

Molekulárně definované alergeny a jejich využití v diagnostice alergického zánětu (atopické dermatitidy)

Vaňková R.¹, Čelakovská J.², Krejsek J.¹, Krčmová I.¹, Andrýs C.¹

¹Ústav klinické imunologie a alergologie, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Fakultní nemocnice Hradec Králové
přednosta prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.

²Klinika nemocí kožních a pohlavních, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Fakultní nemocnice Hradec Králové
přednosta doc. MUDr. Miloslav Salavec, CSc.

SOUHRN

Stanovení specifických IgE protilátek je nedílnou součástí diagnostiky alergických onemocnění. Běžně se používají extrakty z přirozených alergenních zdrojů, které obsahují celý komplex alergenních i nealergenních složek. Použití molekulárně definovaných alergenů je dalším krokem ke zpřesnění diagnózy, určení příčinných alergenů pro alergenovou imunoterapii a predikci závažných reakcí. S určitými výhradami lze také odlišit reakci na druhově specifické alergeny od zkříženě reagujících. Význam analýzy specifických IgE protilátek je možno demonstrovat na příkladech nejvýznamnějších potravinových alergenů, jako jsou sója, kravské mléko, vejce, ořechy, ryby, koryši a měkkýši a bílkoviny pšenice. Hladinu specifických IgE protilátek je možno určit proti jednotlivým molekulárně definovaným alergenům nebo lze použít multiplexní techniku umožňující získat komplexní obraz o senzibilizaci daného pacienta. Zatímco se tyto metody využívají v diagnostice respiračních forem alergického zánětu, anafylaxe a u potravinových alergií, u pacientů s atopickou dermatitidou se běžně multiplexová vyšetření molekulárních alergenů neprovádějí. Cílem článku je informovat o možnostech laboratorní diagnostiky molekulárních alergenů u pacientů s atopickou dermatitidou.

Klíčová slova: atopická dermatitida – molekulární komponentová diagnostika – potravinová alergie – ISAC test – ALEX test

SUMMARY

Molecularly Defined Allergens and Their Use in the Diagnostics of Allergic Inflammation (Atopic Dermatitis)

The determination of specific IgE antibodies is an integral part of the diagnostics of allergic diseases. Extracts from natural allergenic sources that contain a whole complex of both allergenic and non-allergenic components are commonly used. The use of molecularly defined allergens is a next step in making the diagnosis more accurate, identifying causative allergens for allergen immunotherapy, and predicting severe reactions. Even the response to species-specific allergens or cross-reactive allergens can be distinguished with certain reservations. The importance of specific IgE antibody analysis can be demonstrated on the most important food allergens, such as soy, cow milk, eggs, nuts, fish, crustaceans, molluscs and wheat. The level of specific IgE antibodies can be determined against individual molecular allergens or a multiplex technique can be used to obtain a comprehensive picture of the patient's sensitization. Whereas these methods are used in the diagnostics of respiratory forms of allergic inflammation, anaphylaxis and food allergies, multiplex assays are not commonly used in the diagnostics of atopic dermatitis yet. The aim of the article is to inform about possibilities of laboratory diagnostics of molecular allergens in patients suffering from atopic dermatitis.

Key words: atopic dermatitis – component-resolved diagnosis – food allergy – ISAC test – ALEX test

Čes-slov Derm, 95, 2020, No. 4, p. 127–140

ÚVOD

Atopie je vrozená dispozice k přecitlivělosti a rozvoji alergického onemocnění. Senzibilizovaní jedinci reagují na běžnou expozici alergenům zvýšenou produkcí IgE protilátek v krevním séru. Alergické vazby se manifestu-

jí v podobě alergických onemocnění, jako je astma bronchiální (AB), alergická rýma (AR), atopická dermatitida (AD) a potravinová alergie [27].

Atopická dermatitida je popisována jako chronické zánětlivé onemocnění kůže. V prvotním stadiu bývá způsobena narušením kožní obranné bariéry, aktivací

imunitního systému s rozvojem poškozujícího zánětu [32]. Je narušena imunitní tolerance vůči vnějším alergenům. Imunitní odpověď je polarizována směrem k buňkám vrozené imunity, jako jsou dendritické buňky, ILC („Innate Lymphoid Cells“) typu 2, žírné buňky, bazofilní granulocyty a posléze i eozinofilní granulocyty. Zároveň se aktivují i mechanismy adaptivní imunitní odpovědi Th2 fenotypu. Typickým projevem rozvíjejícího se alergického zánětu je tvorba IgE protilátek namířených proti příčinným alergenům.

Exacerbaci kožních lézí mohou u atopické dermatitidy způsobit různé alergeny. Specifická IgE senzibilizace je u dospělých pacientů s AD popisována u potravinových a inhalačních alergenů, zejména na roztoče domácího prachu, pyl a potraviny rostlinného původu [51]. Možnost mapovat senzibilizaci pacientů na molekulární úrovni přinesl pokrok v biotechnologiích a ve výzkumu alergenů v posledních desetiletích. Pro vyšetření alergen-specifických IgE protilátek proti molekulárně definovaným alergenům, tzv. komponentám se vžil termín CRD („Component Resolved Diagnostics“). Alergenní komponenty mohou být připravovány rekombinantní technologií (označované „r“, rekombinantní) nebo purifikací z přírodních zdrojů (označované „n“, nativní) [19, 55].

Logickým důsledkem rychlého rozmachu alergologie ve druhé polovině minulého století byly pokusy zavést do nomenklatury alergenů systém využitelný při vědecké práci i v běžné klinické praxi. Po několika neúspěšných pokusech byla v 80. letech 20. století sestavena komise zabývající se touto problematikou při Mezinárodní unii imunologických společností (IUIS). Tato komise navrhla názvosloví založené na prvních třech písmenech rodového jména a prvním písmenu druhového jména živočicha nebo rostliny, ze kterého alergen pochází. Tento název byl doplněn římským číslem odpovídajícím chronologickému pořadí izolace konkrétního alergenu. V 90. letech byly římské číslice nahrazeny arabskými. Nejvýznamnější alergen břízy tedy nese označení Bet v 1 od *Betula verrucosa*. Další pokrok v poznání biochemické i funkční struktury alergenů spolu s možnostmi přípravy rekombinantních forem vedl k obohacení názvů alergenů o izoalergeny a jejich varianty [49]. Izoalergeny jsou vysoce homologní alergeny s podobnými biologickými i biochemickými vlastnostmi, které sdílejí alespoň 67 % aminokyselinové sekvence. Jejich varianty (izoformy) se odlišují zpravidla v několika málo aminokyselinách a jsou homologní na více než 90 %. Izoalergeny se zapisují dvojicí čísel po oddělovači v podobě tečky. Dalšími dvěma číslicemi je možné označit variantu. Jako příklad může sloužit pyl lísky, u kterého lze zapsat dvě varianty téhož izoalergenu: Cor a 1.0101 a Cor a 1.0102. Zařazení nového alergenu do nomenklatury WHO/IUIS je několikastupňový proces, u kterého musí být splněno několik podmínek, mezi něž patří identifikace zdroje, aminokyselinová a genetická sekvence, existence purifikovaného alergenu a schopnost vazby lidských IgE protilátek senzibilizovaných alergiků [46].

MOLEKULÁRNÍ POTRAVINOVÉ ALERGENY

Každý zdroj potravy může být považován za potenciálně alergenní směs bílkovinných molekul, které mohou mít odlišné biologické vlastnosti, strukturu a funkci. Tyto molekulární komponenty mají přesně definované chemické složení a vyvolávají IgE mediovanou odpověď.

Alergeny, které u více než 50 % pacientů způsobují senzibilizaci na konkrétní potravinu, jsou považovány za hlavní alergeny. Často bývají druhově specifické a jejich identifikací lze určit primární senzibilizaci na daný alergenní zdroj tzv. příčinný alergen [12]. Například hlavním alergenem vaječného bílku je ovomucoid (Gal d 1), který je vysoce alergenní a stabilní vůči tepelnému a enzymatickému působení [37].

Vedlejší potravinové alergeny bývají zastoupené u nižšího počtu alergiků (pod 50 %) a často se projevují méně závažnými příznaky [17]. Podle biologické aktivity je lze zařadit do proteinových rodin (panalergeny), které se vyznačují úzkou chemickou a biologickou podobností (homologií). Molekuly v rámci jedné proteinové skupiny sdílejí společné epitopy, a tím se stejné specifické IgE protilátky mohou vázat na podobné struktury přítomné v alergenech z různých zdrojů vyskytujících se napříč rostlinnou či živočišnou říší. Tento jev je popisován jako zkřížená reaktivita [12]. Ke zkřížené reakci dojde pouze při podobnosti alergenu s druhově specifickou molekulou z více jak 70 %, vzácně z 50 % [1].

V potravinách se běžně vyskytují tyto zkříženě reagující skupiny panalergenů rostlinného původu, např. zásobní „storage“ proteiny, polkalciny, profilyny, nsLTP („non-specific Lipid Transfer Proteins“), PR-10 proteiny („Pathogenesis-Related 10 Proteins“), TLP („Thaumatococcus-like Proteins“, PR-5 proteiny) a živočišného původu, např. tropomyosiny a parvalbuminy.

PR-10 proteiny (homology alergenu břízy Bet v 1) jsou termolabilní, inaktivují se působením proteáz a způsobují zkříženou reaktivitu mezi pyly stromů a potravinami rostlinného původu. Jsou významně zastoupeny ve dřevě ovoce a zeleniny, např.: *Rosaceae*: jablko (Mal d 1), třešeň (Pru av 1), broskev (Pru p 1), *Apiaceae*: mrkev (Dau c 1), celer (Api g 1), *Betulaceae*: bříza (Bet v 1), lískový ořech (Cor a 1), *Fabaceae*: arašíd (Ara h 8), sója (Gly m 4) a fazole mungo (Vig r 1). Většinou jsou asociované s lokálními projevy („Pollen-Food Syndrom“, PFS, orální alergický syndrom, OAS), ale lískový ořech, celer, arašíd a sója jsou částečně tepelně stabilní a mohou vzácně vyvolat systémovou odpověď [57].

Mezi další obranné proteiny, které chrání rostlinu před patogeny a uplatňují se jako alergeny, patří **rodina thaumatin-like proteinů**. Vyskytují se především v ovoci, například v broskvi (Pru p 2), kiwi (Act d 2), jablku (Mal d 2) a banánu (Mus a 4). Vzhledem k vyšší termostabilitě a odolnosti vůči enzymatickému trávení jsou spojovány s rizikem rozvoje závažných potravinových alergií [17].

Termostabilní a odolné vůči enzymatické denaturaci jsou i **nsLTP**. Můžeme je nalézt především ve slupkách ovoce a zeleniny, např.: *Rosaceae*: jablko (Mal d 3), třešň (Pru av 3), broskev (Pru p 3) a citron (Cit l 3) a *Betulaeae*: lískový ořech (Cor a 8). Projevují se závažnými systémovými reakcemi [2].

Profiliny (homology alergenu břízy Bet v 2) jsou termolabilní a enzymatickým štěpením se degradují. Můžeme je nalézt například v citrusovém ovoci (Cit s 2), melounu (Citr l 2), banánu (Mus a 1) a rajčeti (Sola l 1). Projevují se především OAS příznaky, ale i systémově. Jsou považovány za klinicky méně významné alergeny [14].

Polkalciny patří do skupiny proteinů vázajících vápník. Vyskytují se převážně v pylu kvetoucích rostlin. Podílejí se významně na zkřížené reaktivitě s různou klinickou závažností alergických projevů. Vyskytují se například v bojínku (Phl p 7) a bříze (Bet v 4) [40].

Zásobní proteiny patří mezi vysoce stabilní alergeny odolné vůči teplu a proteázám. Nacházejí se často v semenech, jádrech a ořeších. Jako příklad můžeme uvést vicilin (Ara h 1 – arašíd, Ana o 1 – kešu, Jug r 2 – vlašský ořech) a 2S albumin (Ara h 6 – arašíd, Ana o 3 – kešu, Ber e 1 – paraořech, Jug r 1 – vlašský ořech, Ses i 1 – sezam). Tyto alergenní molekuly mají vysokou alergenicitu a často vyvolávají závažné systémové reakce (proanafylaktické alergeny) [17, 40].

Tropomyosiny jsou vysoce termostabilní a riziko vyvolání anafylaktické reakce je taktéž velmi vysoké. Vyskytují se především ve svalech korýšů a měkkýšů, u kterých vykazují zkříženou reaktivitu mezi korýši (např. Pen m 1 – kreveta, Cha f 1 – krab, Pro c 1 – rak) i mezi měkkýši (např. Cra g 1 – ústřice a další). Tropomyosiny můžeme nalézt i u členovců (Der p 10 – roztoč domácího prachu, Per a 7 – šváb, Bla g 7 – rus domácí) [53].

Parvalbuminy patří také mezi vysoce stabilní proteiny odolné tepelnému i enzymatickému trávení. Podílejí se na regulaci koncentrace intracelulárního vápníku. Jsou přítomny ve světlé svalovině jak sladkovodních, tak mořských ryb (např. Cyp c 1 – kapr, Gad c 1 – treska). Ryby s vyšším obsahem tmavé svaloviny jsou méně alergenní (např. Thu a 1 – tuňák, Sco s 1 – makrela) [31].

Zvláštní skupinu nebílkovinných alergenů tvoří oligosacharidové složky glykoproteinů, tzv. zkříženě reagující cukerné determinanty (CCD, „Cross-reactive Carbohydrate Determinants“). Bývají součástí struktury rostlinných glykoproteinů. Laboratorní techniky založené na extrahovaných alergenech nejsou schopny odlišit IgE protilátky proti CCD od ostatních alergenů. Vzhledem k vysoké míře homologie mohou být příčinou falešných pozitivit laboratorního stanovení specifických IgE protilátek proti nativním alergenům (pylů, potravin rostlinného původu a hmyzích jedů) na rozdíl od rekombinantně připravených komponent, které ve své struktuře neobsahují CCD. Obecně je přijímán názor, že CCD struktury nezpůsobují závažné alergické reakce [21].

PREDIKCE RIZIKA ROZVOJE SYSTÉMOVÉ REAKCE NA POTRAVINOVÉ ALERGENY

U řady molekulárně definovaných alergenů je známo, že způsobují závažné projevy alergického zánětu. Nález zvýšené hladiny specifických IgE protilátek proti těmto alergenům umožňuje predikovat riziko závažných klinických projevů včetně anafylaxe. Významnou roli hraje stabilita alergenů vůči tepelné a enzymatické denaturaci.

Z hlediska potravinové alergie můžeme alergeny rozdělit na dvě skupiny (třídy). První třída zahrnuje potravinové alergeny, které jsou vysoce stabilní vůči teplu a odolné enzymatickému trávení. Ty obvykle způsobují závažné systémové reakce. Nejčastějšími zástupci jsou zásobní proteiny ořechů, semen a luštěnin, lipid transfer proteiny potravin rostlinného původu, parvalbuminy ryb a tropomyosiny korýšů a měkkýšů. Závažné systémové reakce vyvolávají i další molekulární komponenty živočišného původu, např. vaječného bílku – ovomukoid (Gal d 1) a kravského mléka – kasein (Bos d 8) [17, 40].

Alergeny druhé třídy mají nižší alergenicitu. Pocházejí z různých zdrojů, nejčastěji rostlinného původu, které zkříženě reagují s potravinovými proteiny ze stejné rodiny (panalergeny). K primární senzibilizaci dochází často inhalační cestou. Vzhledem k nízké odolnosti vůči tepelnému a enzymatickému štěpení jsou projevy těchto alergenů, po kontaktu s dutinou ústní, spojovány především s lokálními projevy (OAS) a výjimečně se systémovými reakcemi. Alergeny druhé třídy obvykle vyvolávají alergické syndromy typu „pollen-food syndrom“ např. syndrom bříza-ovoce-zelenina, syndrom pelyněk-celer-koření, syndrom bříza-jablko-třešň a další [17].

VÝZNAM STANOVENÍ SPECIFICKÝCH IgE PROTILÁTEK PROTI MOLEKULÁRNÍM KOMPONENTÁM PŘÍTOMNÝCH V POTRAVINÁCH V URČENÍ ALERGICKÝCH SPOUŠTĚČŮ

Většina potravinových alergií je vyvolána 8 nejrizikovějšími druhy potravin („big eight food“). Jedná se o sóju, kravské mléko, vejce, arašidy, stromové ořechy, pšenici, ryby a korýše [16]. Určení příčinných spouštěčů v diagnostice alergických stavů je z hlediska dietních opatření pro pacienta klíčové.

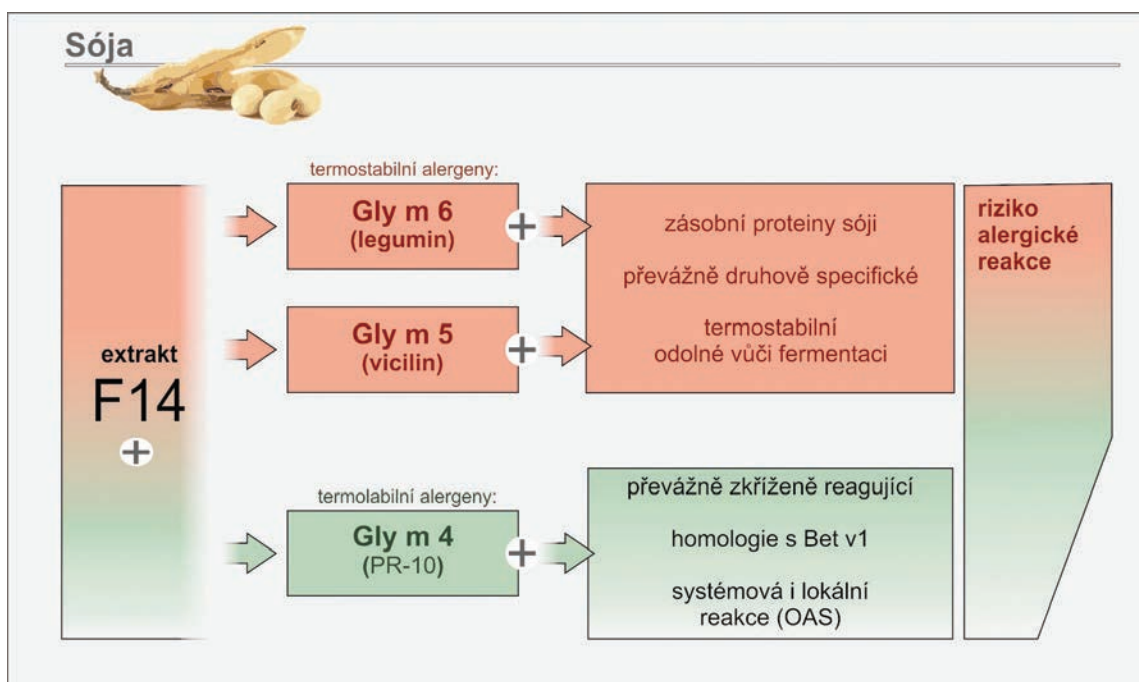
Sója patří mezi nejvýznamnější luštěniny používané v zemích celého světa. Sójové boby se konzumují přímo nebo zpracované v podobě mouky, vloček, sójového mléka, sójového jogurtu, tofu apod. Do celé řady potravin se sójové bílkoviny přidávají z technologických, finančních i nutričních důvodů. Seznam potravin obsahujících v nějaké podobě sójové bílkoviny stále roste. Sója má unikátní nutriční vlastnosti, ale na druhé straně je i zdrojem významných alergenů. Hlavní alergeny jsou Gly m 4, Gly m 5 a Gly m 6 (obr. 1). Klíčový je **Gly m 4**, který patří do velké skupiny PR-10 proteinů. Je to panalergen a vykazuje vysokou homologii s alergenem Bet v 1 břízy. Uvádí se,

že minimálně 80–85 % pacientů reagujících na pyl břízy vykazuje kombinovanou reaktivitu s Gly m 4 [35]. U takovýchto pacientů primárně senzibilizovaných na břízu může dojít, byť velmi vzácně, k závažné klinické reakci po prvním kontaktu se sójou. Senzibilizace panalergenem Gly m 4 je v populaci výrazně častěji zastoupená než primární senzibilizace na další sójové alergeny, která je charakteristická přítomností IgE proti druhově specifickým alergenům **Gly m 5** a **Gly m 6** [29]. Oba jsou poměrně termostabilní a odolné vůči fermentaci. Vyskytují se v sójových omáčkách a sójovém mase, kde je Gly m 4 výrazně méně zastoupen [23, 25].

Přínos vyšetření specifického IgE proti molekulárně definovaným alergenům je možno demonstrovat také na precitlivělosti na složky **kravského mléka**, která patří k významným alergickým vazbám zvláště v dětském věku. Její prevalence se v populaci pohybuje mezi 2–5 %. Stanovení sIgE protilátek proti smíšenému alergenů kravského mléka je používáno v diagnostice tohoto onemocnění již celou řadu let. Je užitečným nástrojem, ale nedokáže odpovědět na některé principiální otázky, které můžeme vyřešit pomocí vyšetření sIgE proti komponentám kravského mléka (obr. 2). Nejvýznamnější alergenní složkou je kasein, v nomenklatuře alergenů označený jako **Bos d 8**. Jedná se o směs alergenů tvořenou čtyřmi frakcemi, $\alpha 1$, $\alpha 2$, β a κ kaseiny. Je rovněž významným alergenem sýrů. Je termostabilní a můžeme se s ním setkat i v tepelně zpracovaných mléčných produktech. Převaření nebo pasterizace mléka pouze redukuje množství kaseinu na cca 50 % původního obsahu. Je zodpovědný za závažné projevy alergie na mléčné výrobky. Vysoké hladiny specifického IgE proti Bos d 8 jsou typické pro alergii na kravské mléko [15]. Další

tři molekulární komponenty kravského mléka (Bos d 4, Bos d 5 a Bos d 6) patří mezi termolabilní bílkoviny, i když snížení jejich alergenicity tepelnou úpravou může záviset kromě teploty a délky tepelné úpravy i na interakcích mezi jednotlivými bílkovinami mléka. **Bos d 4** (α -lactalbumin) je monomerní globulin vázající vápník a zinek, jehož fyziologickou funkcí je regulovat enzym laktóza-syntázu v mléčné žláze. Obdobné riziko alergických komplikací je spojené se senzibilizací na β -lactoglobulin (**Bos d 5**), který tvoří až 50 % proteinů syrovátky. Patří mezi lipokaliny, proteiny transportující malé hydrofobní molekuly, např. tuky, β -karoten. Bos d 5 je částečně termolabilní, ale vykazuje vysokou odolnost vůči hydrolyze a vůči působení proteáz při trávení mléčných bílkovin. To zvyšuje jeho nebezpečnost. Ještě je možno zmínit **Bos d 6** (BSA, hovězí sérový albumin), který je hlavním proteinem krevní plazmy skotu. Je přítomen v hovězím mase i v kravském mléce. Jedná se o termolabilní bílkovinu, tepelně upravené mléko a maso je pro pacienty reagující na tento alergen poměrně bezpečné. Je také citlivý k proteázám během trávení. Bos d 6 je méně významný alergen kravského mléka, nicméně pacienti senzibilizovaní na alergeny hovězího masa mohou reagovat i na mléčné produkty [22].

Slepičí vejce, především bílek, je považován za jeden z nejvýznamnějších zdrojů alergenů pro člověka. Alergie na složky slepičího vejce je velmi častá, zvláště u dětí. Dominantním alergenem vaječného bílku je ovomukoid (**Gal d 1**), jeho obsah je přes 10 %. Je vysoce alergenní a může vyvolat anafylaktické reakce. Jeho nebezpečnost zvyšuje i velká odolnost vůči zahřátí (je stabilní při 100 °C po dobu 1 hodiny), změnám pH a působení proteáz. Vysoké hladiny specifického IgE proti Gal d 1 jsou v dospě-

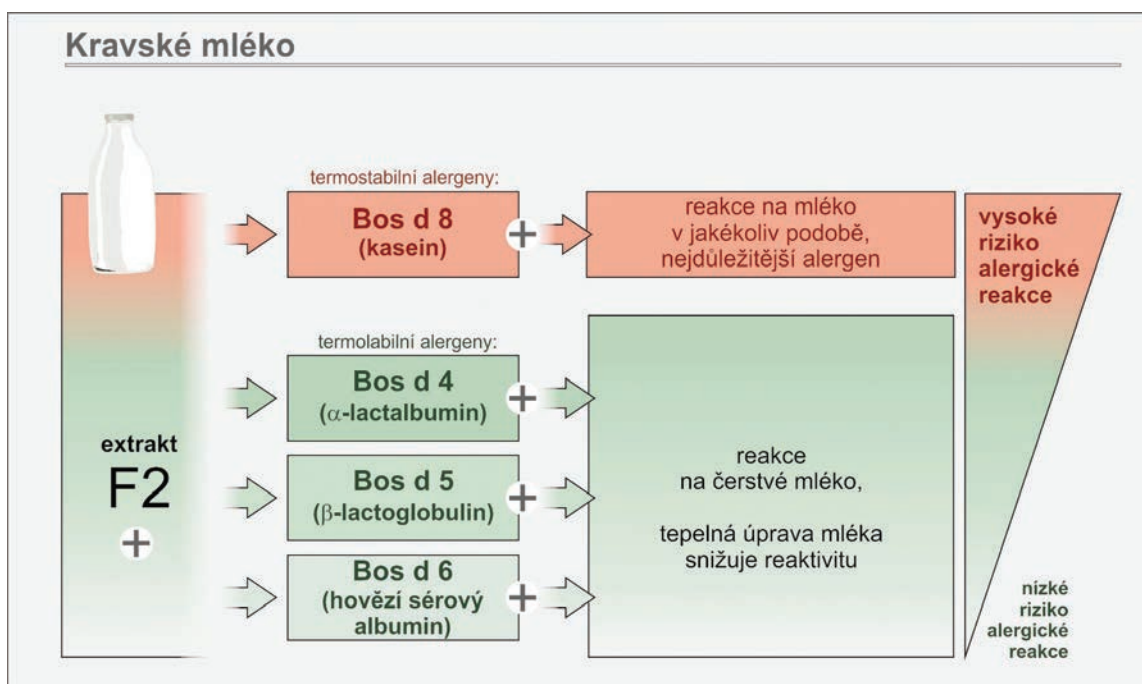


Obr. 1. Vyšetření sIgE protilátek proti vybraným molekulárním komponentám sóji
Predikce rizika alergické reakce.

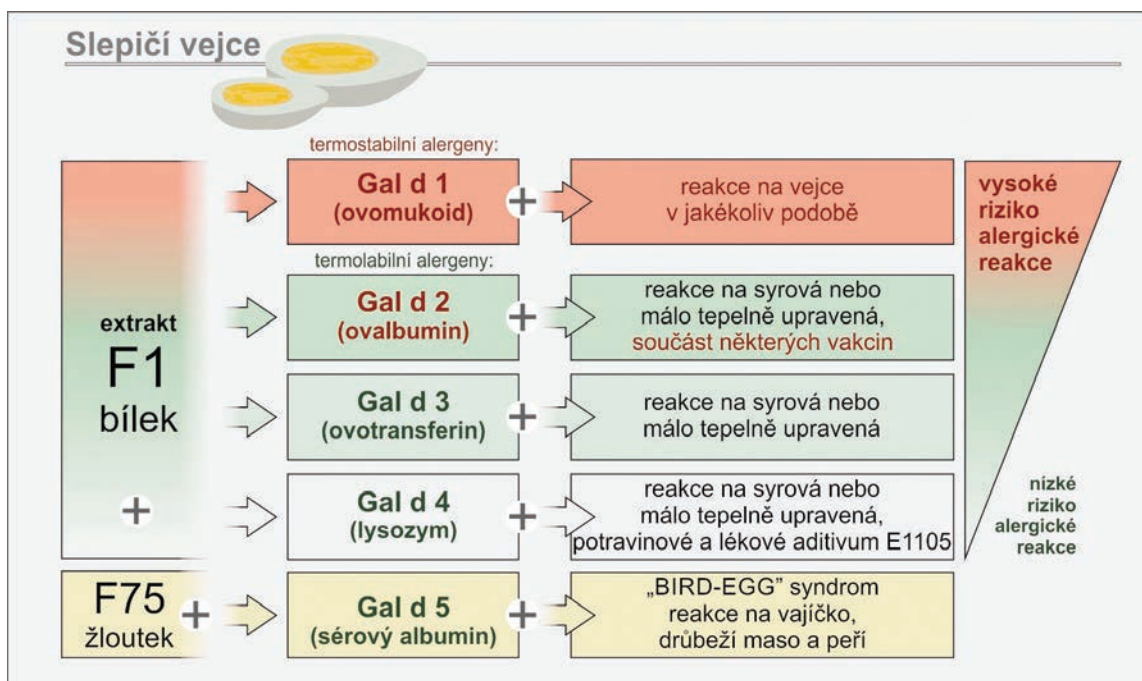
losti považovány za rizikový faktor pro rozvoj těžších forem bronchiálního astmatu [37]. **Gal d 2** (ovalbumin) je nejvíce zastoupený protein vaječného bílku. Jeho obsah dosahuje 50 %. Je méně termostabilní než ovomukoid a také méně odolný vůči změnám pH a proteázám při trávení. Je výrazně alergenní a může být obsažen ve stopových množstvích v mateřském mléce kojících žen po konzumaci slepičích vajec. Může být také stopově přítomen v některých vakcínách připravených na slepičích embryích. **Gal d 4** (lysozym) je poslední z významněj-

ších alergenů vaječného bílku. Závažné reakce na vaječný lysozym jsou spíše výjimkou. Používá se jako aditivum a konzervant (E1105) do některých farmaceutických a potravinářských výrobků, po jejichž požití může vyvolat alergické reakce [4, 37]. Žloutek slepičího vejce obsahuje sérový albumin (**Gal d 5**). Je odpovědný za reaktivitu nazývanou „egg-bird“. Jedná se o alergickou reakci na drůbeží maso, vajíčko a ptačí peří (obr. 3) [48].

Reakce na **stromové ořechy** patří k rizikovým senzibilizacím z hlediska anafylaxe v dospívajícím a dospě-



Obr. 2. Vyšetření sIgE protilátek proti vybraným molekulárním komponentám



Obr. 3. Vyšetření sIgE protilátek proti vybraným molekulárním komponentám slepičích vajec
 Predikce rizika alergické reakce.

lém věku. Může být vyvolána jak po prvním kontaktu s potravinou (orální cestou) senzibilizací zásobními proteiny, například 2S albumin, vicilin (7S globulin) a legumin (11S globulin), tak po předchozí senzibilizaci inhalačními panalergeny ze skupiny profilinů a proteinů s vysokou homologií s alergenem Bet v 1.

Lískové ořechy jsou plody lísky obecné, která patří mezi keře z čeledi břízovitých, podčeleď lískovité. Oříšky jsou konzumovány celosvětově především díky významné nutriční hodnotě. Přestože jsou popisovány značné geografické a věkové rozdíly v závažnosti příznaků, je alergie na lískové ořechy považována za jednu z nejčastějších alergií na ořechy v Evropě [18]. Více než polovinu obsahu oříšku tvoří nenasycené tuky, přibližně 15–20 % cukry a 10–15 % bílkoviny. Dále jsou bohaté na řadu minerálních látek (vápník, hořčík, draslík, fosfor, železo, zinek a měď), vlákninu a vitaminy řady B a E. Jsou hojně využívány v potravinářství a cukrářství, z lískových jader můžeme připravit ořechové máslo, mléko a pastu. Hlavním alergenem lískového ořechu je **Cor a 1**, který patří do rodiny PR-10 (Bet v 1 homologní protein). Byly identifikovány celkem čtyři izoalergeny, kde Cor a 1.01, Cor a 1.02 a Cor a 1.03 nalezneme v lískovém pylu a Cor a 1.04 v lískovém ořechu, který svoji alergenicitu běžnou tepelnou úpravou (pečením či pražením) ztrácí velmi omezeně [50]. Díky úzké zkřížené reaktivitě s hlavním alergenem břízy Bet v 1 patří mezi nejčastější spouštěče příznaků OAS středoevropské populace. V kombinaci se senzibilizací na jarní stromy, ovoce a stromové ořechy hovoříme o tzv. syndromu bříza-jablko-lískový ořech [17]. Výrazně vyšší alergenicitu se závažnými klinickými projevy, včetně anafylaxe, mají druhově specifické termostabilní zásobní alergeny 2S albumin (**Cor a 14**) a 11S globulin (**Cor a 9**) se zvýšeným rizikem senzibilizace dětí školního věku [38]. Pacienti s alergií na lískový oříšek mohou být senzibilizováni i na **Cor a 8** (nsLTP) a **Cor a 11** (7S globulin), které jsou také termostabilní a spojovány s rizikem systémové odpovědi [11, 54].

Vlašské ořechy jsou plody ořešáku královského z čeledi ořešákovité, které se pěstují po celém světě převážně v mírném podnebí [18]. Ořechy jsou výživné a energeticky bohaté, především díky vysokému obsahu polynenasycených mastných kyselin a řady minerálních látek a vitamínů. Využívají se v potravinářském průmyslu, zvláště v pekařství a cukrářství, jako dochucující nebo dekorační prvek. Alergie na vlašské ořechy se u nás často vyskytuje spolu s alergií na lískové ořechy v podobě zkřížené senzibilizace na alergeny s Bet v 1 homologními proteiny, v případě lískového ořechu **Cor a 1** [17] a u vlašského ořechu **Jug r 5**, který byl popsán nedávno [56, 58]. Hlavními alergeny vlašského ořechu jsou **Jug r 1**, **Jug r 2** a **Jug r 3**. Nejvíce zastoupená je komponenta **Jug r 1** (2S albumin), která je vysoce termostabilní a schopná vyvolat závažné systémové reakce. Senzibilizace na **Jug r 1** bývá známkou primární alergie na ořechy [10]. Dále je v menší míře zastoupený **Jug r 3** (nsLTP), který je také termostabilní a může se projevit jak lokální, tak systémovou odpovědí. Riziko zkřížené reaktivity mezi dal-

šími alergeny ovoce a semen z čeledi růžovité (broskev, třešeň, mandle a další) je poměrně vysoké. Zásobní protein **Jug r 2** (7S globulin) je značně termostabilní a po tepelné úpravě (pražení) se jeho alergenicita může ještě zvýšit. Jeho struktura je často glykosylována a pozitivní laboratorní výsledek tak může být ovlivněn zkříženou reaktivitou s CCD. Senzibilizace bývá spojována se závažnými systémovými obtížemi [10, 18].

Podzemnice olejná je luštěnina z čeledi bobovitých, jejímž plodem je lusk obsahující semena (arašídý, burské oříšky). Můžeme je konzumovat v syrové, pražené i smažené podobě. Mají vysokou energetickou hodnotu, obsahují nasycené, mono- a polynenasycené mastné kyseliny, bílkoviny, sacharidy a vitaminy řady B a E. Hojně se využívají v potravinářském průmyslu na přípravu cukrářských produktů a v kosmetice. Arašídý jsou významným potravinovým alergenem a jednou z nejčastějších potravin vyvolávajících anafylaktické reakce, zejména v USA. Ve většině případů se závažné klinické obtíže objeví již po kontaktu s malým množstvím arašídového proteinu nejčastěji při konzumaci, ale i vdechnutím a při styku s kůží [17, 50]. Mezi běžně vyšetřované molekulární komponenty patří Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 6, Ara h 8 a Ara h 9 (45). Hlavními alergeny arašídů jsou především zásobní proteiny semen **Ara h 1** (7S globulin, vicilin), **Ara h 2** (2S albumin, konglutin) a **Ara h 3** (11S globulin, legumin). Jsou odolné vůči vysoké teplotě a proteolytickému štěpení, po požití mohou vyvolat závažné systémové reakce [54]. Jejich alergenicita se může vlivem vysokých teplot zvýšit (pražením). Alergici citliví na arašídý bývají z více než 90 % senzibilizováni právě na Ara h 1 a Ara h 2. Vyšetření specifických IgE protilátek proti Ara h 2 je považováno za laboratorní ukazatel skutečné alergie na arašídý [28, 60]. Senzibilizace na termostabilní molekulu **Ara h 6** (2S albumin), která je z části homologní s Ara h 2, může u některých pacientů predikovat těžké systémové reakce [45, 50]. Alergen **Ara h 8** patří do proteinové rodiny PR-10 proteinů, je termolabilní a snadno podléhá enzymatickému štěpení. Vykazuje zkříženou reaktivitu s dalšími Bet v 1 homologními proteiny. Alergická odpověď se projevuje především lokálně ve formě OAS. Z rozsáhlé rodiny nsLTP přítomné v rostlinách, zelenině, ovoci a luštěninách pochází komponenta **Ara h 9**. Je termostabilní a odolná enzymatickému působení, může vyvolat jak lokální, tak systémové alergické reakce (obr. 4) [17, 45]. U senzibilizace na jednotlivé molekulární komponenty jsou popisovány výrazné geografické rozdíly, například v USA je typická senzibilizace na Ara h 1, Ara h 2 a Ara h 3 a bývá spojována s těžšími příznaky. Ve Španělsku dominuje senzibilizace na Ara h 9, u které k alergické odpovědi na nsLTP arašídů dochází po předchozí senzibilizaci na jiné rostlinné a ovocné nsLTP (broskev, platan, pelyněk a další). Senzibilizace na Ara h 1 a Ara h 3 je častá u států střední a severní Evropy, ale nejvíce zastoupeným bývá Ara h 8, který má vysokou homologii s Bet v 1 proteinem břízy a v případě klinické manifestace je spojován s mírnějšími příznaky orálně alerického syndromu (OAS). U pacientů alergických na pyl břízy se mohou vyskyt-

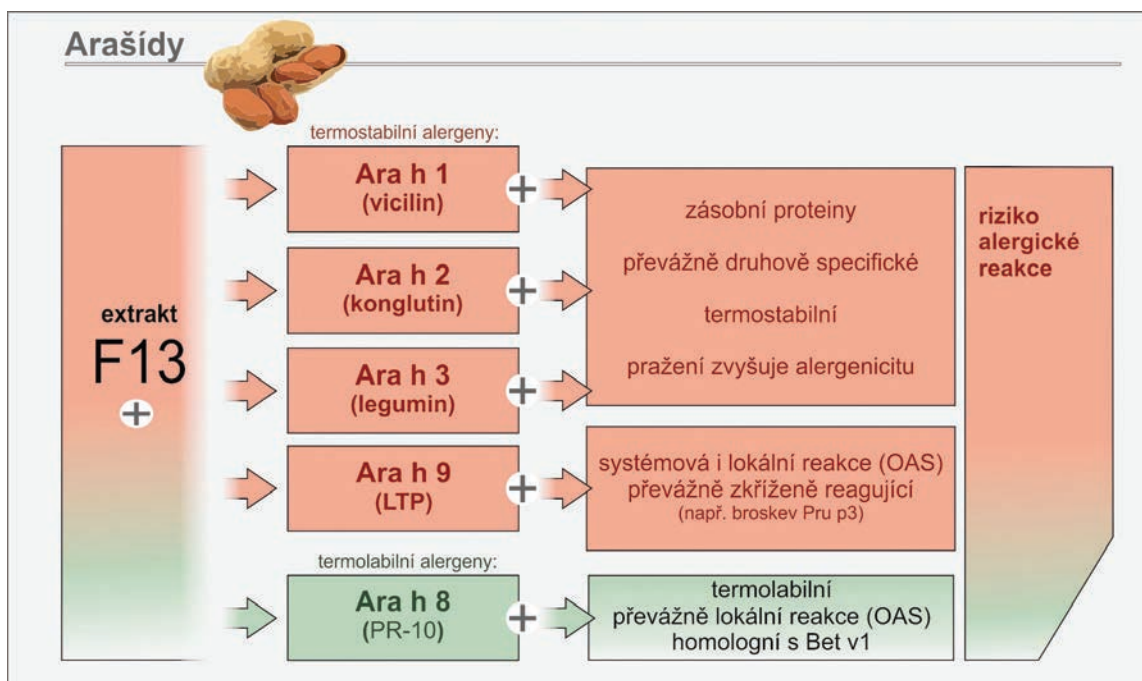
nout, ale velmi vzácně, i systémové reakce vyvolané Ara h 8 po požití arašídů [17]. Vzhledem k vysokému riziku anafylaktické reakce po kontaktu s arašídů byl americkým úřadem pro kontrolu potravin a léčiv FDA (Food and Drug Administration), recentně schválen komerčně dostupný terapeutický alergen v léčbě potravinové alergie. Jedná se vůbec o první a jedinou alergenovou imunoterapii v řešení potravinových alergií. Preparát je určen k navození tolerance na alergeny arašídů a je indikován ve věku 4–17 let [13].

Alergie na **ryby, měkkýše a korýše** patří mezi kliniky závažná onemocnění s vysokým rizikem anafylaktických reakcí. Ryby jako strunatci jsou fylogeneticky výrazně odlišné od měkkýšů i korýšů. Alergie na **ryby** postihuje méně než jedno procento populace, přičemž počet senzibilizovaných pacientů může být výrazně vyšší podle potravních návyků v různých geografických oblastech [53]. Přímořské státy s vysokou konzumací ryb a rybolovem mají vyšší prevalenci alergických reakcí na ryby. Základními a nejvýznamnějšími alergeny ryb jsou parvalbuminy. Jsou součástí svaloviny a jsou odpovědné za vazbu vápníkových iontů. Jsou termostabilní a udržují si svou alergenicitu i v kyselém prostředí a po pepsinolýze. Parvalbuminy jsou v rybách lokalizovány především v bílé svalovině, která je odpovědná za rychlé pohyby ryb. Naproti tomu tmavá svalovina využívaná k vytrvalému pohybu je na parvalbuminy chudší. Z hlediska složení rozlišujeme α -parvalbuminy, které jsou méně alergenní a vyskytují se u jiných obratlovců než ryb, a vysoce alergenní acidické rybí β -parvalbuminy. Parvalbuminy z různých druhů ryb vykazují výraznou zkříženou reaktivitu. Běžně se můžeme u nás setkat s parvalbuminy **Clu h 1**

ze sledě obecného, **Cyp c 1** z kapra, **Gad m 1** z tresky, **Onc m 1** ze pstruha, **Sal s 1** z lososa, **Thu a 1** z tuňáka a dalšími. Neméně významnými alergeny jsou beta-enolázy, které se vyskytují v mnoha druzích ryb. Mezi beta-enolázy patří **Gad m 2** tresky, **Sal s 2** lososa a **Thu a 2** tuňáka. Zvýšené hladiny specifických IgE protilátek proti beta-enolázám se vyskytují u poloviny pacientů s alergií na ryby. Výběr významných rybích alergenů doplňují aldolázy A zastoupené alergeny **Gad m 3** tresky, **Sal s 3** lososa a **Thu a 3** tuňáka [31].

Některé reakce na požití ryb mohou být způsobeny alergií na parazitického helminta *Anisakis simplex*, jímž je nakaženo až tři čtvrtiny mořských ryb žijících v hejnech. *Anisakis* obsahuje více alergenů, ale nejdůležitější z nich je tropomyosin **Ani s 3** zkříženě reagující s měkkýši, korýši a členovci včetně roztočů [31].

Podstatně komplikovanější je situace u **měkkýšů a korýšů**, kde bylo popsáno několik desítek molekulárně definovaných alergenů. Nejdůležitější z nich jsou tropomyosiny, panalergeny, jejichž struktura je vysoce konzervována napříč bezobratlými a slouží ke svalové kontrakci. Jsou vysoce termostabilní a přečkají většinu tepelných úprav korýšů a měkkýšů. Jsou také dobře rozpustné a mohou kontaminovat potraviny zpracovávané spolu s těmito bezobratlými živočichy. Tropomyosinů je odlišeno mnoho. Jako příklady můžeme uvést **Pen m 1** krevety nebo **Hom a 1** humra. Tropomyosiny korýšů a měkkýšů sdílejí shodné epitopy s alergeny roztočů a hmyzu. Zkřížená reaktivita byla popsána mezi tropomyosiny **Pen m 1** krevety, **Per a 7** švába, **Der p 10** a **Der f 10** roztočů. Kromě tropomyosinů korýši a měkkýši obsahují tepelně labilní arginin kinázy (**Pen m 2** krevet), lehký řetězec myosinu (**Hom a 3** humra) a sarkoplazmatický



Obr. 4. Vyšetření sIgE protilátek proti vybraným molekulárním komponentám arašídů
 Predikce rizika alergické reakce.

vápník vázající protein (**Pen m 4** krevet) [34]. Užití alergenových extraktů v laboratorní diagnostice, díky výrazné zkřížené reaktivitě a velké druhové rozmanitosti těchto živočichů, může vést k nesprávným klinickým interpretacím. Zde se otevírá cesta k využití molekulárně definovaných alergenů a CRD diagnostice, která může tyto problémy zmírnit nebo odstranit [33].

Výrazný posun v chápání imunopatogenze, epidemiologie a klinických projevů alergických i nealergických reakcí na bílkoviny **pšenice seté** *Triticum aestivum* přineslo detailní poznání alergenního spektra této obiloviny [9]. Do mezinárodní nomenklatury bylo zařazeno 28 molekulárně definovaných alergenů pšenice [58]. Teprve použití CRD diagnostiky umožní lékařům orientovat se v této složité situaci a správně odhadnout cestu expozice i riziko závažnosti alergického zánětu [52]. Pšenice patří k nejdéle domestikovaným plodinám a spolu s rýží a kukuřicí je nejvíce pěstovanou kulturní rostlinou na Zemi. Bílkovina získaná z této obiloviny je součástí nepřehledné škály pokrmů a potravin. Proteiny představují cca 10–15 % sušiny zrna. Nejčastěji jsou tříděny podle své extrahovatelnosti (rozpuštěnosti) v solných roztocích na solubilní albuminy a globuliny, které se podílejí zhruba 15–20 %, a na nerozpustné prolaminy, označované též souborným názvem lepek (gluten). Prolaminy pšenice můžeme rozdělit na gliadiny (monomery) a gluteniny (polymery). Představují hlavní zásobní proteiny zrna a díky nim je možné využívat pšeničnou mouku k pečení. Mezi zásobními proteiny pšenice můžeme najít velmi významné alergeny. Patří k nim zejména gliadiny, a to tepelně stabilní ω -5-gliadin, nesoucí mezinárodní označení **Tri a 19**, dále pak termolabilní α - β -gliadin (**Tri a 21**) a γ -gliadin **Tri a 20** [39]. **Tri a 19** (ω -5-gliadin) je odpovědný za celou řadu alergických projevů včetně závažných systémových reakcí. Tento alergen se také vyznačuje výraznou zkříženou reaktivitou s jinými prolaminami obsaženými v dalších cereáliích, zejména se sekalinou žita a hordeiny ječmene [44]. Specifickou podobou alergie na bílkoviny pšenice je WDEIA („Wheat-Dependent Exercise-Induced Anaphylaxis“, anafylaxe na pšeničnici vyvolaná fyzickou aktivitou) spouštěná fyzickou námahou spojenou s konzumací potravin obsahujících větší množství pšeničných bílkovin. K typickým spouštěcím alergenům tohoto onemocnění řadíme právě **Tri a 19**. Rovněž pekařské astma, jako typická choroba spojená s profesionální expozicí prachu při manipulaci s moukou a dalšími sypanými pšeničnými surovinami, je vyvoláno zásobními bílkovinami [9]. Kromě gliadinů obsahuje pšenice také gluteniny [39]. Patofyziologicky zcela odlišné je imunopatologické onemocnění celiakie, ve kterém nesehrává úlohu IgE zprostředkovaný zánět.

Z alergenů obsažených v rozpustné frakci bílkovin pšeničného zrna můžeme uvést v první řadě skupinu α amylázových inhibitorů. Patří k nim zejména **Tri a 28**, **Tri a 29**, ale také **Tri a 15**. Tyto alergeny se do organismu dostávají převážně respirační cestou, jsou odpovědné za vznik alergických exacerbací astmatu a za závažné až anafylaktické reakce. Jsou termostabilní a vysoce odolné

vůči působení proteáz. Navíc bylo zjištěno, že tato skupina proteinů z pšenice je schopna aktivovat mechanismy vrozené imunity a stimulovat produkci prozánětlivých cytokinů v zažívacím traktu. To může vést k infiltraci střevní sliznice imunitními buňkami a k zánětu. Tento mechanismus by mohl být jednou z příčin neceliakální glutenové senzitivity (NCGS – Non-Celiac Gluten Sensitivity) [47].

Pšenice obsahuje také alergeny ze skupiny nsLTP, jako je **Tri a 14**, nebo ze skupiny profilinů (**Tri a 12**). Obě skupiny mohou vyvolávat klinické komplikace. Byla identifikována celá řada dalších molekulárně definovaných alergenů pšenice, pro které se klinické korelace stále hledají [39].

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA S VYUŽITÍM MULTIPLEXOVÝCH METOD MOLEKULÁRNÍCH KOMPONENT

Dosavadní diagnostické testy alergických onemocnění, jako je „skin prick“ test nebo „prick to prick“ test s nativní potravinou, expoziční testy, *in-vitro* stanovení specifických IgE protilátek nebo funkční test aktivace bazofilů (bazotest), jsou založené na alergenech získaných z přirozených zdrojů. Každý takový zdroj je velmi komplexní směs alergenních i nealergenních bílkovin. Některé složky jsou druhově specifické, jiné zkříženě reagující, některé vyvolávají závažné klinické komplikace, jiné ne. Diagnostika založená na směsných extraktech na tyto otázky není schopna odpovědět [30, 42].

Zásadní přínos proto má CRD diagnostika založená na molekulárně definovaných alergenech. V současnosti je k dispozici mnoho desítek molekulárních komponent využitelných v *in-vitro* testech. V případě pacientů se závažnými klinickými projevy, nejasnou anamnézou nebo rozporuplnými výsledky jiných testů můžeme použít multiplexní metodu, která je schopná současně vyhodnotit hladiny IgE protilátek proti celému spektru molekulárních komponent. V současné době jsou pro klinické využití dostupné dvě multiplexní metody. První z nich je ImmunoCAP ISAC („Immuno Solid-Phase Allergen Chip“) od firmy Phadia, využívající technologii biočipu (microarray), na kterém jsou na skleněné podložce ukotveny molekulární komponenty. Oproti tomu druhý systém ALEX („Allergy Explorer“) od firmy Macro-Array Diagnostics využívá molekulárních komponent navázaných přes nanočástice na pevnou fázi, membránu.

ISAC (Phadia AB, Uppsala, Švédsko) je semikvantitativní multiplexová metoda zaměřená na stanovení specifického IgE proti molekulárně definovaným alergenům z více než 50 zdrojů alergenů [41]. Reakce probíhá na skleněné destičce (biočipu), na které je ukotveno 112 komponent v triplikátech (70 rekombinantních, 42 nativních) [26, 36]. Biočip je inkubován s vyšetřovaným krevním sérem nebo plazmou a po promytí jsou navázané specifické IgE protilátky detekovány přidáním fluorescenčně značené sekundární protilátky proti lid-

skému IgE. Intenzita fluorescence je snímána mikročipovým laserovým skenerem a analyzována speciálním počítačovým softwarem, který kvantifikuje fluorescenční signál jednotlivých molekulárních komponent [24, 59]. Výsledky jsou vyjádřeny v arbitrárních jednotkách zvaných standardizované jednotky ISAC pro specifické IgE (ISU-E). Měřicí rozsah metody je udáván od 0 do 100 ISU-E. Výsledky větší než 0,3 ISU-E jsou považovány za pozitivní. Naměřené hladiny sIgE lze vyjádřit 4 semikvantitativními třídami: < 0,3 ISU-E negativní, 0,3 > 0,9 ISU-E nízká pozitivita, 0,9 > 15 ISU-E střední pozitivita, ≥ 15 ISU-E vysoká pozitivita [12].

Alternativou k metodě ISAC je systém ALEX (Macro-Array Diagnostics, Vídeň, Rakousko), multiplexní test určený pro imunoanalýzu na pevné fázi. Metoda umožňuje simultánní stanovení celkového IgE (semikvantitativně) a specifického IgE (kvantitativně) již proti 296 (ALEX2) různým molekulárním komponentám nebo extraktům v lidském séru nebo plazmě. Extrakty alergenů a molekulární komponenty jsou navázány na nanočástice, které jsou systematicky naneseny v podobě spotů na pevnou fázi testovací kazety [20]. Před zahájením reakce jsou vzorky ředěny inhibičním roztokem, který blokuje zkříženě reagující cukerné determinanty (CCD). V prvním kroku reakce dochází k vytvoření vazby mezi alergenem imobilizovaným na nanočásticích a specifickým IgE z vyšetřovaného vzorku. Následně dojde k vymytí nespecifického IgE a přidání enzymaticky značené detekční protilátky proti lidskému IgE a vytvoření imunokomplexu. Po druhém promytí je přidán substrát, který je enzymem vázajícím protilátku přeměněn na barevný nerozpustný precipitát. Následná reakce je zastavena blokovacím činidlem. Množství precipitátu je úměrné koncentraci specifického IgE ve vzorku pacienta. Po provedené analýze následuje vyhodnocení pomocí zařízení MADx ImageXplorer. Výsledky jsou analyzovány specifickým softwarem Raptor MADx. Měřicí rozsah metody je udáván pro specifické IgE 0,1–50 kUA/l a pro celkové IgE 1–2 500 kU/l. Výsledky větší než 0,3 kUA/l jsou považovány za pozitivní [5].

Multiplexová metoda je vhodná u nejasných nálezů a výsledků vyšetření, u neshod mezi výsledky získanými základními přístupy, pro možné zachycení neočekávaných alergenních specifit a také pro zhodnocení senzibilizačního profilu pacienta. Použitím této metody lze získat v jednom kroku podrobný profil pacienta vyjádřený pomocí molekulárně definovaných cílů, což při hodnocení vyžaduje na straně lékaře nemalou míru erudice a detailních znalostí o jednotlivých alergenech. O indikacích multiplexových vyšetření u pacientů s AD je v odborném tisku velice málo informací. V současné době se na našem pracovišti ve spolupráci s Klinikou nemocí kožních a pohlavních FN Hradec Králové zabýváme analýzou senzibilizace na molekulárně definované alergeny u pacientů s atopickou dermatitidou. Specifické IgE protilátky jsou měřeny multiplexní metodou ImmunoCAP ISAC. V dřívějších publikacích jsme se zabývali vzájemnými vztahy mezi senzibilizací na arašidy, vlaš-

ské a lískové ořechy a senzibilizací na plísně *Alternaria* a *Cladosporium* u pacientů s AD [6, 7, 8].

ZÁVĚR

Onemocnění, v jejichž patogenезi se uplatňuje alergický zánět, jsou celosvětově závažným problémem. Nedílnou součástí péče je u těchto chorob přesná a spolehlivá diagnostika. Základem je klinické vyšetření doplněné kožními testy k určení příčinného alergenu. Podle situace může být vyšetření obohaceno ještě o expozičně provokační testy. Kromě toho má lékař pečující o pacienty s alergickými chorobami k dispozici i možnosti laboratorních vyšetření. Mezi nimi je nejpoužívanější stanovení specifických IgE protilátek proti vyvolávajícím alergenům. Standardně jsou pro tyto testy používané alergenní extrakty, které mají ale celou řadu omezení. Tento problém řeší CRD diagnostika založená na využití molekulárně definovaných alergenů. K nesporným výhodám CRD patří přesné určení cílů IgE protilátek pacienta, rozlišení druhově specifických a zkříženě reagujících alergenů, posouzení rizika závažnosti klinických projevů a v neposlední řadě přesné určení vyvolávajícího alergenu v případě nasazení specifické alergenové imunoterapie. Celkový pohled na senzibilizaci pacienta je možné získat použitím multiplexových metod, kde vyšetřujeme celé spektrum IgE protilátek namířených proti desítkám až stovkám alergenů. Multiplexové metody si již našly své místo v diagnostice respiračních a potravinových alergií, ale dosud je velmi málo informací o využití molekulárních komponent a zejména multiplexových metod u pacientů s atopickou dermatitidou.

LITERATURA

1. AALBERSE, R. C. Structural biology of allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2000, 106(2), p. 228–238.
2. ASERO, R., PRAVETTONI, V. Anaphylaxis to plant-foods and pollen allergens in patients with lipid transfer protein syndrome. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 2013, 13(4), p. 379–385.
3. BALLMER-WEBER, B. K., LIDHOLM, J., LANGE, L. et al. Allergen Recognition Patterns in Walnut Allergy Are Age Dependent and Correlate with the Severity of Allergic Reactions. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 2019, 7(5), p. 1560–1567.
4. BENHAMOU, A. H., ZAMORA, S. A., EIGENMANN, P. A. Correlation between specific immunoglobulin E levels and the severity of reactions in egg allergic patients. *Pediatric Allergy and Immunology*, 2008, 19, p. 173–179.
5. BOJČUKOVA, J., VLAS, T., FORSTENLECHNER, P., PANZNER, P. Comparison of two multiplex

- arrays in the diagnostics of allergy. *Clinical and Translational Allergy*, 2019, 9(31), p. 1–6.
6. ČELAKOVSKÁ, J., BUKAČ, J., VAŇKOVÁ, R., KRČMOVÁ, I., KREJSEK, J., ANDRÝS, C. Sensitisation to molecular allergens of *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus* in atopic dermatitis patients. *Food and Agricultural Immunology*, 2019, 30(1), p. 1097–1111.
 7. CELAKOVSKA, J., BUKAC, J., ETTLER, K., VANECKOVA, J., ETTLEROVA, K., KREJSEK, J. Sensitisation to outdoor and indoor fungi in atopic dermatitis patients and the relation to the occurrence of food allergy to peanuts and walnuts. *Mycoses*, 2018, 61(9), p. 698–703.
 8. CELAKOVSKA, J., BUKAC, J., ETTLER, K., VANECKOVA, J., KRČMOVA, I., ETTLEROVA, K. Sensitisation to fungi in atopic dermatitis patients over 14 years of age and the relation to the occurrence of food hypersensitivity reactions. *Mycoses*, 2018, 61(2), p. 88–95.
 9. CIANFERONI, A. Wheat Allergy: diagnosis and management. *Journal of Asthma and Allergy*, 2016, 29(9), p. 13–25.
 10. COSTA, J., CARRAPATOSO, I., OLIVEIRA, M. B. P. P., MAFRA, I. Walnut allergens: molecular characterization, detection and clinical relevance. *Clinical and Experimental Allergy*, 2014, 44(3), p. 319–341.
 11. DATEMA, M. R., VAN REE, R., ASERO, R. et al. Component-resolved diagnosis and beyond: Multivariable regression models to predict severity of hazelnut allergy. *Allergy*, 2018, 73(3), p. 549–559.
 12. DODIG, S., ČEPELAK, I. The potential of component-resolved diagnosis in laboratory diagnostics of allergy. *Biochemia Medica*, 2018, 28(2), p. 1–9.
 13. FDA Approves Aimmune's PALFORZIA™ as First Treatment for Peanut Allergy. *Aimmune therapeutics* [online]. Aimmune Therapeutics, ©2019 [cit. 2020-03-02]. Dostupné na [www: http://ir.aimmune.com/news-releases/news-release-details/fda-approves-aimmunes-palforziatm-first-treatment-peanut-allergy](http://ir.aimmune.com/news-releases/news-release-details/fda-approves-aimmunes-palforziatm-first-treatment-peanut-allergy).
 14. FERNÁNDEZ-RIVAS, M. Fruit and Vegetable Allergy. *Chemical Immunology and Allergy*, 2015, 101, p. 162–170.
 15. FIOCCHI, A., BOUYGUE, G. R., ALBARINI, M., RESTANI, P. Molecular diagnosis of cow's milk allergy. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 2011, 11(3), p. 216–221.
 16. FLORES, K. J., MCCLEARY, N., NWARU, B., STODDART, A., SHEIKH, A. Diagnostic accuracy, risk assessment, and cost-effectiveness of component-resolved diagnostics for food allergy: A systematic review. *Allergy*, 2018, 73(8), p. 1609–1621.
 17. FUCHS, M. *Potravinová alergie a intolerance*. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3757-0.
 18. GEISELHART, S., HOFFMANN-SOMMERGRUBER, K., BUBLIN, M. Tree nut allergens. *Molecular Immunology*, 2018, 100, p. 71–81.
 19. HAGE, M., HAMSTEN, C., VALENTA, R. ImmunoCAP assays: Pros and cons in allergology. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2017, 140(4), p. 974–977.
 20. HEFFLER, E., PUGGIONI, F., PEVERI, S., MONTAGNI, M., CANONICA, G. W., MELIOLI, G. Extended IgE profile based on an allergen macroarray: a novel tool for precision medicine in allergy diagnosis. *World Allergy Organization Journal*, 2018, 11(1), p. 1–7.
 21. HEMMER, W., ALTMANN, F., HOLZWEBER, F., GRUBER, C., WANTKE, F., WÖHRL, S. ImmunoCAP cellulose displays cross-reactive carbohydrate determinant (CCD) epitopes and can cause false-positive test results in patients with high anti-CCD IgE antibody levels. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2018, 141(1), p. 372–381.
 22. HOCHWALLNER, H., SCHULMEISTER, U., SWOBODA, I., SPITZAUER S., VALEMTA, R. Cow's milk allergy: From allergens to new forms of diagnosis, therapy and prevention. *Methods*, 2014, 66(1), p. 22–33.
 23. HOLZHAUSER, T., WACKERMANN, O., BALLMER-WEBER, B.K., BINDSLEV-JENSEN, C., SCIBILIA, J., PERONO-GAROFFO, L., UTSUMI, S., POULSEN, L. K., VIETHS, S. Soybean (Glycine max) allergy in Europe: Gly m 5 (b-conglycinin) and Gly m 6 (glycinin) are potential diagnostic markers for severe allergic reactions to soy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2009, 123(2), p. 452–458.
 24. CHOI, J., ROH, J., LEE, J. Clinical Availability of Component-Resolved Diagnosis Using Microarray Technology in Atopic Dermatitis. *Annals of Dermatology*, 2014, 26(4), p. 437–446.
 25. ITO, K., SJÖLANDER, S., SATO, S., MOVERARE, R., TANAKA, A., SÖDERSTRÖM, L., BORRES, M., POORAFSHAR, M., EBISAWA, M. IgE to Gly m 5 and Gly m 6 is associated with severe allergic reactions to soybean in Japanese children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2011, 128(3), p. 673–675.
 26. JAKOB, T., FORSTENLECHNER, P., MATRICARDI, P., KLEINE-TEBBE, J. Molecular allergy diagnostics using multiplex assays: methodological and practical considerations for use in research and clinical routine. *Allergo Journal International*, 2015, 24, p. 320–332.
 27. JOHANSSON, S, HOURIHANE, J., BOUSQUET, J. et al. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2001, 56, p. 13–24.
 28. KLEMANS, R. J. B., DIANNE, O., KNOL, M. et al. The diagnostic value of specific IgE to Ara h 2 to predict peanut allergy in children is comparab-

- le to a validated and updated diagnostic prediction model. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2013, 131, p.157–163.
29. KLEMANS, R. J., KNOL, E. F., MICHELSEN-HUISMAN, A., PASMANS, S. G., KRUIJF-BROEKMAN, W., BRUIJNZEEL-KOOMEN, C. A., HOFFEN, E., KNULST, A. C. Components in soy allergy diagnostics: Gly m 2S albumin has the best diagnostic value in adults. *Allergy*, 2013, 68(11), p. 1396–1402.
 30. KREJSEK, J., ANDRÝS, C., KRČMOVÁ, I. *Imunologie člověka*. Hradec Králové: Garamon, 2016, s. 213–222. ISBN 978-80-86472-74-4.
 31. KUEHN, A., SWOBODA, I., ARUMUGAM, K., HILGER, C., HENTGES, F. Fish allergens at a glance: variable allergenicity of parvalbumins, the major fish allergens. *Frontiers in Immunology*, 2014, 5(179), p. 1–8.
 32. LEUNG, D., BIEBER, T. Atopic dermatitis. *Lancet*, 2003, 361, p. 151–160.
 33. LOPATA, A. L., ANDREAS, L., KAMATH, S. Shellfish allergy diagnosis – gaps and needs. *Current Allergy and Clinical Immunology*, 2012, 25(2), p. 60–66.
 34. LOPATA, A. L., KLEINE-TEBBE, J., KAMATH, S. D. Allergens and molecular diagnostics of shellfish allergy: Part 22 of the Series Molecular Allergology. *Allegro Journal International*, 2016, 25(7), p. 210–218.
 35. MARI, A., WALLNER, M., FERREIRA, F. Fagales pollen sensitization in a birch-free area: a respiratory cohort survey using Fagales pollen extracts and birch recombinant allergens (rBet v 1, rBet v 2, rBet v 4). *Clinical and Experimental Allergy*, 2003, 33(10), p. 1419–1428.
 36. MARTÍNEZ-ARANGUREN, R., LIZASO, M., GOIKOETXEA, M., GARCÍA, B., CABRERA-FREITAG, P., TRELLEZ, O., SANZ, M. Is the determination of specific IgE against components using ISAC 112 a reproducible technique? *PLOS One*, 2014, 9(2), p. 1–7.
 37. MARTORELL, A., ALONSO, E., BONÉ, J., ECHEVERRÍA, L., LÓPEZ, M. C., MARTÍN, F., NEVOT, S., PLAZA, A. M. Position document: IgE-mediated allergy to egg protein. *Allergologia et Immunopathologia*, 2013, 41(5), p. 320–336.
 38. MASTHOFF, L. J., MATTSSON, L., ZUIDMEER-JONGEJAN, L. et al. Sensitization to Cor a 9 and Cor a 14 is highly specific for a hazelnut allergy with objective symptoms in Dutch children and adults. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2013, 132(2), p. 393–399.
 39. MATRICARDI, P. M., KLEINE-TEBBE, J., HOFFMANN, H. J. et al. EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatric Allergy and Immunology*, 2016, 27, p. 213–223.
 40. MATRICARDI, P. M., KLEINE-TEBBE, J., HOFFMANN, H. J. et al. EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatric Allergy and Immunology*, 2016, 27, p. 337–344.
 41. MELIOLI, G., BONIFAZI, F., BONINI, S., MAGGI, E., MUSSAP, M., PASSALACQUA, G., ROSSI, E., VACCA, A., CANONICA, G. The ImmunoCAP ISAC molecular allergology approach in adult multi-sensitized Italian patients with respiratory symptoms. *Clinical Biochemistry*, 2011, 44, p. 1005–1011.
 42. MOTHESS-LUKSCH, N., JORDAKIEVA, G., HINTERHÖLZL, L., JENSEN, A. N., HALLMANN, P. K., KUNDI, M., JENSEN-JAROLIM, E. Allergy diagnosis from symptoms to molecules, or from molecules to symptoms: a comparative clinical study. *World Allergy Organization Journal*, 2018, 11(1), p. 1–11.
 43. OTT, H., BARON, J. M., HEISE, R., OCKLENBURG, C. et al. Clinical usefulness of microarray-based IgE detection in children with suspected food allergy. *Allergy*, 2008, 63(11), p. 1521–1528.
 44. PAHR, S., CONSTANTIN, C., MARI, A., SCHEIBLHOFER, S., THALHAMER, J., EBNER, C., VRTALA, S., MITTERMANN, I., VALENTA, R. Molecular characterization of wheat allergens specifically recognized by patients suffering from wheat-induced respiratory allergy. *Clinical and Experimental Allergy*, 2012, 42(4), p. 597–609.
 45. PALLADINO, C., BREITENEDER, H. Peanut allergens. *Molecular Immunology*, 2018, 100, p. 58–70.
 46. POMÉS, A., DAVIES, J. M., GADERMAIER, G. et al. WHO/IUIS Allergen Nomenclature: Providing a common language. *Molecular Immunology*, 2018, 100, p. 3–13.
 47. PROCHÁZKOVÁ, V., SÁNCHEZ, D., ŠTĚPÁNOVÁ HONZOVÁ, S., HOSPODKOVÁ, M., HOFFMANOVÁ, I. Neglutenové proteiny pšeničného zrna v imunopatogenezi onemocnění zažívacího traktu. *Alergie*, 2018, 20(3), p. 156–161.
 48. QUIRCE, S., MARYNIN, F., UMPIERREZ, A. et al. Chicken serum albumin (Gal d 5*) is a partially heat-labile inhalant and food allergen implicated in the bird-egg syndrome. *Allergy*, 2001, 56, p. 754–762.
 49. RADAUER, C., NANDY, A., FERREIRA, F., GOODMAN, R. E., LARSEN, J. N., LIDHOLM, J., POMES, A., RAULF-HEIMSOTH, M., ROZYNEK, P., THOMAS, W. R., BREITENEDER, H. Update of the WHO/IUIS allergen nomenclature database based on analysis of allergen sequences. *Allergy*, 2014, 69, p. 413–419.
 50. RAJAMOHAMED, S. H., BOYE, J. I. Processing foods without peanuts and tree nuts. *Allergen Management in the Food Industry*, 2010, 11, p. 289–331.
 51. RÖCKMANN, H., GEEL, M. J., KNULST, A. C., HUISKES, J., BRUIJNZEEL-KOOMEN, C., BRUINWELLER, M. S. Food allergen sensitization pattern in adults in relation to severity of atopic dermatitis. *Clinical and Translational Allergy*, 2014, 4(1), p. 1–9.
 52. SAMASCA, G., SUR, G., IANCU, M., LUPAN, I., DELEANU, D. Current trends and investigative de-

- velopments in wheat allergy. *International Reviews of Immunology*, 2015, 34, 538–541.
53. TONG, W. S., YUEN, A. W. T., WAI, CH. Y. Y., LEUNG, N. Y. H., CHU, K. H., LEUNG, P. S. C. Diagnosis of fish and shellfish allergies. *Journal of Asthma and Allergy*, 2018, 11, p. 247–260.
 54. TREUDLER, R., SIMON, J. C. Overview of Component Resolved Diagnostics. *Current Allergy and Asthma Reports*, 2013, 13, p. 110–117.
 55. VALENTA, R., TWAROCH, T., SWOBODA, I. Component-Resolved Diagnosis to Optimize Allergen-Specific Immunotherapy in the Mediterranean Area. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 2007, 17(1), p. 88–92.
 56. WANGORSCH, A., JAMIN, A., LIDHOLM, J., GRÄNI, N., LANG, C., BALLMER-WEBER, B., VIETHS, S., SCHEURER, S. Identification and implication of an allergenic PR-10 protein from walnut in birch pollen associated walnut allergy. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2017, 61, p. 1–9.
 57. WEBER, R. Cross-reactivity of pollen allergens: impact on allergen immunotherapy. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, 2007, 99(3), p. 203–212.
 58. WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee. Allergen Nomenclature. *Allergen.org* [online]. [cit. 2019-11-20]. Dostupné na [www: http://www.allergen.org/](http://www.allergen.org/)
 59. WOJCIECHOWSKA, M., ŻBIKOWSKA-GOTZ, M., MAREK-JÓZEFOWICZ, L., PRZYBYSZEWSKI, M., GOCKI, J., BARTUZI, Z. Allergic phenotypes in adult patients with atopic dermatitis, determined with the ISAC test (ImmunoCAP ISAC). *Advances in Dermatology and Allergology*, 2018, 35(4), p. 351–359.
 60. WOLTHERS, O. D. Component-Resolved Diagnosis in Pediatrics. *ISRN Pediatrics*, 2012, p. 1–6.

Poděkování

Práce byla podpořena programem PROGRES Q40/10. Autoři děkují paní Haně Kotlandové za grafické zpracování obrazové dokumentace.

Prohlášení o střetu zájmů

Autor v souvislosti s tématem práce v posledních 12 měsících nespolečoval s žádnou farmaceutickou firmou.

Do redakce došlo dne 30. 4. 2020.

Adresa pro korespondenci:
 doc. MUDr. Jarmila Čelakovská, Ph.D.
 Klinika nemocí kožních a pohlavních
 UK a FN Hradec Králové
 Sokolská 581
 500 03 Hradec Králové
 e-mail: jarmila.celakovska@seznam.cz



Dermatologický univerzitní nadační fond podporuje již čtrnáctým rokem dermatovenerologii v České republice

- Poskytuje **stipendia** na pobyty na kožních pracovištích v německy mluvících zemích.
- Uděluje **ceny za nejlepší publikace roku** v časopisu Čs. dermatologie.
- Sponzoruje **Bartákovu cenu**.
- **Podporuje časopis** Česko-slovenská dermatologie a Českou dermatovenerologickou společnost ČLS JEP.
- **Financuje vzdělávání** v dermatovenerologii (kurzy, odborná setkání).

Dermatologický univerzitní nadační fond
 partner českých dermatovenerologů.

