v serumu uporablja za laboratorijsko potrditev anafilaksije. Obstajata dva glavna tipa, triptaza α , gen za njen intermediat se izraža konstitutivno, in triptaza β , ki je shranjena v granulah. Funkcija triptaze je zunajcelična cepitev substratov, deluje kot rastni faktor in stimulira endotelijske celice, da izražajo vnetne citokine, ki rekrutirajo druge celice na mesto vnetja in aktivacije mastocitov (Compton in sod., 1998). Določen nivo triptaze se izraža konstitutivno, v primeru anafilaksije pa se nivo triptaze v serumu znatno poveša, saj se iz mastocitnih granul sprosti triptaza β . Ta povišan nivo triptaze pogosto korelira s povišanim histaminom, ne pa vedno. V teh primerih se predvideva, da anafilaksija vključuje aktivacijo bazofilcev in ne mastocitov (Lin in sod., 2000). Ker nivo triptaze med anafilaksijo pogosto ni povišan, kar velja še posebej za anafilaksijo po hrani in zdravilih, se za laboratorijsko potrditev anafilaksije preučujejo novi markerji.

Pomembni funkciji triptaze sta tudi aktivaciji že omenjenega sistema komplementa in kontaktnega sistema, pri katerem iz mastocitov sproščeni heparin povzroči adsorbcijo proteaznega faktorja XII na negativno nabito površino mastocita, kar vodi v spremembo konformacije faktorja XII in njegovo aktivacijo. Kot tak ima sposobnost pretvorbe plazemskega prekalikreina v aktivno proteazo kalikrein, ki visoko molekularni kininogen proteolitsko pretvarja v bradikinin. Bradikinin je hormon, ki z vezavo na bradikininški receptor B2, spojen s proteinom G, poveča permeabilnost žil (Renne in sod., 2012).

5.3 LEVKOTRIENI

Levkotrieni, kot so LTB₄, LTC₄, LTE₄ in LTD₄, so izredno učinkovite signalne molekule z učinkom, močnejšim od učinka histamina. Tako kot prostaglandini so metaboliti arahidonske kisline in se začnejo sproščati nekaj minut za triptazo. Imajo sposobnost podaljšane in počasne krčenja gladkih mišic, predvsem mišic dihalnih poti, in povečanja prepustnosti žil.

5.4 FAKTOR AKTIVACIJE TROMBOCITOV

Faktor aktivacije trombocitov PAF je učinkovit provnetni fosfolipidni mediator in aktivator sinteze dušikovega oksida, ki ob vezavi na receptorje tarčnih celic lahko doprinese k nastanku akutne alergijske reakcije in anafilaksije. Vloga faktorja PAF je bila opisana na podlagi več raziskav na živalskih modelih, dokazali so, da faktor PAF nastaja med navzkrižno povezavo protitelesa IgE in receptorja FcεRI na humanih mastocitih in navzkrižno povezavo protitelesa IgG in receptorja FcγR. Razpolovni čas PAF je kratek, med 3 in 13 min, saj po eksocitozi v humanih mastocitih hitro poteče inaktivacija z acetilhidrolaznim encimom PAF-AH, ki omejuje njegovo biološko aktivnost. Dokazano je bilo, da ob povišanem nivoju PAF v krvi nivo aktivnega encima PAF-AH inverzno korelira s težo anafilaksije: nižja je aktivnost PAF-AH, višja je koncentracija PAF in posledično pride do težje oblike anafilaksije. Ti podatki nakazujejo, da ima hitra inaktivacija PAF morda zaščitno vlogo v organizmu (Vadas in sod., 2008; Vadas in sod., 2012; Fukuda in sod., 2000).

5.5 CITOKINI

Aktivacija mastocitov in bazofilcev izzove širok spekter mediatorjev, ki so odvisni od dražljajev, ki prispevajo k aktivaciji, receptorjev, ki se aktivirajo ob izpostavljenosti svojim ligandom, ipd. Citokini predstavljajo nepogrešljivo komponento signalnih povezav med različnimi celicami in so ključni pri razvoju in regulaciji naravne in pridobljene imunosti. So široka skupina molekul, sintetizirana s strani imunskih in neimunskih celic ter delujejo lokalno na celice v okolici z ustreznimi receptorji in vplivajo na celične procese kot sta vnetje in popraviljanje poškodb.

TNF-α je glavni vnetni citokin, ki nastaja tekom aktivacije imunskih celic, ki aktivira nevtrofilce, poveča kemotakso monocitov in produkcijo drugih citokinov pri limfocitih T. Ker je TNF-α relativno težko določiti pri osebah z anafilaksijo, kot marker pogosto uporabljajo nivo receptorja TNF-α v serumu. Poleg tega je TNF-α prisoten predvsem v vnetih tkivih in se ne izloča v krvni obtok. Njegova glavna funkcija je prenos signala z mesta vdora alergena do drugih celic (Kang in sod., 2008). Pomemben in učinkovit provnetni citokin s ključno vlogo pri

anafilaksiji je tudi IL-6, ki ga ob aktivaciji izločajo mastociti, makrofagi in limfociti T. Dokazano je bilo, da povišan nivo IL-6 močno korelira s pojavom hipotenzije (Kang in sod., 2008). IL-10 je regulatorni in protivnetni citokin, ki pri anafilaksiji znižuje učinek provnetnih mediatorjev. Dokazali so, da regulatorne celice T (Treg) zavirajo anafilaksijo in da imajo povečano izražanje IL-10. Poleg tega so na mišjem modelu dokazali, da nevtralizacija IL-10 lahko sproži anafilaksijo (Scabeni in sod., 2008).

6 DISKUSIJA

Anafilaksija kot potencialno smrtno nevarna oblika preobčutljivostne reakcije na specifičen alergen je zaradi svoje nepredvidljivosti zahtevna za izvedbo študij *in vivo* na humanih bazofilcih, zato marsikatero vprašanje dlje časa ostane nepojasnjeno. Eno izmed teh je vloga bazofilcev pri razvoju in poteku anafilaksije. Kljub nekaterim pomembnim skupnim lastnostim z mastociti, katerih funkcija v alergijskih reakcija in anafilaksiji je dobro poznana, se v marsičem razlikujejo. Njihova redkost, visoka občutljivost na provokacijo s protitelesi IgE, kinetika sproščanja mediatorjev, vpletenost posamezne populacije bazofilcev v določene bolezni, sposobnost migracije in adhezije na endotelij so le nekatere izmed lastnosti, ki so najverjetneje pomembne pri nadaljnjih raziskavah doprinosa bazofilcev k anafilaksiji ter razvoju novih načinov zdravljenja. Izrednega pomena je odkritje selektivnega mehanizma migracije bazofilcev v tkiva med anafilaksijo na osnovi kemotaktičnega faktorja CCL2, ki odpira nova vprašanja in pogled na vlogo bazofilcev v alergijskih reakcijah. Kdaj pride do aktivacije in degranulacije bazofilcev še ni znano, predvideva pa se, da migracija lahko nastopi brez posledične degranulacije. Posledično obstaja možnost, da degranulacija poteče delno pred migracijo v krvnem obtoku, delno po migraciji v tkivu ali pa se ta proces ne sproži, ker prag za degranulacijo ni dosežen. Na tej točki se pojavi vprašanje, ali gre pri tem za zaščitni mehanizem organizma, ki ščiti pred močno anafilaksijo kot možne posledice degranulacije v krvnem obtoku. Za razumevanje faktorjev, ki vodijo v migracijo in aktivacijo bazofilcev, bo v prihodnosti potrebno izvesti dodatne študije.

Obstajajo tudi druge omejitve. Ena izmed njih so klinični testi za potrditev anafilaksije. Pomemben klinični biomarker je triptaza, ki jo producirajo aktivirani mastociti, vendar je v približno 30 % primerov anafilaksij znotraj normalnih vrednosti, kar otežuje diagnostiko in hkrati predpostavlja lokalno degranulacijo mastocitov in ne sistemske reakcije. Poleg tega se na podlagi obstoječih podatkov predvideva, da je anafilaksija pri nekaterih bolnikih posledica degranulacije izključno bazofilcev, kar je v nasprotju z dosedanjim razumevanjem teh mehanizmov. Omejitve predstavljajo tudi številne razlike v funkciji in morfologiji med humanimi in mišjimi bazofilci, zato je neposredna primerjava rezultatov težavna.

Očitno je, da se kompleksnost anafilaksije kaže na več nivojih. Spremlja jo več različnih mehanizmov, dražljajev, kliničnih znakov, anafilaktični dogodki pa se pogosto razlikujejo v hitrosti napredovanja, prvih simptomih, teži anafilaksije in drugih lastnostih, ki so pogosto specifične za posameznega bolnika. Posledično ni enotnega algoritma za predvidevanje anafilaksije, zato sta pregled obstoječih študij in analiza rezultatov pomembna za prihodnje diagnostične in terapevtske strategije pri anafilaksiji.

7 VIRI

- Arrang J. M., Garbarg M., Schwartz J. C. 1983. Auto-inhibition of brain histamine release mediated by a novel class (H3) of histamine receptor. *Nature*, 302: 832–837
- Brown S.G.A., Stone S.F., Fatovich D.M., Celenza A., Coulson A., Hartnett L. 2013. Anaphylaxis: Clinical patterns, mediator release, and severity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 132: 1141-1149
- Brunner B.T., Heusser C.H., Dahinden C.A. 1993. Human peripheral blood basophils primed by interleukin 3 (IL-3) produce IL-4 in response to immunoglobulin E receptor stimulation. *The Journal of Experimental Medicine*, 177: 605-611
- Castle J.D., Guo Z., Liu L. 2002. Function of the t-SNARE SNAP-23 and secretory carrier membrane proteins (SCAMPs) in exocytosis in mast cells. *Molecular Immunology*, 38: 1337–1340
- Cheifetz A., Smedley M., Martin S., Reiter M., Leone G., Mayer L., Plevy S. 2003. The incidence and management of infusio reactions to infliximab: A large center experience. *International Archives of Allergy and Immunology*, 98: 1315-1324
- Compton S.J., Cairns J.A., Holgate S.T., Walls A.F. 1998. The role of mast cell tryptase in regulating endothelial cell proliferation, cytokine release, and adhesion molecule expression: tryptase induces expression of mRNA for IL-1 beta and IL-8 and stimulates the selective release of IL-8 from human umbilical vein endothelial cells. *The Journal of Immunology*, 161: 1939–1946
- Dvorak A.M., Dickersin G.R., Connell A., Carey R., Dvorak H.F. 1976. Mechanisms in human basophils leukemic basophils. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 5: 235–246
- Dvorak A.M., Massey W., Warner J., Kissell S., Kagey A., Lichtenstein M. 1991. IgE-mediated anaphylactic degranulation of isolated human skin mast cells. *The Cell*, 77: 569–578
- Egawa M, Mukai K, Yoshikawa S, Iki M, Mukaida N, Kawano Y, Minegisji Y, Karasuyama H. 2013. Inflammatory monocytes recruited to allergic skin acquire an anti-inflammatory M2 phenotype via basophil-derived interleukin-4. *Immunity*, 38: 570–580
- Farnam K., Teuber S., Eric M. 2012. Nonallergic Drug Hypersensitivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 159: 327–345
- Fukuda Y., Kawashima H., Saito K., Inomata N., Matsui M. 2000. Effect of human plasma-type platelet-activating factor acetylhydrolase in two anaphylactic shock models. *European Journal of Pharmacology*, 390: 203–207
- Garman S.C., Kinet J., Jardetzky T. S. 1998. Crystal structure of the human high-affinity IgE receptor. *The Cell*, 95: 951–961
- Hellman L.T., Akula S., Thorpe M., Fu Z. 2017. Tracing the Origins of IgE , mast cells and allergies by studies of wild animals. *Frontiers in Immunology*, 8: 1–22
- Iikura M., Ebisawa M., Yamaguchi M., Hirai K. 2004. Transendothelial migration of human basophils. *The Journal of Immunology*, 173: 5189–5195

- Ischoff S.C.B., Ellge G.S., Orentz A.L., Ebald W.S., Aab R.R., Anns M.P.M. 1999. IL-4 enhances proliferation and mediator release in mature human mast cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96: 8080–8085
- Ishikawa R., Tsujimura Y., Obata K., Kawano Y., Minegishi Y., Karasuyama H. 2010. Biochemical and biophysical research communications IgG-mediated systemic anaphylaxis to protein antigen can be induced even under conditions of limited amounts of antibody and antigen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 402: 742–746
- Kaliner M., Sigler R., Summers R., Shelhamer J.H., Washington M.D. 1972. Effects of infused histamine : analysis the effects of H-1 and H-2 histamine receptor antagonists on cardiovascular and pulmonary responses. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 68: 365–371
- Kang N., Kim H., Ko H., Kim J. 2008. Tumor necrosis factor-alpha develops late anaphylactic reaction through cytosolic phospholipase A 2 activation. *International Archives of Allergy and Immunology*, 182: 315–322
- Kepley C.L., Wilson B.S., Oliver J.M. 1998. Identification of the Fc ϵ RI-activated tyrosine kinases Lyn , Syk , and Zap-70 in human basophils. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 102: 304–315
- Khodoun M, Strait R, Orekov T, Hogan S, Karasuyama H, Herbert R., Köhl J., Finkelman F.D. 2010. Peanuts can contribute to anaphylactic shock by activation complement. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 123: 342–351
- Kirshenbaum Arnold D., Kessler Steven, Goff J, Metcalfe D. 1991. Demonstration of the origin of human mast cells from CD34+ bone marrow progenitor. *The Journal of Immunology* 146, 1410-1415
- Korosec P., Gibbs B.F., Rijavec M., Custovic A., Turner P.J. 2018. Important and specific role for basophils in acute allergic reactions. *Clinical & Experimental Allergy*, 48: 502–512
- Korosec P., Turner P.J., Silar M., Kopac P., Kosnik M., Gibbs B.F., Shamji M.H., Custovic A., Rijavec M. 2017. Basophils, high-affinity IgE receptors, and CCL2 in human anaphylaxis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 140: 750-758
- Lin R.Y., Schwartz L.B., Curry A., Gene R., Knight R.J., Lee H., Bakalchuk L., Tenenbaum C., Westfal R.E., York N. 2000. Histamine and tryptase levels in patients with acute allergic reactions : An emergency department – based study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106: 65–71
- MacGlashan D.J. 2010. Expression of CD203c and CD63 in human basophils : relationship to differential regulation of piecemeal and anaphylactic degranulation processes. *Clinical & Experimental Allergy*, 40: 1365–1377
- Matsuo H., Yokooji T., Morita H., Ooi M., Urata K., Ishii K., Takahagi S., Yanase Y., Hiragun T., Mihara S., Hide M. 2013. Aspirin augments IgE-mediated histamine release from human peripheral basophils via Syk Kinase Activation. *Allergology International*, 62: 503–511.

- Matsuzawa S., Sakashita K., Kinoshita T., Ito S., Yamashita T., Koike K., Alerts E. 2015. IL-9 enhances the growth of human mast cell progenitors under stimulation with stem cell factor. *The Journal of Immunology*, 170: 3461-3467
- Mcneil B.D., Pundir P., Meeker S., Han L., Udem B.J., Kulka M., Dong X. 2014. Identification of a mast-cell-specific receptor crucial for pseudo-allergic drug reactions. *Nature*, 519: 237–241
- Mierke C.T., Ballmaier M., Werner U., Manns M.P., Welte K., Bischoff S.C. 2000. Human endothelial cells regulate survival proliferation of human mast cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 192: 801-811
- Nanamori M., Chen J., Du X., Richard D., Nanamori M., Chen J., Du X., Ye R.D. 2007. Regulation of leukocyte degranulation by cGMP-dependent protein kinase and phosphoinositide 3-Kinase. *The Journal of Immunology*, 178: 416–427
- Nishida K., Yamasaky S., Ito Y., Kabu K., Hattori K., Tezuka T., Nishizumi H., Kitamura D., Goitsuka R., Geha R.S., Yamamoto T., Yagi T., Hirano T. 2005. FcεRI-mediated mast cell degranulation requires calcium-independent microtubule-dependent translocation of granules to the plasma membrane. *The Journal of Cell Biology*, 170: 115–126
- Ohmori K, Luo Y., Jia Y., Jun N., Zhengqi W., Bunting K., Wang D., Huang H. 2010. IL-3 induces basophil expansion in vivo by directing granulocyte-monocyte progenitors to differentiate into basophil lineage-restricted progenitors in the bone marrow and by increasing the number of basophil/mast cell progenitors in the spleen. *The Journal of Immunology*, 182: 2835–2841
- Ohnmacht C. in Voehringer D. 2009. Basophil effector function and homeostasis during helminth infection. *The Blood*, 113: 2816–2826
- Oppong E., Flink N., Cato A.C.B. 2013. Molecular and Cellular Endocrinology Molecular mechanisms of glucocorticoid action in mast cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 380: 119–126
- Osborne N.J., Koplin J.J., Martin P.E., Hons B., Gurrin L.C., Lowe A.J., Matheson M.C., Ponsonby A., Wake M., Tang M.L.K., Dharmage S.C., Allen K.J., Al O. 2011. Prevalence of challenge-proven IgE-mediated food allergy using population-based sampling and predetermined challenge criteria in infants. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 127: 668-676
- Phillips C., Coward W.R., Pritchard D.I., Hewitt C.R.A. 2003. Basophils express a type 2 cytokine profile on exposure to proteases from helminths and house dust mites. *Journal of Leukocyte Biology*, 73: 165-171
- Reber L.L., Hernandez J.D., Galli S.J. 2017. The pathophysiology of anaphylaxis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 140: 335–348
- Reed J., Yedulapuram M., Lieberman P., Fitzpatrick E. 2006. Differences in Cytokine Production Between Idiopathic Anaphylaxis (IA) Subjects and Controls. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117, 2: 305
- Renne T., Schmaier A.H., Nickel K.F., Blomba M. 2012. In vivo roles of factor XII. *Blood*,

120: 4296–4304

- Rottem B.M., Okada T. 1994. Mast cells cultured from the peripheral blood of normal donors and patients with mastocytosis originate from a CD34+/Fc6RI- cell population. *The Blood*, 84: 2489–2496
- Scabeni S., Lapilla M., Musio S., Ciusani E., Steinman L., Pedotti R., Scabeni S., Lapilla M., Musio S., Gallo B., Ciusani E., Steinman L., Mantegazza R., Pedotti R. 2008. CD4+CD25+ regulatory T cells specific for a thymus-expressed antigen prevent the development of anaphylaxis. *The Journal of Immunology*, 180: 4433–4440
- Shimizu Y., Sakai K., Miura T., Narita T., Tsukagoshi H., Satoh Y., Ishikawa S., Morishita Y., Takai S., Miyazaki M., Mori M., Saito H., Xia H., Schwartz L.B. 2002. Characterization of 'adult-type' mast cells derived from human bone marrow CD34+ cells cultured in the presence of stem cell factor and interleukin-6. Interleukin-4 is not required for constitutive expression of CD54, FcERI and chymase, and CD13 expression is reduced during differentiation. *Clinical & Experimental Allergy*, 32: 872–880
- Simons F.E.R., Arduoso L.R.F., Bilò M.B., Cardona V., Ebisawa M., El-gamal Y.M., Lieberman P., Lockey R.F., Muraro A., Roberts G., Sanchez-borges M., Sheikh A. 2014. ICON on anaphylaxis: 1–19
- Singh S.R., Sutcliffe A., Kaur D., Gupta S., Desai D., Saunders R., Brightling C.E. 2014. CCL2 release by airway smooth muscle is increased in asthma and promotes fibrocyte migration. *European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 69: 1189–1197
- Siracusa M. C., Saenz S. A., Tait Wojno D., Kim S., Osborne L., Ziegler C. G., Benitez A. J., Ruymann K. R., Farber D. L., Patrick M., Hakonarson H., Cianferoni A, Wang L., Spergel, J. D. 2014. Thymic stromal lymphopoietin-mediated extramedullary hematopoiesis promotes allergic inflammation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 39: 1158–1170
- Strait R.T., Morris S.C., Yang M., Qu X., Finkelman F.D. 2002. Pathways of anaphylaxis in the mouse. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 109: 658–66
- Suzukawa M., Hirai K., Iikura M., Nagase H., Komiya A., Yoshimura-Uchiyama C., Yamada H., Ra C., Ohta K., Yamamoto K., Yamaguchi M. 2005. IgE- and FcεRI-mediated migration of human basophils. *International Immunology*, 17: 1249–1255
- Suzukawa M., Iikura M., Koketsi R., Nagase H., Tamura C., Komiya A., Nakae S., Ohta K., Yamamoto K., Yamaguchi M. 2008. An IL-1 cytokine member, IL-33, induces human basophil activation via its ST2 receptor. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 181: 5981–5989
- Suzuki H., Muira S., Liu Y., Tsuchiya M., Ishii H. 1995. Substance P induces degranulation of mast cells and leukocyte adhesion to venular endothelium. *Peptides*, 16, 8: 1447–1452
- Tomonobu I., Smrz D., Jung M., Bandara G., Desai A., Smrzova S., Beaven M., Metcalfe D., Gilfillan A.M. 2012. Stem cell factor programs the mast cell activation phenotype. *The Journal of Immunology*, 188: 5428–5437
- Toru B.H., Eguchi M., Matsumoto R., Yanagida M., Yata J., Nakahata T. 1998. Interleukin-4

- promotes the development of tryptase and chymase double-positive human mast cells accompanied by cell maturation. *The Blood* 91, 1: 187-195
- Tsai M., Ando A., Wershil B.K. 1994. The c-kit ligand, stem cell factor, promotes mast cell survival by suppressing apoptosis. *American Journal of Pathology*, 144, 2: 321-328
- Ugucioni M., Baggiolini M., Dahinden C. 1997. High expression of the chemokine receptor CCR3 in human blood basophils. *Journal of Clinical Investigation*, 100: 1137–1143
- Vadas P., Gold M., Perelman B., Liss G.M., Lack G., Blyth T., Simons F.E.R., Simons K.J., Cass D., Yeung J. 2008. Platelet-activating factor, PAF acetylhydrolase, and severe anaphylaxis. *The New England Journal of Medicine*, 358: 28–35
- Vadas P., Perelman B., Liss G. 2012. Platelet-activating factor, histamine, and tryptase levels in human anaphylaxis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 131: 144–149
- Veien M., Szlam F., Holden J., Yamaguchi K.D., Donald D., Levy J.H. 2000. Mechanisms of nonimmunological histamine and tryptase release from human cutaneous mast cells. *Anesthesiology*, 92, 4: 1074–1081
- Versluis A., van Os-Medendorp H., Kruizinga A.G., Blom W.M., Houben G.F., Knulst A.C. 2016. Cofactors in allergic reactions to food: physical exercise and alcohol are the most important. *Immunity, Inflammation and Disease*, 4: 392–400
- Wölbing F., Fischer J., Köberle M., Kaesler S., Biedermann T. 2013. About the role and underlying mechanisms of cofactors in anaphylaxis. *European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 68: 1085–1092
- Wong J.T., Ripple R.E., Maclean J.A., Marks D.R., Bloch K.J. 1994. Vancomycin hypersensitivity: Synergism with narcotics and "desensitization" by a rapid continuous intravenous protocol. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 94: 189–194
- Worm M., Eckermann O., Dölle S., Aberer W., Beyer K., Hawranek T., Hompes S., Koehli A., Mahler V., Nemat K., Niggemann B., Pföhler C., Rabe U., Reissig A., Rietschel E., Scherer K., Treudler R., Ruëff F. 2014. Triggers and treatment of anaphylaxis: an analysis of 4,000 cases from Germany, Austria and Switzerland. *Deutsches Arzteblatt International*, 111: 367–375
- Yamaguchi B.M., Lantz C.S., Oettgen H.C., Katona I.M., Fleming T., Miyajima I., Kinet J., Galli S.J. 1997. IgE enhances mouse mast cell FcεRI expression in vitro and in vivo: evidence for a novel amplification mechanism in IgE-dependent reactions. *The Journal of Experimental Medicine* 185, 4: 663-672
- Yamaguchi M., Hirai K., Morita Y., Takaishia T., Suzuki S., Motoyoshi K., Kawanami O., Ito K. 1992. Hemopoietic Growth Factors Regulate the Survival of Human Basophils in vitro. *International Archives of Allergy and Immunology*, 113: 322–329
- Zhao, L., Yang, W., Yang, X., Lin, Y., Lv, J., Dou, X., Luo, Q., Dong, J., Chen, Z., Chu, Y., He, R., 2014. Chemerin suppresses murine allergic asthma by inhibiting CCL2 production and subsequent airway recruitment of inflammatory dendritic cells. *European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 69: 763–774