

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345

Nikol Bouzková

Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020

**SENZIBILIZAČNÍ PROFIL U PACIENTŮ S ALERGIÍ NA
BŘÍZU**

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Ing. Tomáš Vlas

PLZEŇ 2021

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

Fakulta zdravotnických studií

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Nikol BOUZKOVÁ**
Osobní číslo: **Z18B0123P**
Studijní program: **B5345 Specializace ve zdravotnictví**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Senzibilizační profil u pacientů s alergií na břízu**
Zadávající katedra: **Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví**

Zásady pro vypracování

- Zpracovat seznam odborné literatury
- Stanovit cíl kvalifikační práce
- Zpracovat teoretickou a praktickou část práce dle požadavků FZS
- Popsat metodiku praktické části
- Vypracovat diskuzi a závěr kvalifikační práce
- Dodržet formální úpravu kvalifikační práce dle požadavků FZS
- Dodržet citační normu

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah grafických prací:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

- HOŘEJŠÍ, Václav a Jiřina BARTŮŇKOVÁ. Základy imunologie. Vyd.3. Praha: Triton, 2005. ISBN 80-725-4686-4.
- ŠPIČÁK, Václava Petr PANZER. Alergologie. Praha: Galén, 2004. ISBN 80-726-2265-x.
- FUCHS, Martin. Potravinové alergie a intolerance. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3757-0.
- PANZER, Petr, a další. Analýza senzibilizačních profilů pylových alergiků z oblasti západních Čech. Alergie. 2014, 4. ISSN 1212-3536.
- PHADIA. ImmunoCAP ISAC sIgE [online]. Uppsala, Sweden: Thermo scientific, 2015.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Bc. Tomáš Vlas

Katedra záchranářství, diagnostických oborů
a veřejného zdravotnictví

Datum zadání bakalářské práce: **1. června 2020**

Termín odevzdání bakalářské práce: **31. března 2021**



PhDr. Lukáš Štich, MBA
děkan



Mgr. Stanislava Reichertová
vedoucí katedry

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a všechny použité prameny jsem uvedla v seznamu literatury.

V Plzni dne 30. 3. 2021

.....

vlastnoruční podpis

Abstrakt

Příjmení a jméno: Bouzková Nikol

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Senzibilizační profil u pacientů s alergií na břízu

Vedoucí práce: Ing. Tomáš Vlas

Počet stran – číslované: 41

Počet stran – nečíslované: 24

Počet příloh: 2

Počet titulů použité literatury: 29

Klíčová slova: senzibilizační profil, specifické IgE protilátky, ImmunoCAP ISAC, alergie, alergeny, zkřížené reakce

Souhrn:

Tato bakalářská práce se zaměřuje na sledování senzibilizačních profilů pacientů s alergií na některé březové alergeny. Senzibilizační profily byly sestaveny na základě výsledků retrospektivní analýzy souboru dat naměřených pomocí metody ImmunoCAP ISAC. Následně byly porovnány s homologií 20 nejfrekventovanějších alergenů senzibilizačního profilu. U senzibilizačního profilu Bet v 1 byly nejfrekventovanějšími alergeny lískový ořech (Cor a 1.0401), jablko (Mal d 1) a bojínek (konkrétně alergen Phl p 1). V senzibilizačním profilu Bet v 2 to pak byl alergen latexu (Hev b 8), jeden z alergenů bojínku (Phl p 1) a pyl bažanky (Mer a 1). U alergenu Bet v 4 se v senzibilizačním profilu nejčastěji vyskytovala přecitlivělost na alergeny bojínku (konkrétně Phl p 1 a Phl p 7) a alergen troskutu (Cyn d 1). Bylo potvrzeno, že u některých alergenů je pozitivita vázána na homologii v rámci jejich rodiny (konkrétně rodiny PR-10 proteinů, profilinů nebo polkalcinů). Pokud alergen nepatří ani do jedné z těchto rodin, jedná se nejčastěji o kosenzibilizaci.

Abstract

Surname and name: Bouzková Nikol

Department: Department of Rescue Services, Diagnostic Fields and Public Health

Title of thesis: Sensitization profile in birch pollen-allergic patients

Consultant: Ing. et Bc. Tomáš Vlas

Number of pages – numbered: 41

Number of pages – unnumbered: 24

Number of appendices: 2

Number of literature items used: 29

Keywords: sensitization profile, specific IgE antibodies, ImmunoCAP ISAC, allergy, allergens, cross-reactions

Summary:

This bachelor thesis focuses on monitoring the sensitization profiles of patients with allergies to some birch allergens. Sensitization profiles were compiled based on the results of a retrospective analysis of the data set. The results were measured using ImmunoCAP ISAC method. Then they were compared with the homology of the 20 most frequent allergens of the sensitization profile. The most frequent allergens in the sensitization profile Bet v 1 were hazelnut (Cor a 1.0401), apple (Mal d 1) and timothy (specifically allergen Phl p 1). In the sensitization profile Bet v 2 it was an allergen of latex (Hev b 8), timothy (Phl p 1) and pollen from annual mercury (Mer a 1). In the case of the allergen Bet v 4, hypersensitivity to the timothy allergens (specifically Phl p 1 and Phl p 7) and debris allergen (Cyn d 1) were most common in the sensitization profile. It has been confirmed that the positivity of some allergens is linked to homology within their family. (specifically the PR-10 proteins, profilin or polcalcin family). If the allergen doesn't belong to any of these families, it is most often cosensitization.

Předmluva

Toto téma bakalářské práce jsem si vybrala, protože mě obor imunologie zajímá. Chtěla jsem se dozvědět více informací o způsobech diagnostiky, monitorování a léčby alergických onemocnění. Diagnostika alergií zahrnuje velké množství kožních, laboratorních a dalších testů. I když je v dnešní době velmi rozsáhlá, interpretace výsledků bývá mnohdy obtížná. Častým problémem bývá zkřížená reaktivita. Alergie na pyl břízy se v populaci vyskytují velmi často. Proto cílem této bakalářské práce bylo sledování senzibilizačních profilů pacientů s pozitivitou na Bet v 1, Bet v 2 a Bet v 4. Senzibilizační profil pacienta slouží jako pomocný nástroj v diagnostice a léčbě alergie.

Poděkování

Děkuji Ing. Tomáši Vlasovi za odborné vedení práce, poskytování rad a materiálních podkladů. Dále děkuji Ústavu imunologie a alergologie FN Plzeň za poskytnutí výsledků, které jsou součástí mé bakalářské práce.

OBSAH

SEZNAM GRAFŮ.....	12
SEZNAM OBRÁZKŮ.....	13
SEZNAM TABULEK.....	14
SEZNAM ZKRATEK.....	15
ÚVOD.....	17
TEORETICKÁ ČÁST.....	18
1 ALERGIE.....	18
1.1 Atopie.....	18
1.2 Anafylaxe.....	18
1.3 IgE protilátky.....	19
2 ALERGENY.....	21
2.1 Názvosloví alergenů.....	21
2.2 Druhy alergenů.....	22
2.2.1 Pyly.....	22
2.2.2 Spóry plísní.....	22
2.2.3 Roztoči a zvířecí alergeny.....	22
2.2.4 Potravinové alergeny.....	23
2.2.5 Hmyzí alergeny.....	23
2.2.6 Lékové alergeny.....	23
2.3 Zkřížené reakce.....	24
2.4 Panalergeny.....	25
2.4.1 PR-10 proteiny.....	25
2.4.2 Profiliny.....	26
2.4.3 Polkalciny.....	26
2.5 Rekombinantní alergeny.....	26
3 DIAGNOSTIKA ALERGIE.....	28
3.1 Anamnéza a klinické vyšetření.....	28
3.2 Kožní testy.....	28
3.2.1 Prick testy.....	28
3.2.2 Intradermální testy.....	29
3.2.3 Epikutánní testy.....	29
3.3 Laboratorní vyšetření.....	29
3.3.1 Stanovení celkových IgE protilátek.....	30
3.3.2 Stanovení specifických IgE protilátek.....	30
3.3.3 Stanovení mediátorů alergického zánětu.....	31

3.4	Provokační a expoziční testy.....	31
4	METODY STANOVENÍ SPECIFICKÝCH IGE.....	32
4.1	ImmunoCAP	32
4.2	Immulite 2000	32
4.3	ImmunoCAP ISAC	32
4.4	ALEX	33
5	ALERGICKÁ ONEMOCNĚNÍ.....	34
5.1	Alergická rýma.....	34
5.2	Astma bronchiale	34
5.3	Atopický ekzém	34
5.4	Kopřivka a angioedém	35
5.5	Orální alergický syndrom.....	36
6	LÉČBA.....	37
6.1	Eliminace alergenů.....	37
6.2	Farmakoterapie.....	37
6.2.1	Antihistaminika	37
6.2.2	Antileukotrieny	37
6.2.3	Kortikosteroidy	38
6.2.4	Kromony	38
6.2.5	Metylxanthiny	38
6.3	Alergenová imunoterapie	38
6.4	Biologická léčba.....	40
	PRAKTICKÁ ČÁST.....	41
7	CÍL A ÚKOLY PRÁCE.....	41
7.1	Hlavní cíl.....	41
8	VÝZKUMNÉ PROBLÉMY	42
9	CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU.....	43
10	METODIKA PRÁCE.....	44
10.1	ImmunoCAP ISAC	44
11	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ.....	46
11.1	Senzibilizační profil u pacientů s pozitivitou na alergen Bet v 1	48
11.2	Senzibilizační profil u pacientů s pozitivitou na alergen Bet v 2.....	50
11.3	Senzibilizační profil u pacientů s pozitivitou na alergen Bet v 4.....	52
	DISKUZE.....	54
	ZÁVĚR	57
	SEZNAM LITERATURY	58
	SEZNAM PŘÍLOH	62

PŘÍLOHY	63
Příloha A – Výsledkový list ImmunoCAP ISAC – kontrola	63
Příloha B – Souhlas s poskytováním informací	65

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Senzibilizační profil u pacientů s pozitivitou na alergen Bet v 1	48
Graf 2 Senzibilizační profil u pacientů s pozitivitou na alergen Bet v 2	50
Graf 3 Senzibilizační profil u pacientů s pozitivitou na alergen Bet v 4	52

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Monomer imunoglobulinu – IgE	19
Obrázek 2 Stabilita proteinů - riziko závažné alergické reakce u potravinové alergie	26
Obrázek 3 Výsledek prick testu	29
Obrázek 4 Mechanismus účinku specifické AIT	39
Obrázek 5 ImmunoCAP ISAC čip	44

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Příklady zkřížené alergie pyly – potraviny	25
Tabulka 2 Rozdělení do tříd podle odpovídající hladiny specifických IgE protilátek v ISU-E jednotkách	45
Tabulka 3 Seznam pozitivních alergenů u pacientů senzibilizovaných pyly břízy.....	46
Tabulka 4 Relativní četnosti alergenů senzibilizačního profilu, jejich homologie s Bet v 1 a zařazení do příslušné rodiny.....	49
Tabulka 5 Relativní četnosti alergenů senzibilizačního profilu, jejich homologie s Bet v 2 a zařazení do příslušné rodiny.....	51
Tabulka 6 Relativní četnosti alergenů senzibilizačního profilu, jejich homologie s Bet v 4 a zařazení do příslušné rodiny.....	53

SEZNAM ZKRATEK

AIT	Alergenová imunoterapie
ALEX	Allergy Explorer
BAT	Test aktivace bazofilů
CCD.....	Cross-reactive carbohydrate determinants, Zkříženě reagující sacharidové determinanty
DEFL.....	Defensin-like proteins, Proteiny podobné defensinům
ECP.....	Eozinofilní kationický protein
ELISA.....	Enzyme-linked immuno sorbent assay
FcεRI	Vysokoafinní receptory pro IgE
FcεRIIA a FcεRIIB.....	Nízkoafinní receptory pro IgE
FEIA	Fluorimetric enzyme-linked immunoassay
IgE	Imunoglobulin E
IgG.....	Imunoglobulin G
IgG ₄	Imunoglobulin G 4. podtřídy
IL	Interleukin
INF.....	Interferon
IRMA.....	Imunoradiometrická analýza
ISAC	Immuno Solid-phase Allergen Chip
ISU-E.....	ISAC Standardized Units for specific IgE
LTP	Lipid transfer proteins
MIA	Microarray Image Analysis
NPC2	Niemann-Pick proteins type C2, Niemann-Pick proteiny typu C2

OAS	Orální alergický syndrom
PIS	Pylová informační služba
PR-10 proteiny.....	Pathogenesis-related proteins 10
PRP	Pathogenesis-related proteins, Proteiny související s patogenezi
RAST.....	Radio-allergo sorbent test
TGF.....	Transformující růstový faktor
Th1, Th2	Pomocné T-lymfocyty 1. a 2. podtřídy
Treg.....	Regulační T-lymfocyty
WHO / IUIS.....	World Health Organization / International union of immunological societies, Světová zdravotnická organizace / Mezinárodní unie imunologických společností

ÚVOD

Alergická onemocnění představují v dnešní době rozsáhlý zdravotní problém a jejich prevalence stále dramaticky stoupá. V současnosti dosahuje 30–40 %. S nárůstem počtu alergických osob se zvyšuje i snaha o zlepšení diagnostických postupů. Jedním z nástrojů pro diagnostiku a monitorování alergických pacientů je laboratorní vyšetření. Mezi základní vyšetření patří stanovení hladiny celkových a specifických IgE protilátek. Pro stanovení specifických IgE je možné využít singleplexové či multiplexové metody. Soubor dat, který je pro tuto bakalářskou práci využit, byl získán pomocí multiplexové metody ImmunoCAP ISAC. Prostřednictvím molekulárně diagnostických metod je možné určit senzibilizační profily pacientů a identifikovat tak primární senzibilizace. Léčba alergie se díky tomu stává přesnější a účinnější. Velkou nevýhodou multiplexových metod jsou zkřížené reakce. Specifické IgE protilátky, které se původně vytvořily proti určitému alergenu, reagují i s jinými alergenovými molekulami. Zkřížené reakce se nejčastěji objevují u vysoce homologních alergenů nebo u alergenů stejných rodin.

Vyšetření senzibilizačního profilu má význam provádět především u polysenzibilizovaných pacientů, u jedinců špatně reagujících na léčbu a pro upřesnění indikace specifické alergenové imunoterapie. Tato bakalářská práce se zaměřovala na sledování senzibilizačních profilů pouze u pacientů s alergií na břízu.

Teoretická část bakalářské práce je uvedena popisem alergie a mechanismem jejího vzniku. Následující velká kapitola se zaměřuje na nomenklaturu alergenů, na jednotlivé druhy alergenů, zkřížené reakce, panalergeny a také okrajově na rekombinantní alergeny. Další kapitoly se věnují diagnostice, metodám pro stanovení specifických IgE protilátek a léčbě alergických onemocnění. Samostatnou kapitolu tvoří nejčastější alergická onemocnění. V praktické části je popsán pracovní postup využití metody a postup provedení analýzy dat. Výsledky mého zkoumání jsou zpracovány do grafů a tabulek.

V diskuzi jsou výsledky analýzy vyhodnoceny a porovnávány s odbornými studiemi různých autorů. Poslední kapitolou je závěr, ve kterém je tato bakalářská práce shrnuta a následně zhodnocen její význam.

TEORETICKÁ ČÁST

1 ALERGIE

Pojmem alergie jsou označovány choroby, které jsou způsobeny nepřiměřenou reakcí imunitního systému na antigeny pocházející z vnějšího prostředí. Takové antigeny se nazývají alergeny. (Bartůňková a Paulík, 2011) Jako první dojde u dané osoby k senzibilizaci. Alergická reakce nastává při opakované expozici. (Špičák et al., 2004) Onemocnění vzniká kombinací genetické predispozice a vystavení danému alergenu. V ekonomicky vyspělých zemích trpí touto imunopatologií přibližně 20 % obyvatel, ve velkých městech i více. (Bartůňková a Paulík, 2011)

Při alergické reakci dochází k zánětlivým změnám v určitých tkáních a orgánech, které poté narušují jejich strukturu a funkci. Alergický zánět je charakteristický tvorbou protilátek IgE (imunoglobulinů E), které jsou specifické pro daný alergen. Také dochází k degranulaci efektorových buněk s IgE receptory a uvolnění řady mediátorů. (Hořejší et al., 2017; Krejsek et al., 2016) V dětském věku je nejčastějším projevem alergie atopický ekzém. U dospělých se jedná o sennou rýmu a průduškové astma. Alergie může být lokalizovaná nebo systémová. V případě systémové reakce se jedná o anafylaktický šok. (Bartůňková a Paulík, 2011; Hořejší et al., 2017)

1.1 Atopie

Atopie je genetická predispozice pro tvorbu IgE protilátek s rizikem vzniku alergického onemocnění. (Krejsek et al., 2016) Jedinec odpovídá na expozici běžných alergenů zevního prostředí nadměrnou tvorbou specifických IgE protilátek (Hořejší et al., 2017). „Trochu zjednodušeně se dá říci, že alergická reakce je fenotypickým projevem atopického genotypu.“ (Hořejší et al., 2017 s. 222)

1.2 Anafylaxe

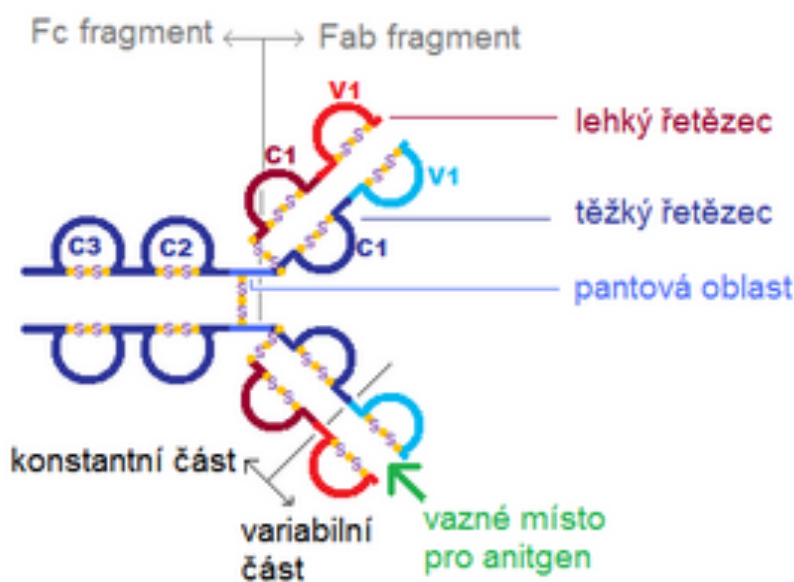
Anafylaxe je generalizovaná hypersenzitivní reakce, která je život ohrožující a může zapříčinit úmrtí. Obvykle postihuje více systémů najednou: kožní, respirační, kardiovaskulární, zažívací a také nervový. U anafylaktického šoku dochází k poklesu krevního tlaku, může nastat oběhový kolaps až bezvědomí. (Kalabusová, 2016) Příznaky vznikají v důsledku mohutného uvolnění biologicky aktivních mediátorů alergické reakce. Klinicky neodlišitelná anafylaktoidní reakce využívá k aktivaci efektorových buněk neimunologický

mechanismus. Skupiny látek vyvolávající anafylaktickou reakci: potraviny, léky a hmyzí jedy. (Špičák et al., 2004)

1.3 IgE protilátky

Imunoglobuliny třídy IgE jsou v plazmě dospělých lidí zastoupeny ve velmi nízkých koncentracích. Jejich normální hladina se pohybuje okolo 0,24 mg/L nebo 100 UI/ml. IgE protilátky jsou produkovány plazmatickými buňkami (diferencované B-lymfocyty). Zapojují se při obraně proti parazitům, helmintům a dalším mikroorganismům. Hrají podstatnou roli při rozvoji alergických reakcí. (Krejsek et al., 2016)

Obrázek 1 Monomer imunoglobulinu – IgE



Zdroj: <https://www.wikiskripta.eu/images/f/f0/Imunoglobulin.png>

Obrázek 1 zobrazuje strukturu protilátky IgE, která se vyskytuje pouze v monomerní podobě.

Receptory pro IgE můžeme najít na povrchu buněk imunitního systému. Vysokoafinní receptory (FcεRI) se nacházejí u žírných buněk (mastocytů), bazofilů a v omezeném množství u eosinofilních granulocytů. Dále jsou u některých buněk přítomny nízkoafinní receptory (FcεRIIA a FcεRIIB). (Hořejší et al., 2017; Krejsek et al., 2016) Při navázání alergenu dojde k přemostění protilátek, které se na těchto receptorech nacházejí. To vede k aktivaci a uvolnění obsahu granul mastocytů nebo bazofilů. Následným působením mediátorů zánětu dochází k poškození okolní tkáně a ke zvýšené migraci imunitních buněk do místa zánětu. (Krejsek et al., 2016)

Pro diagnostiku a monitorování alergického onemocnění se využívá celá řada klinických a laboratorních vyšetření. V rámci laboratorních testů se stanovují celkové a specifické IgE protilátky. Přítomnost alergen-specifických IgE nám určuje konkrétní alergen, který u daného pacienta vyvolává reakci. (Krejsek et al., 2016)

2 ALERGENY

Alergeny jsou antigeny pocházející ze zevního prostředí (exoantigeny), které u vnímavých jedinců vyvolávají alergickou reakci – alergický zánět. Alergeny mohou pocházet z rostlin, živočichů nebo mikroorganismů. Nejčastěji jsou to proteiny a glykoproteiny. Pojmem alergen je běžně označován jeho zdroj (jablko, arašíd, bříza aj.), ale i konkrétně definovaná antigenní struktura (Mal d 1, Ara h 8, Bet v 1 aj.). Hlavní alergeny vyvíjí specifickou imunitní odpověď až u 90 % jedinců, kteří jsou alergičtí na stejný druh. Ostatní alergeny jsou brány jako vedlejší. (Hořejší et al., 2017; Krejsek et al., 2016)

V každé skupiny alergenů je možné rozeznávat izoalergen nebo varianty tzv. izoformy. Izoalergen jsou homologní alergeny a shoda aminokyselinové sekvence je alespoň 67 %. Každý izoalergen může mít více variant vysoce identických sekvencí (mají totožnou identitu více než z 90 %, obvykle se liší pouze několika aminokyselinami). (Pomés et al., 2018)

2.1 Názvosloví alergenů

Systematické názvosloví pro alergeny vzniklo na počátku 80. let. Skupina vědců vedená Dr. Davidem G. Marshem vyvinula nomenklaturu a dále založila podvýbor pro nomenklaturu alergenů – Světovou zdravotnickou organizaci / Mezinárodní unii imunologických společností (WHO / IUIS). V roce 1986 byl poprvé podvýborem zveřejněn seznam názvů alergenů a rozšiřoval se až do roku 1994. Nyní můžeme seznam alergenů nalézt na webové stránce, která je zároveň i databází nomenklatury alergenů (www.allergen.org). (Pomés et al., 2018)

V názvosloví alergenů se dodržují určitá pravidla. Název alergenu začíná velkým písmenem a skládá se z prvních tří písmen rodu a prvního písmene z druhového jména latinského názvu rostliny nebo živočicha, ze kterého alergen pochází. Písmeno druhu je od písmen rodu odděleno mezerou. Jako další se připojuje arabská číslice, která vyjadřuje pořadí purifikace. Příklad: alergen břízy bradavičnaté *Betula verrucosa* (Bet v 1), alergen jablka *Malus domestica* (Mal d 1). V případě izoalergenů a jejich variant se pro odlišení připojují další čísla za číslem alergenu. První dvě číslice odkazují na konkrétní izoalergen (např. Gly m 5.01, Gly m 5.02) a dvě následující číslice definují každou variantu konkrétního izoalergenu (např. Gly m 5.0301 a Gly m 5.0302). (Krejsek et al., 2016; Pomés et al., 2018)

Databáze alergenů WHO / IUIS obsahuje pouze proteiny a glykoproteinové alergeny, které pro zařazení musejí splňovat celou řadu podmínek. Hlavní je popis alergenního zdroje včetně taxonomického názvu, dále by měla být známá úplná aminokyselinová a nukleotidová sekvence alergenu. Provádí se důkaz o specifickém rozpoznání lidským sérovým IgE od alespoň pěti pacientů s již prokázanou alergií. (Pomés et al., 2018)

2.2 Druhy alergenů

Alergeny lze dělit podle více hledisek. Níže jsou rozděleny na inhalační (vzdušné), potravinové, hmyzí a lékové. Mezi inhalační alergeny patří pyly, plísně, roztoči a zvířecí alergeny.

2.2.1 Pyly

Pyly jsou alergeny vnějšího prostředí a vykazují sezónní dynamiku. Zrna pylu větrosprašných rostlin se mohou dobře šířit pomocí vzduchu do velkých vzdáleností. Pyly hmyzosprašných rostlin většinou alergii nevyvolávají. Pylová sezóna v České republice bývá přibližně od března do října. Lékaři a pacienti mohou sledovat situaci díky pylové informační službě (PIS), která podává pravidelné informace ohledně výskytu jednotlivých aeroalergenů. Dobu květu určitých druhů rostlin najdeme v pylovém kalendáři. V jarním období dominují pyly dřevin (líška, olše, bříza, habr), počátek léta je obdobím trav a obilovin (bojínek, lipnice, žito, oves). Koncem léta a začátkem podzimu se šíří pyly plevelů (pelyněk, ambrózie). (Krejsek et al., 2016; Špičák et al., 2004)

2.2.2 Spóry plísní

Spóry plísní se řadí mezi vzdušné alergeny vnějšího i vnitřního prostředí. Průměrná velikost je 2–10 μm . Jejich koncentrace ve vzduchu se podstatně liší v závislosti na klimatických faktorech jako je teplota, vítr nebo vlhkost. Pro růst plísní je optimální vlhké a teplé prostředí. Alergeny venkovních plísní mají sezónní charakter a jejich zástupci jsou rody: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum* a *Ganoderma*. V budovách a dalších interiérech se nejčastěji vyskytují rody: *Penicillium* a *Aspergillus*. Spóry plísní mohou způsobit imunopatologickou reakci typu I, ale také řadu dalších onemocnění, včetně alergické bronchopulmonální mykózy, alergické sinusitidy, hypersenzitivní pneumonitidy a atopické dermatitidy. (Simon-Nobbe et al., 2007; Krejsek et al., 2016)

2.2.3 Roztoči a zvířecí alergeny

Do skupiny aeroalergenů domácího prostředí patří také roztoči a zvířecí alergeny. Roztoči jsou mikroskopičtí členovci, kteří se živí kožními šupinkami odloučenými

z lidského nebo zvířecího těla. Alergie na roztoče je spíše alergií na složky obsažené v jejich výkalech a sekretech. Mezi roztoče vyvolávající alergické reakce patří: *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus* a *Euroglyphus maynei*. (Arlan a Platts-Mills, 2001; Krejsek et al., 2016) Alergeny pocházející ze zvířat jsou součástí jejich sekretů, kožních šupin, srsti, případně peří. Nejvíce jsou lidé alergičtí na kočky, psy a hlodavce. (Krejsek et al., 2016)

2.2.4 Potravinové alergen

Potravinovou alergii vyvolávají potraviny živočišného a rostlinného původu, dále pak nevhodné složky potravy, jako jsou barviva, antioxidanty, konzervanty a další aditiva. (Krejsek et al., 2016) Mezi nejčastější potraviny způsobující alergii patří: kravské mléko, slepičí vejce, ryby, koryši, měkkýši, pšenice, sója, arašídy a celkově ořechy. (Kopelentová a Vernerová, 2016) U kravského mléka alergizují bílkoviny kasein, a-laktalbumin a b-laktoglobulin. Ve slepičím vejci jsou alergen především ovalbumin a ovomukoid. V mořských měkkýších a koryších se vyskytuje tropomyosin, který můžeme nalézt i u roztočů a hmyzu. Mezi alergen rostlinného původu patří: ochranné a obranné proteiny – PRP (pathogenesis-related proteins), profiliny a zásobní proteiny tzv. seed-storage, které jsou obsaženy v semenech a plodech. (Krejsek et al., 2016)

2.2.5 Hmyzí alergen

Alergická reakce může být způsobena hmyzím kousnutím nebo bodnutím. Nejčastějším alergenem je jed blanokřídlého hmyzu (*Hymenoptera*). Hlavní alergen jedu včely medonosné (*Apis mellifera*) jsou fosfolipáza A2, hyaluronidáza, kyselá fosfatáza a melittin. U vosy obecné (*Vespula vulgaris*) se pak jedná o fosfolipázu A1/B, hyaluronidázu a kyselou fosfatázu. Pro čeled' sršňovití (*Vespidae*) je také specifický alergen 5. Fosfolipáza a hyaluronidáza čeledi *Apidae* a *Vespidae* mají odlišnou strukturu. Zkřížené reakce mezi nimi jsou tedy minimální. Jed blanokřídlých může zapříčinit reakci toxickou, anafylaktickou nebo anafylaktoidní. (Krejsek et al., 2016; Špičák et al., 2004) Jed některých druhů mravenců, například mravenec žahavý (*Myrmica rubra*), může způsobovat alergickou reakci. (Špičák et al., 2004)

2.2.6 Lékové alergen

Léková alergie je nežádoucí poléková reakce. Zakládá se na imunopatologickém mechanismu. Může nastat kterákoli ze čtyř typů reakcí dle Gella a Coombse: časná, cytotoxická, imunokomplexová nebo pozdní. Nejčastější lékové alergen: β -laktamová antibiotika (penicilin, cefalosporiny), hormony, nesteroidní antiflogistika, očkovací látky,

lokální anestetika, periferní myorelaxancia, latex, radiokontrastní látky, sulfonamidy aj. (Khan a Solensky, 2010; Špičák et al., 2004)

2.3 Zkřížené reakce

Ke zkříženým reakcím dochází tehdy, když se protilátky původně vytvořené proti určitému alergenu váží na identické či vysoce podobné povrchové struktury (epitopy) jiného alergenu. Nejčastěji takové reakce vznikají v důsledku podobnosti sekundární a terciální struktury alergenů. (Bublin a Breiteneder, 2020) Pro její vznik je potřebná shoda aminokyseliny-aminových sekvencí alespoň 50 %, ale optimální je 70 %–80 %. (Špičák et al., 2004) Pokud je homologie ještě vyšší, jedná se o tzv. panalergen, kterým jsou např.: profilin, LTP (lipid transfer proteins), polkalcin, tropomyosin, parvalbumin, vicilin a legumin. (Krejsek et al., 2016) U velkého množství glykoproteinů spíše rostlinného původu mohou mít na zkříženou reakci vliv jejich karbohydrátové struktury (determinanty). Jedná se o tzv. CCD (cross-reactive carbohydrate determinants). CCD navozují tvorbu specifických IgE protilátek, které pak reagují s proteiny obsahující také tyto epitopy. (Špičák et al., 2004)

„Zkřížená reaktivita je významným klinickým faktorem, ke kterému musí lékař pečující o pacienta alergika vždy přihlédnout.“ (Krejsek et al., 2016, s. 214) U alergií na pyl jsou časté zkřížené reakce mezi různými zdroji pylu nebo reakce mezi pylem a potravinami pocházejícími z rostlin (ovoce, zelenina, ořechy, luštěniny a další). Po sněžení některé z potravin mohou nastat potíže, které se hromadně označují jako orální alergický syndrom (OAS). (Špičák et al., 2004) Zkřížená reaktivita byla pozorována mezi čeledí lipnicovitých, břízovitých, lískovitých, hvězdnicovitých a dalších. (Krejsek et al., 2016)

Tabulka 1 Příklady zkřížené alergie pyly – potraviny

Bříza	jablko, broskev, meruňka, hruška, třešeň, kiwi, švestka, lískový ořech, brambory (slupky), mrkev, celer, rajské jablko, jedlé kaštiny, maliny a koření
Bojínek luční	rajské jablko, hrášek, pšenice a další cereálie, brambory, sója, pažitka, vermut, jablko a jiné ovoce
Pelyněk	celer, mrkev, petržel, koření (anýz, koriandr, estragon, pepř, paprika), slunečnicový olej, heřmánek
Ambrozie	meloun, okurka, banán
Latex	banán, avokádo, meloun, kiwi, špenát, hrozinky, kaštiny, ořechy (vlašské a lískové), fíky, pohanka, meruňky, rajské jablko, broskev

Zdroj: upraveno z ŠPIČÁK, Václav a Petr PANZNER. *Alergologie*. Praha: Galén, 2004. ISBN 80-7262-265-x.

V Tabulka 1 jsou vyjmenovány potraviny, u kterých se nejčastěji projevuje zkřížená reakce u pacientů alergických na pyl břízy, bojínku, pelyňku, ambrózie nebo na latex.

2.4 Panalergeny

Mezi panalergeny se řadí různé rodiny proteinů rostlinného i živočišného původu. Shoda v charakteristických aminokyselinových sekvencích dosahuje přibližně 90 %. Panalergeny jsou zodpovědné za širokou zkříženou reaktivitu IgE mezi příbuznými i nepříbuznými alergenními zdroji. (Hořejší et al., 2017; McKenna et al., 2016) Dále jsou popsány 3 vybrané druhy klinicky významných panalergenů.

2.4.1 PR-10 proteiny

PR-10 proteiny (pathogenesis-related proteins 10) se uplatňují v obecných obranných mechanismech rostliny a jejich exprese je vyvolána stresem a patogeny. Tyto bílkoviny se nacházejí u různých rostlin a v potravinách (ovoce, zelenina, sója, ořechy). Velký význam má jejich homologie s hlavním alergenem břízy bradavičnaté (Bet v 1). Dochází mezi nimi ke zkříženým reakcím. To vede u pacientů alergických na pyl břízy k orálnímu alergickému syndromu. Příklady možné zkřížené alergie s Bet v 1: jablko, broskev, hruška, švestka, lískový ořech, mrkev, celer, brambory, koření aj. (McKenna et al., 2016; Špičák et al., 2004)

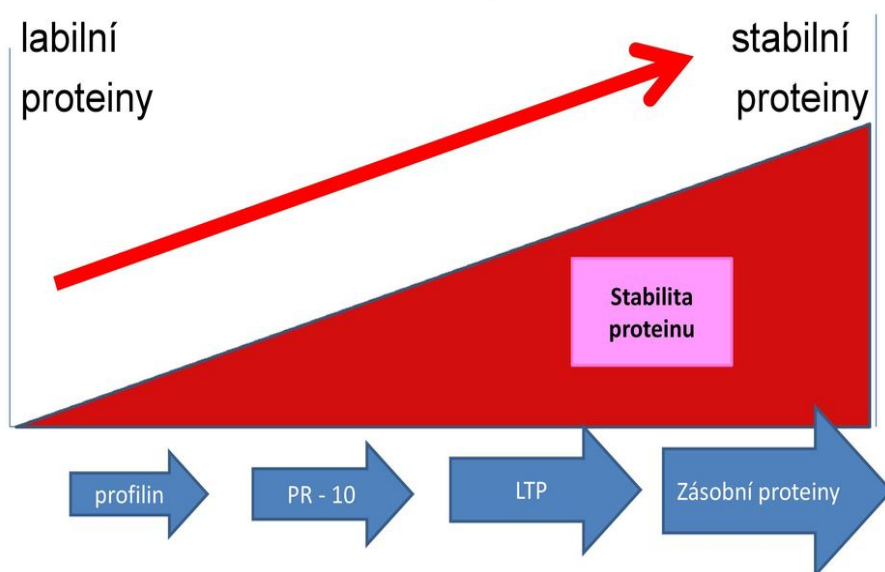
2.4.2 Profiliny

Profiliny jsou polypeptidy, které odpovídají za organizaci aktinových vláken v cytoskeletu buněk. (Krejsek et al., 2016). Jsou to termolabilní bílkoviny a snadno podléhají trávení. Vykazují vysokou homologii s vedlejším alergenem pylu břízy (Bet v 2), s alergenem bojínku (Phl p 12) a latexu (Hev b 8). Nacházejí se také v potravinách: arašídy, celer, jablko, hruška, sója aj. Jedinci budou mít po jejich požití příznaky OAS. (Fuchs, 2004)

2.4.3 Polkalciny

Polkalciny jsou malé proteiny vázající Ca^{2+} , které se nacházejí v pylu kvetoucích rostlin. (Henzl et al., 2011) Jejich funkce nejsou přesně definovány, ale nejspíše se uplatňují při regulaci intracelulární hladiny vápníku a při klíčení pylových zrn. Polkalciny se řadí do rodiny EF-hand proteinů. Je u nich pozorována podobnost s vedlejším alergenem pylu břízy Bet v 4. (Asam et al., 2015)

Obrázek 2 Stabilita proteinů - riziko závažné alergické reakce u potravinové alergie



Zdroj: https://docplayer.cz/docs-images/42/8377080/images/page_17.jpg

Obrázek 1 popisuje stabilitu některých panalergenů. Termolabilní proteiny při vaření či dušení ztrácejí svoji alergenní potenci. Termostabilní proteiny se tepelnou úpravou nedají ovlivnit a je tedy u nich i větší riziko závažné alergické reakce.

2.5 Rekombinantní alergeny

V běžných diagnostických testech se pro detekci specifických IgE používají alergenní extrakty. Ty se připravují extrahováním z různých biologických materiálů. Extrakty navíc obsahují nealergenní substance, které mohou snižovat senzitivitu nebo specifitu

testu. Slouží pouze pro identifikaci alergenního zdroje. Techniky genetického inženýrství umožnily produkci rekombinantních alergenů. Jasně definované alergeny připravené rekombinantními technikami jsou standardní. Po studiu jejich vlastností se zjistilo, že vykazují stejnou reaktivitu jako přirozené alergenové extrakty. (Ambrusová, 2011)

3 DIAGNOSTIKA ALERGIE

3.1 Anamnéza a klinické vyšetření

Pro správnou diagnostiku alergického onemocnění je zásadní odběr podrobné anamnézy. Následující alergologické vyšetření zahrnuje fyzikální klinické vyšetření, kožní a laboratorní testy. V případě potřeby je možné provést dále testy provokační, expoziční a epikutánní. (Špičák et al., 2004)

3.2 Kožní testy

Kožní testy jsou součástí alergologického vyšetření. Provádějí se na základě údajů získaných z důkladné anamnézy a slouží k průkazu specifických IgE protilátek *in vivo*. (Špičák et al., 2004)

3.2.1 Prick testy

Nejčastěji používanou metodou je kožní prick test. S jeho pomocí se prokazují senzibilizace vůči inhalačním, potravinovým, lékovým nebo pracovním alergenům. Poskytuje důkaz o senzibilizaci I. typu. Hlavní výhodou prick testu je rychlost jeho provedení. Výsledky lze interpretovat během 15 až 20 minut po aplikaci. Metoda je relativně bezpečná a levná. (Heinzerling et al., 2013) „*Pozitivita kožních prick testů potvrzuje senzibilizaci vůči specifickému alergenů, ale klinická relevance musí být interpretována podle anamnézy a klinických symptomů.*“ (Petrů, 2014, s. 33)

Principem testu je zavedení vybraných alergenových extraktů do kůže pacientova předloktí. Na kůži se postupně nanášejí kapičky roztoků a následně se provádějí vpichy pomocí jednorázových lancet. Současně je do kůže vpravena pozitivní a negativní kontrola. Pro pozitivní kontrolu se využívá kodeinfosfát nebo histamin-dihydrochlorid. Celkové výsledky testu se mohou vydávat za správné pouze pokud pozitivní kontrola vykazuje pozitivitu. Negativní kontrolou může být fyziologický roztok. (Petrů, 2014)

V případě pozitivní reakce se specifické IgE pomocí alergenu přemostí a žírné buňky degranulují. Uvolnění histaminu a dalších mediátorů vyvolává vznik otoku nebo pupenu. Podle jeho velikosti se následně posuzuje i pozitivita reakce. Mnoho různých alergenů lze testovat současně, protože výsledná reakce na konkrétní alergen je lokalizována do oblasti vpichu. U pacientů, kteří nemohou podstoupit kožní testy, se využívá stanovení laboratorní. (Heinzerling et al., 2013) Kontraindikací může být rozsáhlý ekzém, kopřivka,

dermografismus, anafylaktická reakce po dřívějším kožním testování, těhotenství a užívání antihistaminik nebo léků tlumících kožní reaktivitu. (Heinzerling et al., 2013)

Obrázek 3 Výsledek prick testu



Zdroj: <https://www.proalergiky.cz/upload/obrazky/prick-testy.jpg>

Na Obrázek 3 je vyfocena volární strana předloktí, kde je možné pozorovat pozitivní reakci na některé testované alergeny. Pozitivní reakce je tvorba pupenu jako u čísla 35.

3.2.2 Intradermální testy

Intradermální kožní testy se primárně provádí při alergické reakci na jed blanokříd-
lých nebo léky. Jsou citlivější, ale méně specifické než kožní prick testy. Provádějí se na vo-
lární straně předloktí nebo na kůži zad. Roztoky alergenů se aplikují přímo do kůže pomocí
injekční stříkačky. Kontraindikace jsou totožné jako u prick testů. (Heinzerling et al., 2013)

3.2.3 Epikutánní testy

Epikutánní testy se používají k detekci kontaktních alergií, u kterých se jedná o pře-
citlivělost pozdního typu. Mezi tato onemocnění se řadí např. kontaktní dermatitida. Princip
testu je založen na aplikaci terčků s testovanými alergeny na kůži zad. Terčíky se na kůži
zafixují pomocí náplastí. Obvykle se po 48 hodinách terčíky sejmou a reakce na kůži se ode-
čte. Další odečty se provádějí po 72 a 96 hodinách. Při pozitivní reakci se na kůži tvoří
erytém, vezikuly nebo puchýřky. (Langerová et al., 2011)

3.3 Laboratorní vyšetření

Pro diagnostiku a monitorování pacientů s alergickým onemocněním se využívá
velká škála laboratorních testů (*in vitro* testy). Řadí se mezi pomocné metody a nemohou
plně nahradit kožní testy. Mezi základní testy patří vyšetření hladiny celkových

a alergen-specifických IgE protilátek. Dále se pak mohou stanovit mediátory alergické reakce (histamin, tryptáza, eozinofilní kationický protein – ECP). Pro alergická onemocnění je také častá eozinofilie v krevním obraze. V rámci laboratorního vyšetření se také může provést test aktivace bazofilů (BAT), u kterého se pomocí průtokové cytometrie sleduje exprese znaku CD63 po inkubaci s alergenem. (Krejsek et al., 2016; Špičák et al., 2004)

3.3.1 Stanovení celkových IgE protilátek

Hladina celkových IgE protilátek se během života výrazně mění. Hodnoty se udávají v mezinárodních jednotkách nebo v ng/ml (1 IU = 2,4 ng IgE). Normální hladina celkových IgE dospělé populace nepřekračuje hodnotu 100 IU/ml. Zvýšená hladina není specifická pouze pro alergický zánět. Může se jednat např. o parazitární infekci, autoimunitní nebo imunodeficitní onemocnění. Naopak alergický pacient může mít v některých případech hodnoty celkových IgE protilátek v normě. (Litzman et al., 2007) Stanovení se provádí nejčastěji pomocí chemiluminiscence, ELISA (enzyme-linked immuno sorbent assay) či FEIA (fluorimetric enzyme-linked immunoassay). (Špičák et al., 2004)

3.3.2 Stanovení specifických IgE protilátek

Průkaz a stanovení specifických IgE je užitečným nástrojem v případě podezření na alergickou reakci zprostředkovanou IgE protilátkami. Poměrně přesně lze určit konkrétní vyvolávající alergen. Vyšetření je často indikováno u pacientů, kteří nemohou podstoupit kožní prick test, nebo pokud je vybraný alergen pro kožní testování nedostupný. (Špičák et al., 2004)

Momentálně dostupné metody vycházejí ze základního principu nekompetitivní imunoanalýzy. Výsledky koncentrací specifických IgE se mohou vyjadřovat kvantitativně v IU/ml nebo semikvantitativně v tzv. RAST třídách. (Litzman et al., 2007) Pojmenování tříd vychází z testu RAST (Radio-allergo sorbent test). Principem testu je imunoradiometrická analýza (IRMA). Vyšetřovaný alergen je navázaný na pevné fázi, kterou představuje papírový disk s nitrocelulózou. Při inkubaci s patientským sérem vzniká komplex antigen-protilátka. Následně se přidá protilátka značená radioaktivním izotopem jódu-125. Mezi naměřenou radioaktivitou a množstvím specifického IgE platí přímá úměra. V posledních letech se však začaly rozvíjet techniky, které využívají neizotopové značení sekundární protilátky. (Špičák et al., 2004)

3.3.3 Stanovení mediátorů alergického zánětu

Mezi biologicky aktivní látky, které vznikají při alergickém zánětu, patří histamin, tryptáza, ECP, interleukiny a další. Tryptáza se uvolňuje z žírných buněk a její zvýšenou hladinu najdeme u pacientů, kteří prodělali anafylaktickou reakci. Stanovení histaminu není příliš vhodné pro diagnostiku proběhlé anafylaxe. Poločas rozpadu histaminu je velmi krátký a také může dojít k jeho uvolnění z bazofilů až po odběru krve. ECP je eosinofilní mediátor a jeho stanovení pomáhá určit tíži chronicky probíhajícího alergického zánětu. (Špičák et al., 2004)

3.4 Provokační a expoziční testy

Provokační testy se provádějí na základě uměle vytvořené situace, kdy je pacient vystaven podezřelému spouštěči reakce (specifickému či nespecifickému). Následně se hodnotí míra reakce podle zvolené metody. Jednou z používaných metod je vyřazení pacienta z prostředí, které mu příznaky vyvolalo. Sledují se změny alergických projevů při vyhýbání se spouštěči a po návratu do podezřelého prostředí. (Špičák et al., 2004)

Pro specifické vyšetření se používají alergenové extrakty. Provokační testy mohou být oční, nosní, bronchiální nebo perorální. V dnešní době se od těchto testů ustupuje, protože je zde riziko velké reakce při přímé expozici alergenu. Další nevýhodou je, že nelze testovat více alergenů najednou. Specifické testy mají využití při diagnostice profesionálních alergií. U potravinových alergií se dá uplatnit dvojité zaslepený test nebo nosní test s rino-manometrickým vyhodnocením. U nespecifických testů se nejčastěji provádí bronchoprovokační test a nosní provokační test. (Špičák et al., 2004)

Expoziční testy se užívají v případě podezření na potravinovou alergii. Před provedením testu drží pacient eliminační dietu, která většinou trvá 14 dní. Na základě anamnézy či výsledků kožních testů se ze stravy vyřadí podezřelé potraviny, které by mohly pacienta senzibilizovat. Pro samotný test se může použít otevřený orální expoziční test, u kterého se potravina podává v běžné formě a sleduje se intenzita případných potíží. Další možnost je provést dvojité slepý placebem kontrolovaný potravinový expoziční test. Základem testu je podání podezřelé potraviny v želatinové kapsli a podání placebo ve stejné podobě. Test je brán jako pozitivní, když je reakce pozitivní pouze na kapsli s potravinou a u placebo k reakci nedošlo. U negativního výsledku je nutné vyloučit falešnou negativitu tím, že se pacientovy podá potravina v běžné formě a dávce. (Špičák et al., 2004)

4 METODY STANOVENÍ SPECIFICKÝCH IgE

Metody můžeme rozdělit podle fáze, ve které dochází k vazbě alergenu. K tomu může dojít v pevné či kapalně fázi. Dále podle toho, jestli vyšetřujeme specifické IgE pouze proti jednomu konkrétnímu alergenu nebo proti několika alergenům současně. Níže jsou popsány nejčastěji používané metody.

4.1 ImmunoCAP

U metody ImmunoCAP se využívá k navázání alergenu pevná fáze. Tu představuje trojrozměrný hydrofilní derivát celulózy, na který se kovalentně váže až třikrát více alergenu než na papírový disk. (Špičák et al., 2004) Jedná se o tzv. singleplexovou metodu, kde se stanovuje hladina specifického IgE pouze proti jednomu konkrétnímu alergenovému extraktu nebo komponentě. V ImmunoCAP analyzátoch se pro stanovení využívá metoda FEIA. Intenzita fluorescence je úměrná množství specifického IgE. ImmunoCAP také umožňuje stanovení alergenově specifických IgG a IgG₄. Hladiny specifických protilátek jsou vyjadřovány kvantitativně. Metoda vykazuje vysokou citlivost a specifickou. Považuje se za jednu z nejlepších pro stanovování specifických IgE protilátek. (Hage et al., 2017)

4.2 Immulite 2000

Pro zjištění hladiny specifických IgE protilátek je možné využít analyzátor Immulite 2000. Přístroj umožňuje singleplexovou analýzu. Jedná se o chemiluminiscenční metodu, u které je alergen navázán v kapalně fázi. (Špičák et al., 2004). „*Specifické IgE-protilátky z vyšetřovaného séra se navazují v roztoku na biotinylovaný alergen a teprve následně dojde pomocí avidinu k vazbě na biotinylovanou pevnou fázi.*“ (Špičák et al., 2004, s. 116) Reakce probíhající v roztoku umožňuje dobrý kontakt mezi reaktanty. Navázání alergenu v kapalně fázi využívá i technika AlaSTAT. (Špičák et al., 2004)

4.3 ImmunoCAP ISAC

Systém ImmunoCAP ISAC (Immuno Solid-phase Allergen Chip) je semikvantitativní multiplexová metoda. Test je založený na biočipové technologii a reakce probíhá na pevně fázi. Alergenové komponenty jsou v tripletech ukotveny na polymerem potaženém sklíčku, kde jsou k dispozici čtyři reakční místa. Při inkubaci s patientským vzorkem dojde k případnému navázání specifických IgE protilátek. Jako další se přidá fluorescenčně značená protilátka, která se naváže na imunokomplexy vzniklé v předchozím kroku. Následně se měří intenzita fluorescence konfokálním laserovým scannerem. Naskenovaný obraz

se analyzuje pomocí softwaru MIA (Microarray Image Analysis). Hodnoty se vyjadřují v jednotkách ISU-E (ISAC Standardized Units for specific IgE). Metoda ImmunoCAP ISAC umožňuje paralelně vyšetřovat 112 rekombinantních i nativních alergenových molekul. Tento velký počet alergenů poskytuje informace o senzibilizačním profilu pacienta na molekulární úrovni. (Bojčuková et al., 2019; Hage et al., 2017)

4.4 ALEX

Multiplexový testovací systém ALEX (Allergy Explorer) umožňuje v jednom vyšetření stanovit specifické IgE proti 157 alergenním extraktům a 125 molekulárním komponentám. Také se současně změří hodnota celkového IgE. Velkou výhodou testu ALEX je inhibice IgE protilátek proti CCD. (Heffler et al., 2018)

Analýza této makromolekulové metody probíhá na pevné fázi. Alergenní extrakty a komponenty jsou ukotveny v nitrocelulózové membráně kazety. Na membránu se nanese ředidlo (obsahuje inhibitor CCD) a patientské sérum či plazma. K detekci se používá anti-humánní IgE protilátka značená alkalickou fosfatázou. Po dokončení postupu se membrány nechají oschnout na vzduchu. Pomocí CCD kamery se měří intenzita barevné reakce pro každou skvrnu alergenu. Specializovaný software digitalizuje snímky a připravuje laboratorní zprávu, která shrnuje výsledky měření. Hodnoty jsou udávány v kU_A/L . (Heffler et al., 2018)

5 ALERGICKÁ ONEMOCNĚNÍ

Alergické onemocnění vzniká u pacientů, kteří přehnaně reagují na některé exoantigeny. Rozdělují se podle jejich klinických projevů, patogenetických mechanismů nebo podle faktorů, které onemocnění vyvolaly. Nejčastěji dochází k projevům na kůži a sliznicích. Dále jsou popisována některá častá alergická onemocnění. (Hořejší et al., 2017)

5.1 Alergická rýma

Alergická rýma je zánětlivé onemocnění, které vzniká v důsledku působení alergenů na nosní sliznici a rozvoje alergického zánětu. Projevuje se svěděním nosní sliznice se zvýšenou sekrecí, kýcháním a obturací nosu. Také je často doprovázena alergickou konjunktivitidou (slzení a pálení očí). Alergická rýma může být sezónní nebo celoroční. Sezónní potíže vyvolávají nejčastěji pylová zrna a spóry venkovních plísní. Potíže se u pacientů objevují v období výskytu alergenů a po zbytek roku jsou bez příznaků. U alergiků na pyl se z důvodů zkřížených reakcí často celoročně vyskytuje OAS. Celoroční alergickou rýmu způsobují nejčastěji roztoči, spóry domovních plísní a alergeny pocházející ze zvířat. (Špičák et al., 2004)

5.2 Astma bronchiale

Bronchiální astma je chronické zánětlivé onemocnění dolních dýchacích cest. Prevalence astmatu stále stoupá, a to nejvíce u dětí z rozvinutých zemí. Chronický zánět způsobuje hyperreaktivitu průdušek a jejich obstrukci, která se projevuje záchvatovitým kašlem, dušností a pocitem svírání na hrudi. Také dochází vlivem zánětu k remodelaci plicní tkáně, při které může dojít k nevratným změnám a snížení plicní kapacity. Astma se dá rozdělit z hlediska imunopatogeneze do tří základních fenotypů. Jedním z nich je atopické astma, u kterého vzniká eozinofilní zánět ve sliznici bronchů. Projevuje se většinou již v dětství, kde mu může také předcházet atopický ekzém či alergická rýma. Na patogenezi se podílejí hlavně žírné buňky, eosinofilní granulocyty a Th2 lymfocyty. U atopického astmatu jsou spouštěcími faktory inhalační alergeny. Potíže se objevují i po tělesné námaze či při emočně silných situacích. (Krejsek et al., 2016; Špičák et al., 2004)

5.3 Atopický ekzém

Atopický ekzém neboli atopická dermatitida je zánětlivé kožní onemocnění dětí i dospělých. Může být akutní či chronický. Charakteristickým příznakem je začervenalá kůže, drobné pupínky až ložiska ekzému, silné svědění, tvorba strupů, šupinatění a případné mokvání kůže. Pokožka pacientů bývá přesušená a přecitlivělá. To vede k narušení

mechanické bariéry a ke zvýšeným ztrátám tekutin pokožkou. V místech, kde je kůže porušená, může snadno dojít k průniku alergenů či zavlečení infekce. (Špičák et al., 2004)

Diagnóza vychází z komplexní anamnézy a klinického vyšetření dermatologem. Jedinci mají zvýšenou hladinu celkových i specifických IgE protilátek, které se tvoří v důsledku reakce na potravinové a vzdušné alergeny, mikroorganismy či enterotoxiny. (Špičák et al., 2004)

Atopický ekzém často začíná již v dětském věku a později může přecházet v jiné alergické onemocnění. Je tak velice heterogenní a existuje několik fenotypů a endotypů. Podle období nástupu onemocnění můžeme rozlišit kojenecký, dětský, dospělý a seniorský fenotyp. S věkem se lokalizace i projevy ekzému mění. Na jeho vzniku se pravděpodobně podílí genetická predispozice a faktory vnějšího prostředí. Takové faktory mohou být např. životní podmínky, úroveň osobní hygieny, kontakt se zvířaty, proočkovanost, kouření matky v těhotenství, délka kojení, složení střevního mikrobiomu a řada dalších. Zvýšená úroveň znečištění životního prostředí je jedna z možných příčin výrazného nárůstu prevalence atopické dermatitidy. (Krejsek et al., 2016)

5.4 Kopřivka a angioedém

Kopřivka (urtikárie) a angioedém (angioneurotický edém) se řadí mezi poměrně častá kožní onemocnění. Vyskytují se zcela běžně, a to v jakémkoli věku. Tyto choroby charakterizuje vazodilatace a zvýšená permeabilita cév v kůži (urtikárie) nebo v podkoží (angioedém). Typickým projevem je zarudlá a svědivá pokožka, kterou doprovází výsev pupenů (tzv. pomfů) o různé velikosti. Projevy se můžou objevit kdekoli na těle. Angioedém, pro který je charakteristický otok, se vyskytuje u 20–30 % pacientů s projevy urtikárie. (Špičák et al., 2004)

Mechanismy vzniku mohou být imunologické i neimunologické. Přesnou příčinu není vždy možné určit. Alergický typ urtikárie a angioedém jsou způsobeny alergickým zánětem. Onemocnění mohou vyvolat léky, potraviny, potravinová aditiva, inhalační a hmyzí alergeny, mikrobiální antigeny a další. Může se jednat o kopřivku akutní, která se projeví náhle po setkání senzibilizovaného pacienta s alergenem, či chronickou. U té výsevy pupenů trvají déle než 4 týdny, ale i měsíce až roky. U dětí převažují spíše akutní projevy a chronické se častěji objevují u žen. (Krejsek et al., 2016; Špičák et al., 2004)

5.5 Orální alergický syndrom

„Jedná se víceméně o samostatnou klinickou jednotku – orální alergický syndrom (OAS, někdy též označovaný jako orální alimentární syndrom). Pro svá specifika a značný výskyt v populaci nebývá obsažen v běžně udávané prevalenci potravinové alergie.“ (Špičák et al., 2004, s. 273)

Syndrom se vyskytuje hlavně u pylových alergiků. Po požití potravin rostlinného původu dochází u pacientů k pálení a svědění v ústech, obtížím při polykání, kýchání, otokům v periorální oblasti obličeje a další projevům. Příčinou vzniku je zkřížená reakce. Alergeny obsažené v potravině jsou podobné či totožné s těmi, které obsahuje zrnko pylu. OAS se v našich zemích vyskytuje ve velké míře, kde jím trpí asi 50 % alergiků se senzibilizací na jarní pyly a 25 % pacientů alergických na trávy a obilí. Dříve se objevoval spíše u dospělých jedinců, dnes se obtíže dostávají již v útlém věku. V případě testování se zachytí specifické IgE protilátky proti některým druhům ovoce či zeleniny. Takové děti mají velkou pravděpodobnost, že se v budoucnosti stanou polinotikem (alergikem na pyl). (Špičák et al., 2004)

6 LÉČBA

Včasná a správná identifikace alergenu, který způsobuje onemocnění, je základním opatřením při léčbě alergie. Jedním z léčebných postupů je eliminace alergenu. K léčbě se dále využívá farmakoterapie, specifická imunoterapie či biologická léčba.

6.1 Eliminace alergenu

Eliminace alergenu je jedno z možných opatření, které pacient může dodržovat, pokud zná příčinu jeho senzibilizace. To lze snadno provést při alergiích na některé složky potravy, léky či domácí zvířata. Problémem jsou některé inhalační alergeny, kterým se nelze zcela vyhnout. Při alergiích na pyl je dobré omezit pohyb v kvetoucí přírodě a doma využívat čističku vzduchu. Nemocným se doporučuje provést některé změny v obydlí, a to i v případě, že je příčinný alergen neznámý. (Špičák et al., 2004)

6.2 Farmakoterapie

Farmakoterapie je léčebný postup, který zahrnuje různorodé skupiny léků. U alergických onemocnění se především jedná o antihistaminika, antileukotrieny, kortikosteroidy, kromony, metylxanthiny a další.

6.2.1 Antihistaminika

Hojně využívanou skupinou jsou antihistaminika (antagonisté H-receptorů). Jsou to léky, které blokují histaminové receptory a zabraňují tak negativnímu působení histaminu na tkáň. Původně se využívaly k tlumení symptomatických projevů alergie. V současnosti jsou užívána především antihistaminika II. a III. generace, kde se jedná o antagonisty H1-receptorů. Jejich terapeutický účinek je profylaktický, protizánětlivý a imunomodulační. U kopřivky se někdy využívají antagonisté H1- i H2-receptorů. (Krejsek et al., 2016)

6.2.2 Antileukotrieny

Antileukotrieny se používají k léčbě bronchiálního astmatu. U lehkých forem se užívají samostatně, kdežto u těžších forem astmatu se kombinují s antihistaminiky. Léky byly vyvinuty na základě zjištění, že leukotrieny společně s dalšími faktory podporují alergickou reakci. Taktéž způsobují silné bronchokonstrikce. Antileukotrieny se dají rozdělit do dvou skupin. Může se jednat o inhibitory 5-lipoxygenázy nebo o antagonisty cysteinylových receptorů leukotrienů. (Špičák et al., 2004) Léky dále zeslabují influx eozinofilů do místa zánětu a snižují jejich celkový počet v krvi. (Krejsek et al., 2016)

6.2.3 Kortikosteroidy

Syntetické kortikosteroidy se řadí k nejčastěji používaným imunomodulačním látkám. Tvoří skupinu nejúčinnějších léků využívaných při léčbě alergického zánětu. Mají protizánětlivé účinky, snižují imunopatologickou reakci a ve vyšších dávkách působí antiproliferačně. Léky lze aplikovat perorálně či parenterálně (intravenózně, intramuskulárně, inhalačně). Nástup účinků je relativně pomalý (cca 8 hodin) a není ovlivněn způsobem podání. Při snaze omezit systémovou dostupnost a snížit nežádoucí účinky se upřednostňuje topická (lokální) forma kortikosteroidů. (Krejsek et al., 2016) K léčbě bronchiálního astmatu se využívá podávání topických kortikosteroidů v inhalační podobě. U těžších forem se podávají kombinované preparáty, které i při menších dávkách steroidů, zachovávají stejný léčebný účinek. (Špičák et al., 2004)

6.2.4 Kromony

Kromony účinkují jako stabilizátory membrány žírných buněk, bazofilů a eozinofilů. Fungují jako blokátory vápníkových kanálů. Prostřednictvím toho dochází k ovlivnění toku kalciových a chloridových iontů membránou. Omezí se tak uvolňování vazomotorických a prozánětlivých mediátorů alergického zánětu. Dříve se využívaly kromony k léčbě astmatu, dnes jsou nahrazovány inhalačními kortikosteroidy. Stále ale nacházejí uplatnění ve formě očních kapek, nosních sprejů či tobolek. Perorálně se užívají při léčbě potravinových alergií. (Krejsek et al., 2016)

6.2.5 Metylxanthiny

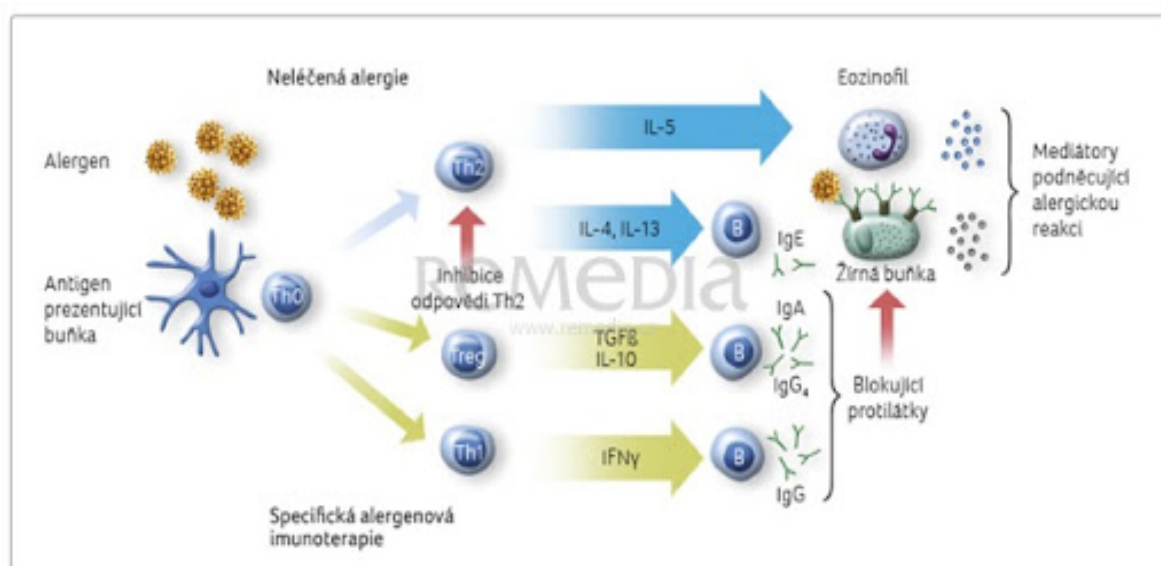
Účinek metyloxanthinů je bronchodilatační, protizánětlivý a zčásti imunomodulační. Déle také tyto léky snižují cévní plicní rezistenci a zvyšují průtok krve myokardem. V dnešní době se však při terapii astmatu využívají spíše jiná účinnější léčiva. (Špičák et al., 2004)

6.3 Alergenová imunoterapie

Alergenová imunoterapie (AIT) je jediná obecně uznávaná kauzální léčba, která vede k navození imunologické tolerance vůči danému alergenu. Léčba je založená na postupném vpravování vzestupných a následně udržovacích dávek příčinného alergenu. To se může provádět subkutánní nebo sublingvální cestou. Jedná se o poměrně náročný proces, který nepřerušene trvá přibližně 3 až 5 let. AIT vede k ústupu symptomů některých alergických onemocnění, a to na několik let po jejím dokončení. Má schopnost tlumit alergickou reaktivitu organismu a také předcházet novým senzibilizacím. Využívá se u pacientů s alergií na pyl, roztoče, plísňe, hmyz či zvířecí alergeny. AIT zatím není indikována u pacientů s potravinovou alergií nebo atopickým ekzémem. (Krejsek et al., 2016)

„Za hlavní imunomodulační efekt AIT je v současné době pokládáno ovlivnění funkčních regulačních subsetů T lymfocytů s dokladovanými změnami v cytokinové síti.“ (Krejsek et al., 2016, s. 426) Potlačením aktivity Th2 lymfocytů se sníží produkce prozánětlivých cytokinů (IL-4, IL-5, IL-13). Naopak dendritické buňky stimulují vyžívání T-lymfocytů do subsetů Treg a Th1. Ty dohromady produkují cytokiny IL-10, TGFβ a INFγ. Tento mechanismus tlumí produkci specifických IgE a indukuje tvorbu imunoglobulinů IgA a IgG₄ (tzv. blokujících). Změny v množství sérových protilátek je možné pozorovat laboratorním vyšetřením. (Krejsek et al., 2016)

Obrázek 4 Mechanismus účinku specifické AIT



Zdroj: <http://www.remedia.cz/Okruhy-temat/Imunologie/Sublingualni-imunoterapie-roztocovymi-tabletami-u-alergicke-rymy-a-astmatu/8568.wthumbnaildetail.ashx>

Na Obrázek 4 je schéma popisující účinek specifické alergenové imunoterapie. Jsou zde znázorněny změny v cytokinové síti v důsledku potlačení aktivity Th2 lymfocytů a stimulační tvorby Treg a Th1 lymfocytů. Dále je naznačena tvorba blokujících protilátek.

Stále více se podávání AIT provádí sublingvální cestou. Tato metoda je snadná a relativně bezpečná. V případě alergenových vakcín je snaha, aby se používaly tzv. alergoidy, protože mají nižší riziko rozvoje nežádoucích účinků. Vakcíny se za účelem zvýšení bezpečnosti a účinnosti neustále zkoumají a zdokonalují. (Krejsek et al., 2016)

6.4 Biologická léčba

Biologická léčba se řadí k dalším možnostem, jak imunomodulačně ovlivnit alergický zánět. Metoda může být účinná, pokud je správně určen fenotyp alergického onemocnění. Je finančně náročná a není jisté, zda se má aplikovat jen dočasně nebo spíše dlouhodobě až celoživotně. V současnosti biologická léčba využívá monoklonální protilátky anti-IgE a anti-IL-5. Příznivé výsledky vykazují pacienti s těžkým astmatem při užití léku lebrikizumab jako antagonisty IL-13. Taktéž je vyvíjen lék pitrakinra, který funguje jako duální antagonist IL-4 a IL-13. Inhalační forma tohoto léku je určena na léčbu astmatu a subkutánní pro pacienty s atopickou dermatitidou. (Krejsek et al., 2016)

PRAKTICKÁ ČÁST

7 CÍL A ÚKOLY PRÁCE

7.1 Hlavní cíl

Cílem práce bylo sledování senzibilizačních profilů u pacientů s pozitivitou na Bet v 1, Bet v 2 a Bet v 4. Senzibilizační profily budou porovnány s homologii s 20 nejfrekventovanějšími alergeny senzibilizačního profilu.

8 VÝZKUMNÉ PROBLÉMY

Výzkumný problém číslo 1: Pozitivita u senzibilizačního profilu Bet v 1 je vázána na homologii v rámci rodiny PR-10 proteinů.

Výzkumný problém číslo 2: Pozitivita u senzibilizačního profilu Bet v 2 je vázána na homologii v rámci rodiny profilinů.

Výzkumný problém číslo 3: Pozitivita u senzibilizačního profilu Bet v 4 je vázána na homologii v rámci rodiny polkalcinů.

9 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU

K retrospektivní analýze byl poskytnut anonymizovaný soubor naměřených dat z Ústavu imunologie a alergologie Fakultní nemocnice Plzeň. Výsledky byly získány měřením 1766 pacientů metodou ImmunoCAP ISAC od firmy Thermo Fisher Scientific v letech 2010 až 2014. U pacientů bylo vyšetřeno 112 alergenních komponent, které ImmunoCAP ISAC nabízí. K vytvoření senzibilizačních profilů u pacientů s alergií na břízu byly ze souboru výsledků vyfiltrováni ti pacienti, kteří jsou senzibilizováni na alergeny Bet v 1, Bet v 2 a Bet v 4.

10 METODIKA PRÁCE

10.1 ImmunoCAP ISAC

Ke stanovení specifických IgE protilátek metodou ImmunoCAP ISAC se může použít vzorek séra nebo plazmy z žilní či kapilární krve, která byla odebrána do zkumavky s heparinem. Případná hemolýza nemá na stanovení vliv. Pacientské vzorky se mohou uchovávat po dobu jednoho týdne při teplotě 2–8 °C, popřípadě je lze zamrazit na -20 °C. Před zahájením testu se reakční čipy a vzorky nechají vytemperovat na pokojovou teplotu. V případě rozmraženého vzorku se provádí kontrola homogenity. Jeden čip obsahuje čtyři reakční pole a slouží tak pro stanovení čtyř vzorků. Všechny potřebné reagentie pro metodu ImmunoCAP ISAC jsou součástí komerčně vyráběné soupravy. Obsah jedné soupravy je určen pro 20 vyšetření. (Phadia AB, 2019)

Obrázek 5 ImmunoCAP ISAC čip



Zdroj: vlastní

Na Obrázek 5 je vyfocen čip, který se při stanovení metodou ImmunoCAP ISAC využívá.

Čipy se před vlastním stanovením nejdříve předmývají. To se provádí vložením stojánku s čipy do speciální nádoby s promývacím roztokem. Nádoba se položí na magnetickou míchačku. Po 10 minutách míchání se stojánek s čipy přemístí do nádoby s destilovanou vodou, ve které se na míchačce nechá 30 sekund. Poté se čipy nechají oschnout na vzduchu nebo se vloží do centrifugy vhodné pro mikroskopické preparáty. Takto připravené čipy se vyskládají do vlhkostní komůrky. Na každé reakční pole se napipetuje 30 µl vzorku. Současně se stejným způsobem testuje i kontrola, která je součástí setu. Inkubace probíhá 120 minut v uzavřené komůrce při pokojové teplotě. Po uplynutí této doby se vzorky pomocí destilované vody opatrně odmyjí. Následuje promytí a schnutí čipů, které se provádí stejným

způsobem jako u předmytí. V dalším kroku se oschlé čipy opět vloží do vlhkostní komůrky a na každé reakční pole se napipetuje 30 µl fluorescenčně značené protilátky proti lidskému IgE. Komůrka se uzavře a zakryje hliníkovou fólií, aby se zabránilo průniku světla. Čipy se inkubují 30 minut. V posledním kroku se čipy jemně opláchnou destilovanou vodou, vložené ve stojánku promyjí a nechají oschnout. (Phadia AB, 2019)

Čipy jsou takto připravené k analýze. Provádí se skenování pomocí LuxScan 10k Microarray. Snímky se následně pomocí softwaru Phadia MIA zanalyzují a výsledky se uloží do databáze. Výsledky je možné si i rovnou zobrazit. Udávají se v arbitrárních jednotkách – ISU-E. Podle hladiny je software rozdělí do čtyř tříd. (Phadia AB, 2019)

Tabulka 2 Rozdělení do tříd podle odpovídající hladiny specifických IgE protilátek v ISU-E jednotkách

Třída	Hladina specifických IgE	Hodnoty ISU-E
0	Nedetekovatelná nebo velmi nízká	< 0,3
1	Nízká	≥ 0,3 – < 1
2	Vyšší až vysoká	≥ 1 – < 15
3	Velmi vysoká	≥ 15

Zdroj: PHADIA AB. ImmunoCAP ISAC: ImmunoCAP™ ISAC sIgE 112 – POKYNY K POUŽITÍ. Uppsala, Sweden: Phadia AB, 2019

V Tabulka 2 je možné pozorovat hodnotící třídy, kterým vždy odpovídá určitá hladiny specifických IgE protilátek v ISU-E jednotkách.

11 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Soubor naměřených dat získaných metodou ImmunoCAP ISAC byl přenesen do tabulky, ze které byli pomocí filtrů vždy vybráni pouze pacienti s pozitivitou na jeden ze sledovaných alergenů – Bet v 1, Bet v 2 nebo Bet v 4. Za pozitivní výsledek byla brána hladina specifických IgE protilátek $\geq 0,35$ ISU-E. U každé skupiny pacientů bylo určeno 20 nejfrekventovanějších alergenů senzibilizačního profilu. Informace o těchto alergenech jsou shrnuty v Tabulka 3.

Vypočtené frekvence senzibilizací (relativní četnosti) na jednotlivé alergeny senzibilizačního profilu byly zpracovány do grafů. V následujících podkapitolách je v tabulkách vždy srovnána relativní četnost nejfrekventovanějších alergenů jednotlivých senzibilizačních profilů s homologií k primárnímu alergenu. Jednotlivé alergeny byly také zařazeny do příslušné rodiny. Ke zjištění homologií a rodin alergenů byly použity odborné zdroje, a to konkrétně weby: Allergome (<http://www.allergome.org/index.php>), UniProt (<https://www.uniprot.org/>), Allergen online (<http://www.allergenonline.org/>) a COMPARE (<https://comparefasta.foodrisk.org/>).

Tabulka 3 Seznam pozitivních alergenů u pacientů senzibilizovaných pyly břízy

Alergen	Nativní / Rekombinantní	Zdroj	Funkce	Izoforma	Latinský název zdroje	Allergome kód
Aln g 1	R	Olše	PR-10 protein	Aln g 1.0101	Alnus glutinosa	7
Alt a 1	R	Alternaria	Kyselý glykoprotein	Alt a 1.0101	Alternaria alternata	722
Ara h 8	R	Arašíd	PR-10 protein	Ara h 8.0101	Arachis hypogaea	1215
Art v 1	N	Pelyněk	Defensin	Art v 1	Artemisia vulgaris	753
Bet v 1	R	Bříza	PR-10 protein	Bet v 1.0101	Betula verrucosa	89
Bet v 2	R	Bříza	Profilin	Bet v 2.0101	Betula verrucosa	127
Bet v 4	R	Bříza	Polkalcin	Bet v 4.0101	Betula verrucosa	129
Cor a 1.0101	R	Pyelísky	PR-10 protein	Cor a 1.0101	Corylus avellana	233
Cor a 1.0401	R	Lískový ořech	PR-10 protein	Cor a 1.0401	Corylus avellana	239

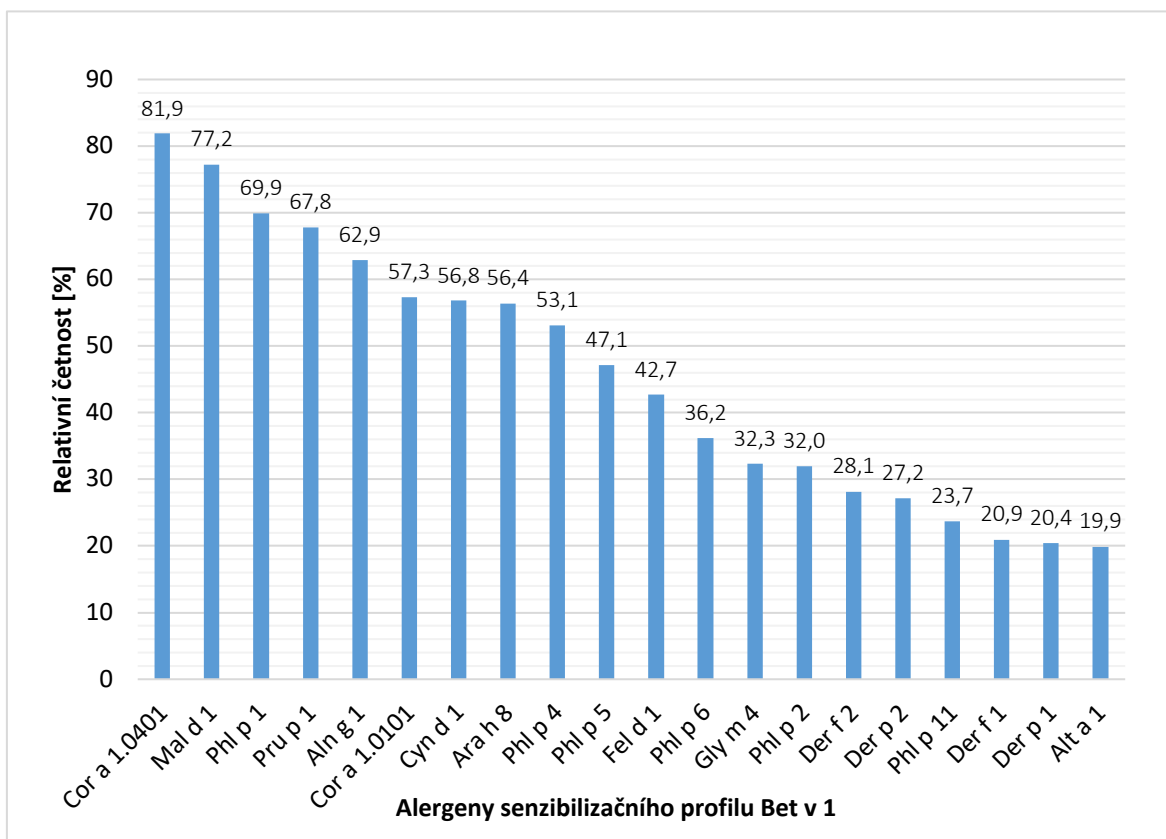
Alergen	Nativní / Rekombinantní	Zdroj	Funkce	Izoforma	Latinský název zdroje	Allergome kód
Cyn d 1	N	Troskut	Skupina trav 1	Cyn d 1	Cynodon dactylon	266
Der f 1	N	D. farinae (HDM)	Cysteinová proteáza	Der f 1	Dermatophagoides farinae	295
Der f 2	R	D. farinae (HDM)	NPC2 rodina	Der f 2.0101	Dermatophagoides farinae	302
Der p 1	N	D. pteronyssinus (HDM)	Cysteinová proteáza	Der p 1	Dermatophagoides pteronyssinus	310
Der p 2	R	D. pteronyssinus (HDM)	NPC2 rodina	Der p 2	Dermatophagoides pteronyssinus	316
Fel d 1	R	Kočka	Uteroglobulin	Fel d 1.0101	Felis domesticus	345
Gly m 4	R	Sója	PR-10 protein	Gly m 4.0101	Glycine max	749
Hev b 8	R	Latex	Profilin	Hev b 8.0204	Hevea brasiliensis	397
Mal d 1	R	Jablko	PR-10 protein	Mal d 1.0108	Malus domestica	464
Mer a 1	R	Bažanka	Profilin	Mer a 1.0101	Mercurialis annua	476
Ole e 2	N	Pyl olivovníku	Profilin	Ole e 2	Olea europaea	490
Phl p 1	R	Bojínek	Skupina trav 1	Phl p 1.0101	Phleum pratense	549
Phl p 11	R	Bojínek	Ole e 1-příbuzný protein	Phl p 11.0101	Phleum pratense	552
Phl p 12	R	Bojínek	Profilin	Phl p 12.0101	Phleum pratense	553
Phl p 2	R	Bojínek	Skupina trav 2	Phl p 2.0101	Phleum pratense	555
Phl p 4	N	Bojínek	BB enzym	Phl p 4	Phleum pratense	557
Phl p 5	R	Bojínek	Skupina trav 5	Phl p 5.0101	Phleum pratense	558
Phl p 6	R	Bojínek	Skupina trav 6	Phl p 6.0101	Phleum pratense	569
Phl p 7	R	Bojínek	Polkalcin	Phl p 7.0101	Phleum pratense	570
Pru p 1	R	Broskev	PR-10 protein	Pru p 1.0101	Prunus persica	602

Zdroj: Ústav imunologie a alergologie FN Plzeň

11.1 Senzibilizační profil u pacientů s pozitivitou na alergen Bet v 1

Z celkového počtu pacientů (1766) bylo na alergen Bet v 1 pozitivních 569 vyšetřovaných jedinců. Relativní četnost u jednotlivých alergenů senzibilizačního profilu v Graf 1 byla počítána z tohoto základu.

Graf 1 Senzibilizační profil u pacientů s pozitivitou na alergen Bet v 1



Zdroj: vlastní

U těchto pacientů byla nejčastěji (v 81,9 %) pozorována senzibilizace alergenem lískového ořechu (Cor a 1.0401). V porovnání s tím bylo na pyl lísky (Cor a 1.0101) senzibilizováno 57,3 % pacientů. Druhá nejčastější (v 77,2 %) senzibilizace byla k alergenům Mal d 1. Dále zde byla poměrně výrazná senzibilizace na alergeny bojínku (např. u Phl p 1 – 69,9 % a Phl p 4 – 53,1 %), olše (Aln g 1 – 62,9 %) a troskutu (Cyn d 1 – 56,8 %). U 243 pacientů (42,7 %) byla pozorována senzibilizace na kočičí alergen (Fel d 1). Relativní četnosti senzibilizací na molekuly odvozené od roztočů se pohybovaly mezi 20,4 a 28,1 %.

Tabulka 4 Relativní četnosti alergenů senzibilizačního profilu, jejich homologie s Bet v 1 a zařazení do příslušné rodiny

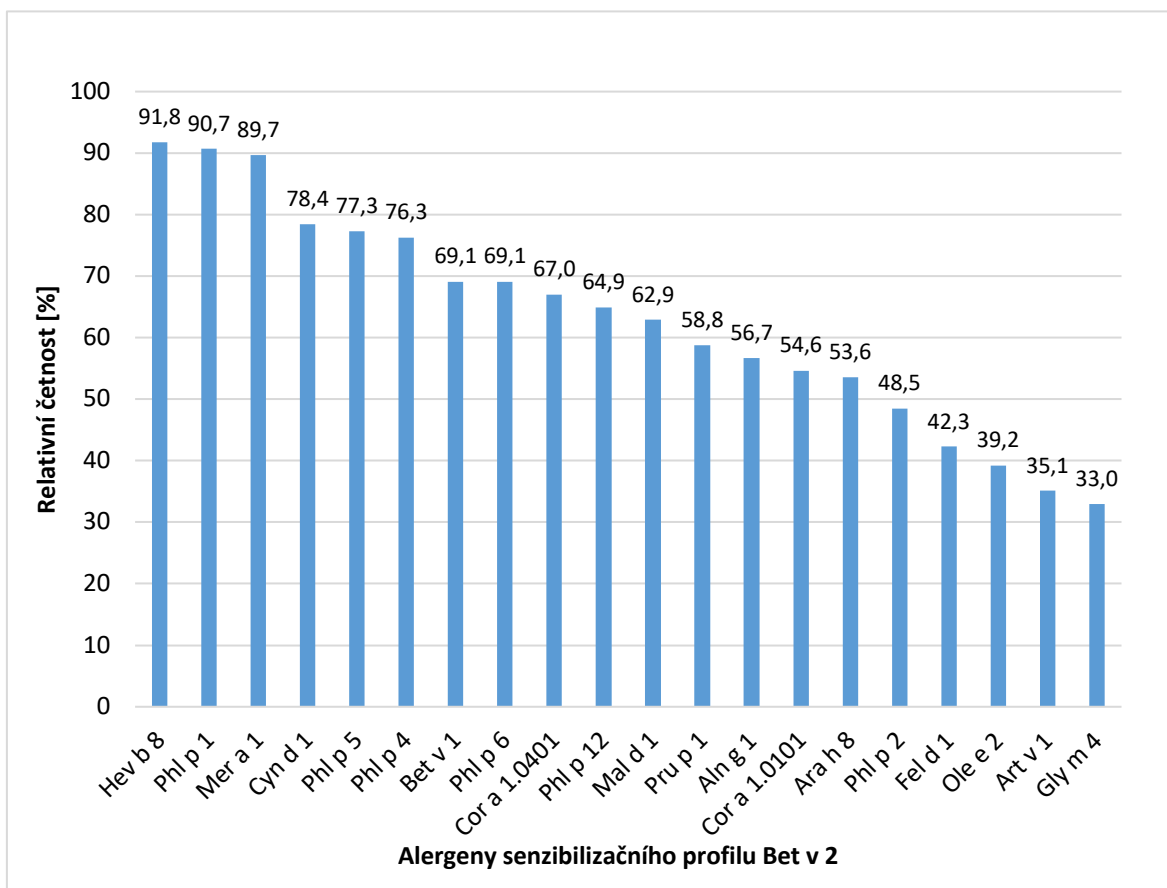
Alergen	Relativní četnost [%]	Homologie s Bet v 1 [%]	Rodina
Cor a 1.0401	81,9	67,5	PR-10
Mal d 1	77,2	56,9	PR-10
Phl p 1	69,9	—	Beta-expansin
Pru p 1	67,8	60,0	PR-10
Aln g 1	62,9	81,2	PR-10
Cor a 1.0101	57,3	72,5	PR-10
Cyn d 1	56,8	—	Beta-expansin
Ara h 8	56,4	46,5	PR-10
Phl p 4	53,1	—	BB enzym
Phl p 5	47,1	—	Skupina trav 5/6
Fel d 1	42,7	—	Uteroglobin
Phl p 6	36,2	—	Skupina trav 5/6
Gly m 4	32,3	48,1	PR-10
Phl p 2	32,0	—	Beta-expansin
Der f 2	28,1	—	NPC2
Der p 2	27,2	—	NPC2
Phl p 11	23,7	—	Ole e 1 rodina
Der f 1	20,9	—	rodina C1 peptidáz
Der p 1	20,4	—	rodina C1 peptidáz
Alt a 1	19,9	27,8	Alt a 1 rodina

Výsledky relativních četností alergenů, které patří do rodiny PR-10 proteinů, odpovídaly nalezeným homologiím s alergenem Bet v 1. Nejvyšší homologie dosahovala 81,2 % a byla nalezena u alergenu olše – Aln g 1. Malá část pacientů (19,9 %) reagovala na alergen Alt a 1, u kterého byla nalezena homologie ve 27,8 %. Alergeny bojínku a troskutu nevykazovaly žádnou homologii s alergenem Bet v 1 i přesto, že jejich pozitivita byla u pacientů poměrně častá. Z dostupných zdrojů nebyly nalezeny homologie ani u ostatních alergenů senzibilizačního profilu.

11.2 Senzibilizační profil u pacientů s pozitivitou na alergen Bet v 2

Z celkového počtu pacientů bylo alergenem Bet v 2 primárně senzibilizováno 97 vyšetřovaných jedinců. Relativní četnosti alergenů senzibilizačního profilu v Graf 2 byly počítány z tohoto základu.

Graf 2 Senzibilizační profil u pacientů s pozitivitou na alergen Bet v 2



Zdroj: vlastní

Z grafu vyplývá, že nejčastěji (v 91,8 %) se u této skupiny pacientů vyskytuje senzibilizace na latex (Hev b 8). Dále zde byly vysoké relativní četnosti senzibilizací na alergeny: bojínku (např. u Phl p 1 – 90,7 % a Phl p 12 – 64,9 %), bažanky (Mer a 1 – 89,7 %) a troskutu (Cyn d 1 – 78,4 %). Na pyl olivovníku (Ole e 2) bylo senzibilizováno 39,2 % pacientů a na pyl pelyňku (Art v 1) 35,1 % pacientů. Současně bylo pozitivní 67 jedinců (69,1 %) na hlavní alergen břízy – Bet v 1. Přecitlivělost na alergen kočky byla pozorována i u této skupiny pacientů.

Tabulka 5 Relativní četnosti alergenů senzibilizačního profilu, jejich homologie s Bet v 2 a zařazení do příslušné rodiny

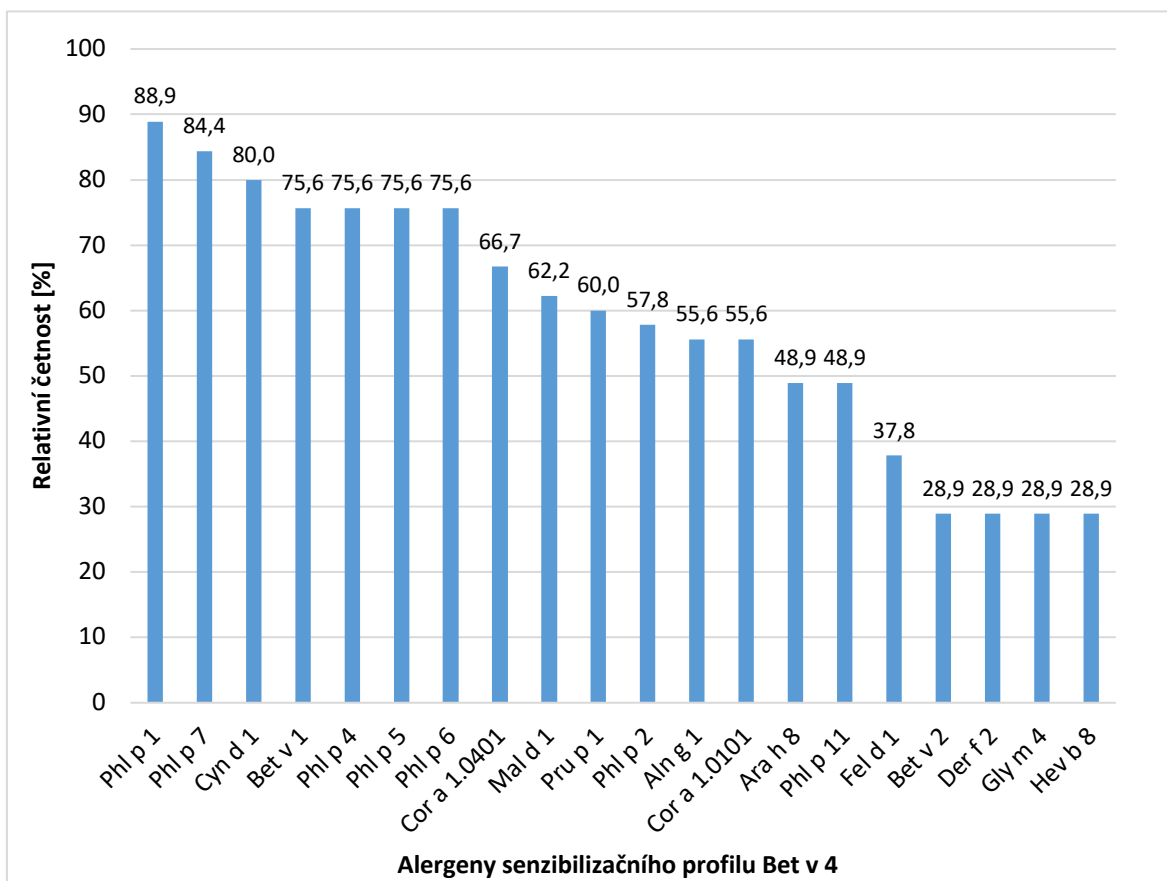
Alergen	Relativní četnost [%]	Homologie s Bet v 2 [%]	Rodina
Hev b 8	91,8	80,5	Profilin
Phl p 1	90,7	—	Beta-expansin
Mer a 1	89,7	85,0	Profilin
Cyn d 1	78,4	—	Beta-expansin
Phl p 5	77,3	—	Skupina trav 5/6
Phl p 4	76,3	—	BB enzym
Bet v 1	69,1	—	PR-10
Phl p 6	69,1	—	Skupina trav 5/6
Cor a 1.0401	67,0	—	PR-10
Phl p 12	64,9	79,1	Profilin
Mal d 1	62,9	—	PR-10
Pru p 1	58,8	—	PR-10
Aln g 1	56,7	—	PR-10
Cor a 1.0101	54,6	—	PR-10
Ara h 8	53,6	—	PR-10
Phl p 2	48,5	—	Beta-expansin
Fel d 1	42,3	—	Uteroglobin
Ole e 2	39,2	84,3	Profilin
Art v 1	35,1	—	DEFL
Gly m 4	33,0	—	PR-10

Z tabulky je patrné, že relativní četnosti a nalezené homologie u alergenů rodiny profilinů si odpovídají. Vysoké homologie s alergenem Bet v 2 byly z dostupných zdrojů zjištěny u pylu bažanky (v 85 %), pylu olivovníku (v 84,3 %) a u latexu (v 80,5 %). U alergenů bojínku byla homologie nalezena pouze u Phl p 12. Pro ostatní alergeny senzibilizačního profilu nebyly z dostupných zdrojů nalezeny žádné homologie.

11.3 Senzibilizační profil u pacientů s pozitivitou na alergen Bet v 4

Z celkového počtu pacientů byl alergen Bet v 4 pozitivní u 45 vyšetřovaných jedinců. Relativní četnost u jednotlivých alergenů senzibilizačního profilu v Graf 3 byla počítána z tohoto základu.

Graf 3 Senzibilizační profil u pacientů s pozitivitou na alergen Bet v 4



Zdroj: vlastní

Tato skupina jedinců byla nejčastěji senzibilizována alergeny bojínku, kde např. na Phl p 1 reagovalo 88,9 % pacientů a na Phl p 7 reagovalo 84,4 % pacientů. Relativní četnost senzibilizace na molekulu odvozenou od troskutu byla 80 %. U pacientů senzibilizovaných březovým alergenem Bet v 4 se vyskytly senzibilizace i na Bet v 1 (v 75,6 %) a Bet v 2 (ve 28,9 %). Dále se v senzibilizačním profilu vyskytly reakce např. na alergeny lísky, jablka a arašídů. I pacienti z této skupiny pozitivně reagovali na kočičí alergen Fel d 1.

Tabulka 6 Relativní četnosti alergenů senzibilizačního profilu, jejich homologie s Bet v 4 a zařazení do příslušné rodiny

Alergen	Relativní četnost [%]	Homologies Bet v 4 [%]	Rodina
Phl p 1	88,9	—	Beta-expansin
Phl p 7	84,4	67,1	Polkalcin
Cyn d 1	80,0	—	Beta-expansin
Bet v 1	75,6	—	PR-10
Phl p 4	75,6	—	BB enzyme
Phl p 5	75,6	—	Skupina trav 5/6
Phl p 6	75,6	—	Skupina trav 5/6
Cor a 1.0401	66,7	—	PR-10
Mal d 1	62,2	—	PR-10
Pru p 1	60,0	—	PR-10
Phl p 2	57,8	—	Beta-expansin
Aln g 1	55,6	—	PR-10
Cor a 1.0101	55,6	—	PR-10
Ara h 8	48,9	—	PR-10
Phl p 11	48,9	—	Ole e 1 rodina
Fel d 1	37,8	—	Uteroglobin
Bet v 2	28,9	—	Profilin
Der f 2	28,9	—	NPC2
Gly m 4	28,9	—	PR-10
Hev b 8	28,9	—	Profilin

U pacientů senzibilizovaných alergenem Bet v 4, který patří do rodiny polkalcinů, byla nalezena homologie (v 67,1 %) pouze s jednou molekulou. Tou je alergen Phl p 7, který také patří do rodiny polkalcinů. To vysvětluje jeho vysokou relativní četnost. Dále ani u velmi frekventovaných alergenů, jako jsou např. ostatní molekuly odvozené od bojínku, alergeny troskutu nebo olše, nebyly z dostupných zdrojů nalezeny homologie či shody v rodině s alergenem Bet v 4.

DISKUZE

Tato bakalářská práce se zaměřovala na sledování senzibilizačních profilů pacientů s alergií na břízu. Senzibilizační profily byly sestaveny na základě výsledků multiplexové metody ImmunoCAP ISAC. Velkou výhodou této metody je možnost paralelně dekodat senzibilizace k většímu spektru alergenů. Metoda nabízí stanovení 112 rekombinantních i nativních alergenových molekul z 51 alergenových zdrojů. Výhodná je i malá spotřeba biologického materiálu, kde je na jedno vyšetření použito pouze 30 μ l patientského séra či plazmy. Nedostatkem metody je semikvantitativní vyjadřování hladiny specifických IgE protilátek. Značnou nevýhodou jsou vysoké náklady na jedno vyšetření. Dále je potřeba brát na vědomí, že i když je poskytovaný panel alergenových molekul velmi rozsáhlý, zůstávají některé důležité molekuly alergenů mimo tento rozsah. Metoda se z hlediska její citlivosti a nákladů jeví výhodně v případě potřeby rozsáhlejšího screeningu. Indikací k provedení vyšetření je např. přítomnost nějakého alergického onemocnění, nemožnost provést kožní testování či kontrola AIT. Panzner a další (2014) ve své studii zmiňují, že diagnostika alergií na molekulární úrovni poskytuje exaktnější a komplexnější pohled na senzibilizační profily pacientů a také napomáhá přesněji indikovat specifickou AIT.

Jako první bylo provedeno sledování senzibilizačního profilu u pacientů s pozitivitou na alergen Bet v 1. Na tento hlavní březový alergen bylo pozitivní 569 testovaných jedinců. Výzkumný problém 1 říká, že pozitivita u senzibilizačního profilu Bet v 1 je vázána na homologii v rámci rodiny PR-10 proteinů. To bylo v senzibilizačním profilu Bet v 1 potvrzeno. U alergenů, které patří do rodiny PR-10 proteinů, byly nalezeny vysoké homologie s alergenem Bet v 1. Na základě homologie dochází u alergenů této rodiny ke zkříženým reakcím, a proto je jejich relativní četnost většinou vysoká. Z 569 vyšetřovaných jedinců bylo pozitivní 81,9 % na lískový oříšek, 77,2 % na alergen jablka a 67,8 % na alergen broskve. I Vaňková a další (2020) došli ve své studii k vysokým relativním četnostem senzibilizací na alergeny rodiny PR-10 proteinů. Nejvyšší homologie s alergenem Bet v 1 byly nalezeny u olše (v 81,2 %), lísky (v 72,5 %) a u lískového oříšku (v 67,5 %). Tato velká míra shody v aminokyselinové sekvenci opět vysvětluje jejich častou pozitivitu u pacientů primárně senzibilizovaných alergenem Bet v 1. Dále byla u této skupiny pacientů pozorována poměrně vysoká frekvence senzibilizací na molekuly odvozené od pylů trav. Nejvíce pacientů (69,9 %) bylo pozitivní na alergen Phl p 1. Dále byly zjištěny vysoké relativní četnosti senzibilizací u troskutu a dalších alergenů bojínku. Ani u jednoho z uvedených alergenů nebyla nalezena homologie s alergenem Bet v 1. Jedná se tedy s největší pravděpodobností o kosenzibilizaci

travními alergeny. Panzner a další (2014) ve své studii uvádějí, že senzibilizace na pyly břízy a pyly trav tvoří velkou část pylových senzibilizací v našem regionu, a proto je jejich kosenzibilizace velmi častá. O kosenzibilizaci se jedná i v případě ostatních alergenů senzibilizačního profilu Bet v 1, které nevykazují homologie či shody v rodině s alergenem Bet v 1.

Jako další byl sledován senzibilizační profil pacientů pozitivních na Bet v 2. Na tento alergen bylo pozitivních už jen 97 vyšetřovaných jedinců. Bylo prokázáno, že pozitivita u senzibilizačního profilu Bet v 2 je vázána na homologii v rámci rodiny profilinů. Z dostupných zdrojů byly u alergenů rodiny profilinů nalezeny homologie s alergenem Bet v 2. Míra shody v aminokyselinové sekvenci se pohybovala okolo 80 %. Pacienti byli nejčastěji senzibilizováni na latex (v 91,8 %), na alergen bojínku Phl p 1 (v 90,7 %) a na pyl bažanky (v 89,7 %). Rossi a další (2001) ve své studii také zjistili, že u pacientů s pozitivitou Bet v 2 a Phl p 1 byla frekvence senzibilizací na latex nadměrně vysoká. Alergenem bažanky roční (Mer a 1) se zabývali Vallverdú a další (1998). I oni ve své studii zjistili vysokou homologii a shodu v rodině mezi alergeny Mer a 1 a Bet v 2. Dále uvádějí, že u pacientů alergických na pyl, byla pozitivita na profiliny přibližně 20 %. Olivovník se v naší krajině běžně nevyskytuje, protože je to subtropický strom. To má nejspíše vliv i na frekvenci senzibilizací tímto alergenem. I přestože byla nalezena vysoká homologie (84,3 %) mezi alergeny Bet v 2 a Ole e 2, bylo na pyl olivovníku pozitivní jen 39,2 % pacientů. U ostatních alergenů senzibilizačního profilu nebyly nalezeny homologie či shody v rodině s alergenem Bet v 2. Ze zastoupení jednotlivých alergenů je zřejmé, že velkou roli zde hraje současná pozitivita hlavního alergenu břízy a kosenzibilizace pyly bojínku a troskutu.

Alergen Bet v 4 vyšel pozitivně už jen u 45 vyšetřovaných jedinců. Senzibilizační profil Bet v 4 je z naprosté většiny tvořen alergeny, u kterých nebyly nalezeny homologie ani shody v rodině s alergenem Bet v 4. Při porovnání aminokyselinových sekvencí nejfrekvencovanějších alergenů byla nalezena shoda s Bet v 4 (v 67,1 %) pouze u alergenem Phl p 7. Oba tyto alergeny patří do rodiny polkalcinů. Mezi alergeny této rodiny často dochází ke zkříženým reakcím. To je důvod, proč je relativní četnost senzibilizací alergenem Phl p 7 tak vysoká (v 84,4 %). Březový alergen Bet v 4 zkoumali i Neudecker a další (2004). Ve své studii prokázali, že struktura alergenů Bet v 4 a Phl p 7 je pozoruhodně podobná. I v tomto senzibilizačním profilu je možné pozorovat vysoké frekvence senzibilizací na molekuly odvozené od pylů trav a ostatních březových alergenů. Stejně jako v senzibilizačních profilech Bet v 1 a Bet v 2 je i u senzibilizačního profilu Bet v 4 pozorována poměrně vysoká frekvence senzibilizací kočičím alergenem Fel d 1. V tomto případě se také jedná

o kosenzibilizaci. Zároveň je Fel d 1 v těchto senzibilizačních profilech nejčastější nepylovou molekulou, která žádným způsobem nesouvisí s pozitivitou některého z březových alergenů. K tomuto výsledku došli ve své studii i Panzner a další (2014).

ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zaměřovala na sledování senzibilizačních profilů pacientů s alergií břízu. K tomu byla využita multiplexová metoda ImmunoCAP ISAC.

Na začátku teoretické části bakalářské práce byla popsána alergie a mechanismus jejího vzniku. Následující kapitoly se zaměřovaly na druhy alergenů, panalergenů a na zkřížené reakce mezi nimi, na diagnostiku a léčbu alergií. V jedné z kapitol jsou popisována některá častá alergická onemocnění.

Praktická část této práce obsahuje pracovní postup metody ImmunoCAP ISAC, postup retrospektivní analýzy dat, její výsledky a zpracování do grafů. Dále byly senzibilizační profily porovnány s homologií 20 nejfrekventovanějších alergenů těchto senzibilizačních profilů. Výsledky porovnávání byly zaznamenány do tabulek.

Při sledování senzibilizačních profilů byly u některých alergenů nalezeny homologie či shody v rodině s březovými alergeny. Mezi takovými alergeny dochází ke zkříženým reakcím. Proto konečná diagnóza není určována jen laboratorními výsledky, ale vždy se přihlíží i k anamnéze pacienta a k výsledkům klinických vyšetření. Pyl břízy je jeden z nejčastějších alergenů na našem území. Pacienti alergičtí na břízu tedy mohou být senzibilizováni i některými dalšími molekulami, které s březovými alergeny přímo nesouvisí. Kosenzibilizace bylo možné pozorovat ve všech senzibilizačních profilech této bakalářské práce. Dle mého názoru přinášejí senzibilizační profily opravdu podrobný přehled o senzibilizacích pacientů a mají tedy význam při indikaci či optimalizaci alergenové imunoterapie.

SEZNAM LITERATURY

1. **AMBRUSOVÁ, Zuzana.** Rekombinantní alergeny. *Alergie*. Praha: Tigis, **2011**(1), 50-53. ISSN 1212-3536.
2. **ARLIAN, Larry G. a Thomas A.E. PLATTS-MILLS.** The biology of dust mites and the remediation of mite allergens in allergic disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2001, **107**(3), 406-413. ISSN 00916749. Dostupné z: doi:10.1067/mai.2001.113670
3. **ASAM, C., H. HOFER, M. WOLF, L. AGLAS a M. WALLNER.** Tree pollen allergens—an update from a molecular perspective. *Allergy*. 2015, **70**(10), 1201-1211. ISSN 0105-4538. Dostupné z: doi:10.1111/all.12696
4. **BARTŮŇKOVÁ, Jiřina a Milan PAULÍK.** *Vyšetřovací metody v imunologii. 2., přeprac. a dopl. vyd.* Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3533-7.
5. **BOJČUKOVÁ, Jana, Tomáš VLAS, Peter FORSTENLECHNER a Petr PANZNER.** Comparison of two multiplex arrays in the diagnostics of allergy. *Clinical and Translational Allergy* [online]. 2019, **9**(1) [cit. 2021-02-13]. ISSN 2045-7022. Dostupné z: doi:10.1186/s13601-019-0270-y
6. **BUBLIN, Merima a Heimo BREITENEDER.** Cross-reactivities of non-homologous allergens. *Allergy*. 2020, **75**(5), 1019-1022. ISSN 0105-4538. Dostupné z: doi:10.1111/all.14120
7. **FUCHS, Martin.** Panalergeny – Druhý břízový alergen (PROFILIN) a jeho homologie (podobnosti). *Alergie, Astma, Bronchitida*. Praha: Tigis, **2004**(4), 20-23. ISSN 1212-3544.
8. **HEFFLER, Enrico, Francesca PUGGIONI, Silvia PEVERI, Marcello MONTAGNI, Giorgio Walter CANONICA a Giovanni MELIOLI.** Extended IgE profile based on an allergen macroarray: a novel tool for precision medicine in allergy diagnosis. *World Allergy Organization Journal*. 2018, **11**. ISSN 19394551. Dostupné z: doi:10.1186/s40413-018-0186-3
9. **HEINZERLING, Lucie, Adriano MARI a Karl-Christian BERGMANN, et al.** The skin prick test – European standards. *Clinical and Translational Allerg.* 2013, **3**(1). ISSN 2045-7022. Dostupné z: doi:10.1186/2045-7022-3-3

10. **HENZL, Michael T., Mark A. REED a Anmin TAN.** Heightened stability of polycalcin Phl p 7 is correlated with strategic placement of apolar residues. *Biophysical Chemistry*. 2011, **159**(1), 110-119. ISSN 03014622. Dostupné z: doi:10.1016/j.bpc.2011.05.015
11. **HOŘEJŠÍ, Václav, Jiřina BARTUŇKOVÁ, Tomáš BRDIČKA a Radek ŠPÍ-ŠEK.** *Základy imunologie*. 6., aktualizované vydání. V Praze: Stanislav Juhaňák - Triton, 2017. ISBN 978-80-7553-250-3.
12. **KALABUSOVÁ, Božena.** Alergie, anafylaxe, anafylaktický šok. *Urologie pro praxi*. 2016, **17**(1), 27-29. ISSN 1803-5299. Dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/med/2016/02/09.pdf>
13. **KHAN, David A. a Roland SOLENSKY.** Drug allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010, **125**(2), 126 -137.e1. ISSN 00916749. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaci.2009.10.028
14. **KOPELETOVÁ, Eliška a Eva VERNEROVÁ.** Potravinové alergie z pohledu alergologa. *Medicína pro praxi*. 2016, **13**(5), 242-247. ISSN 1803-5310. Dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/med/2016/05/07.pdf>
15. **KREJSEK, Jan, Ctirad ANDRÝS a Irena KRČMOVÁ.** *Imunologie člověka*. Hradec Králové: Garamon, 2016. ISBN 978-80-86472-74-4.
16. **LANGEROVÁ, Monika, Iva KARLOVÁ a Jan ŠTERNBERSKÝ.** Epikutánní testy v praxi. *Dermatologie pro praxi*. 2011, **5**(1), 171-174. Dostupné z: <https://www.dermatologiepropraxi.cz/pdfs/der/2011/03/14.pdf>
17. **LITZMAN, Jiří, Tomáš FREIBERGER, Vlastimil KRÁL a Vojtěch THON.** *Základy vyšetření v klinické imunologii*. Brno: Masarykova univerzita, 2007. ISBN 978-80-210-4227-8.
18. **MCKENNA, Olivia E., Claudia ASAM, Galber R. ARAUJO, Anargyros ROULIAS, Luiz R. GOULART a Fatima FERREIRA.** How relevant is panallergen sensitization in the development of allergies? *Pediatric Allergy and Immunology*. 2016, **27**(6), 560-568. Dostupné z: doi:10.1111 / pai.12589
19. **NEUDECKER, Philipp, Jörg NERKAMP, Anke EISENMANN, et al.** Solution Structure, Dynamics, and Hydrodynamics of the Calcium-bound Cross-reactive Birch Pollen

Allergen Bet v 4 Reveal a Canonical Monomeric Two EF-Hand Assembly with a Regulatory Function. *Journal of Molecular Biology*. 2004, **336**(5), 1141-1157. ISSN 00222836. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmb.2003.12.070

20. **PANZNER, Petr, Martina VACHOVÁ, Petra VÍTOVCOVÁ, Tomáš VLAS a Marek MALÝ.** Analýza senzibilizačních profilů pylových alergiků z oblasti západních Čech. *Alergie*. Praha: Tigis, **2014**(4), 205-212. ISSN 1212-3536.

21. **PETRŮ, Vít.** Kožní prick testy - zlatý standard diagnostiky v alergologii. *Alergie*. Praha: Tigis, **2014**(1), 33-36. ISSN 1212-3536.

22. **PHADIA AB.** *ImmunoCAP ISAC: ImmunoCAP™ ISACE112i_POKYNY K POUŽITÍ*. Uppsala, Sweden: Phadia AB, 2019.

23. **POMÉS, Anna, Janet M. DAVIES, Gabriele GADERMAIER, et al.** WHO/IUIS Allergen Nomenclature: Providing a common language. *Molecular Immunology*. 2018, **100**, 3-13. ISSN 01615890. Dostupné z: doi:10.1016/j.molimm.2018.03.003

24. **ROSSI, Renato E., Georgio MONASTEROLO a Serena MONASTERO.** Prevalence of IgE antibodies to an extract from rubber tree (*Hevea brasiliensis*) latex and recombinant pollen allergens (Phl P 1, Phl P 2, Phl P 5, Bet v 1 and Bet v 2) in the sera of Italian atopic patients. *Allergy International*. 2001, **50**(3), 203-209. ISSN 13238930. Dostupné z: doi:10.1046/j.1440-1592.2001.00221.x

25. **SIMON-NOBBE, Birgit, Ursula DENK, Verena PÖLL, Raphaela RID a Michael BREITENBACH.** The Spectrum of Fungal Allergy. *International Archives of Allergy and Immunology*. 2007, **145**(1), 58-86. ISSN 1018-2438. Dostupné z: doi:10.1159/000107578

26. **ŠPIČÁK, Václav a Petr PANZNER.** *Alergologie*. Praha: Galén, 2004. ISBN 80-7262-265-x.

27. **VALLVERDÚ, Angel, Juan A. ASTURIAS, M.Carmen ARILLA, Nuria GÓMEZ-BAYÓN, Alberto MARTÍNEZ, Jorge MARTÍNEZ a Ricardo PALACIOS.** Characterization of recombinant *Mercurialis annua* major allergen Mer a 1 (profilin). *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1998, **101**(3), 363-370. ISSN 00916749. Dostupné z: doi:10.1016/S0091-6749(98)70249-0

28. **VAN HAGE, Marianne, Carl HAMSTEN a Rudolf VALENTA.** ImmunoCAP assays: Pros and cons in allergology. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2017, **140**(4), 974-977. ISSN 00916749. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaci.2017.05.008

29. **VAŇKOVÁ, R., J. ČELAKOVSKÁ, J. BUKAČ, I. KRČMOVÁ, J. KREJSEK a C. ANDRÝS.** Využití multiplexového systému ImmunoCAP ISAC k určení senzibilizace na molekulární komponenty související se závažností atopické dermatitidy. *Česko-slovenská dermatologie*. Praha: Česká lékařská společnost J. E. Purkyně, 2020, **95**(5), 166-179. ISSN 0009-0514.

SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha A – Výsledkový list ImmunoCAP ISAC – kontrola
- Příloha A – Souhlas s poskytováním informací

PŘÍLOHY

Příloha A – Výsledkový list ImmunoCAP ISAC – kontrola

Thermo
SCIENTIFIC



ImmunoCAP
ISAC

SAMPLE INFORMATION		PATIENT INFORMATION	
Sample ID:	CTR03	Patient ID:	
Sampling date:	31.07.2020	Name:	
Approval status:	Measured	Birth date:	Age:
Print date:	31.07.2020	ID/MR#:	Gender:
Calibration curve:	CTR03 31.07.2020 DU80O30_4		












ORDERING PHYSICIAN INFORMATION	
Ordering physician:	Physician Name
Address:	

1. Summary of positive IgE results





Mainly species-specific food components

Egg white	Gal d 1	Ovomucoid	0,9 ISU-E	
	Gal d 2	Ovalbumin	30 ISU-E	

Mainly species-specific aeroallergen components

Grass pollen				
Timothy grass	Phl p 5	Grass group 5	53 ISU-E	
Tree pollen				
Birch	Bet v 1	PR-10 protein	0,9 ISU-E	
Weed pollen				
Ragweed	Amb a 1	Pectate lyase	19 ISU-E	
Mugwort	Art v 1	Defensin	3,1 ISU-E	
Animal				
Dog	Can f 1	Lipocalin	16 ISU-E	
	Can f 2	Lipocalin	57 ISU-E	
	Can f 5	Arginine Esterase	37 ISU-E	
Cat	Fel d 1	Uteroglobin	2,7 ISU-E	
	Mite			
D. farinae (HDM)	Der f 1	Cysteine protease	1,6 ISU-E	
D. pteronyssinus (HDM)	Der p 1	Cysteine protease	13 ISU-E	
	Der p 2	NPC2 family	0,9 ISU-E	

Cross-reactive components

Lipid transfer protein (nsLTP)				
Walnut	Jug r 3	Lipid transfer protein (nsLTP)	0,8 ISU-E	
Peach	Pru p 3	Lipid transfer protein (nsLTP)	33 ISU-E	
Mugwort	Art v 3	Lipid transfer protein (nsLTP)	43 ISU-E	
Plane tree	Pla a 3	Lipid transfer protein (nsLTP)	8,1 ISU-E	

SAMPLE ID: CTR03

PATIENT ID:

PATIENT NAME:

31.07.2020

Page 1 / 11

Cross-reactive components

PR-10 protein

Birch Bet v 1 PR-10 protein 0,9 ISU-E 

ISAC Standardized Units (ISU-E)

< 0.3
0.3 - 0.9
1 - 14.9
≥ 15

Level

Undetectable
Low
Moderate / High
Very High



Příloha B – Souhlas s poskytováním informací



FAKULTNÍ NEMOCNICE PLZEŇ
Útvar náměstka pro ošetrovatelskou péči
Edvarda Beneše 13, 305 99 Plzeň - Bory
alej Svobody 60, 304 60 Plzeň - Lochotín
IČO 00669806 tel.: 377 401 111, 377 103 111

Vážená paní
Nikol Bouzková
Studentka oboru Zdravotní laborant
Fakulta zdravotnických studií, Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví
Západočeská univerzita v Plzni

Povolení sběru informací ve FN Plzeň

Na základě Vaší žádosti Vám jménem Útvaru náměstkyně pro ošetrovatelskou péči FN Plzeň **uděluji souhlas** se sběrem a zpracováním anonymizovaných dat z výsledků laboratorních metod, používaných v *Ústavu imunologie a alergologie (ÚIA) FN Plzeň*. Tento souhlas je vydáván, při splnění níže uvedených podmínek, v souvislosti s vypracováním Vaší bakalářské práce s názvem „Senzibilizační profil u pacientů s alergií na břízu“.

Podmínky, za kterých Vám bude umožněna realizace Vašeho šetření ve FN Plzeň:

- Vrchní sestra ÚIA souhlasí s Vaším postupem.
- Osobně povedete svoje šetření.
- Vaše šetření nenaruší chod pracoviště ve smyslu provozního zajištění dle platných směrnic FN Plzeň, **ochrany dat pacientů** a dodržování Hygienického plánu FN Plzeň. **Vaše šetření bude provedeno za dodržení všech legislativních norem, zejména s ohledem na platnost zákona č. 372/2011 Sb.** o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, v platném znění.
- Údaje ze zdravotnické dokumentace pacientů, které budou uvedeny ve Vaší bakalářské práci, musí být anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět v době Vaší, školou schválené odborné praxe na ÚIA a **pod přímým vedením** oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým **je Ing. Bc. Tomáš Vlas, odborný pracovník v laboratorních metodách ÚIA FN Plzeň**.

Po zpracování Vámi zjištěných údajů poskytnete zdravotnickému oddělení / klinice či organizačnímu celku FN Plzeň závěry Vašeho šetření, pokud o ně projeví oprávněný pracovník ZOK / OC zájem a budete se aktivně podílet na případné prezentaci výsledků Vašeho šetření na vzdělávacích akcích pořádaných FN Plzeň.

Toto povolení nezakládá povinnost zdravotnických pracovníků s Vámi spolupracovat, pokud by spolupráce s Vámi narušovala plnění pracovních povinností zaměstnanců. Spolupráce zaměstnanců FN Plzeň na Vašem šetření je dobrovolná.

Přeji Vám hodně úspěchů při studiu.

Mgr. Bc. Světluše Chabrová
manažerka pro vzdělávání a výuku NELZP
zástupkyně náměstkyně pro oš. péči

Útvar náměstkyně pro oš. péči FN Plzeň
tel.: 377 103 204, 377 402 207
e-mail: chabrovas@fnplzen.cz

4. 3. 2020