

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2021

Lukáš Racek

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345

Lukáš Racek

Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020

ZMĚNY V PRŮBĚHU ALERGENOVÉ IMUNOTERAPIE

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Ing. Bc. 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: **Lukáš RACEK**
Osobní číslo: **Z18B0141P**
Studijní program: **B5345 Specializace ve zdravotnictví**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Změny v průběhu alergénové imunoterapie**
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:

- ŠPIČÁK, Václav, Petr PANZNER, Tomáš BRDIČKA a Radek ŠPÍŠEK. *Alergologie*. 6., aktualizované vydání. Praha: Galén, 2004. ISBN 80-726-2265-X.
- HOŘEJŠÍ, Václav, Jiřina BARTUŇKOVÁ, Tomáš BRDIČKA a Radek ŠPÍŠEK. *Základy imunologie*. 6., aktualizované vydání. V Praze: Stanislav Juhaňák – Triton, 2017. ISBN 978-807-5532-503.
- EMURA, Shigehito, Noriyuki YANAGIDA, Sakura SATO, et al. Regular intake of cow's milk with oral immunotherapy improves statures of children with milk allergies. *World allergy organization journal*. 2020, 13(3). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.waojou.2020.100108>.
- COX, Linda. *Allergen Immunotherapy, An Issue of Immunology and Allergy Clinics*. London, United Kingdom: Elsevier Health Sciences, 2011, 312 s. ISBN 9781455711482.
- AKDIS, Mübeccel. New treatments for allergen immunotherapy. *World allergy organization journal*. 2014, 7(23). DOI: <https://doi.org/10.1186/1939-4551-7-23>.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Bc. Tomáš Vlas

Katedra záchranářství, diagnostických oborů
a veřejného zdravotnictví

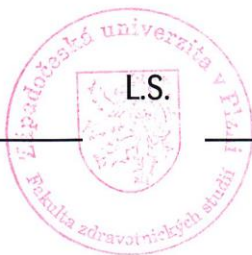
Datum zadání bakalářské práce:

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 vypracoval samostatně a všechny použité prameny jsem uvedl v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 31.3.2021

.....

vlastnoruční podpis

Poděkování patří Ing. Bc. Tomáši Vlasovi za odborné vedení práce, ochotu a poskytnutí materiálních podkladů. Děkuji Ústavu imunologie a alergologie FN Plzeň za poskytnutí laboratorního vybavení pro zpracování praktické části bakalářské práce. Poděkování v další řadě patří rodině a přátelům za podporu a pochopení.

Abstrakt

Příjmení a jméno: Racek Lukáš

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Změny v průběhu alergenové imunoterapie

Vedoucí práce: Ing. Bc. Tomáš Vlas

Počet stran – číslované: 44

Počet stran – nečíslované: 19

Počet příloh: 0

Počet titulů použité literatury: 33

Klíčová slova: Specifická alergenová imunoterapie, imunoglobuliny, alergie, alergeny, ImmunoCAP

Souhrn:

Tato bakalářská práce se zaměřuje na změny v hladinách specifických imunoglobulinů třídy IgE a IgG₄ v průběhu léčby specifickou alergenovou imunoterapií. Teoretická část se zabývá imunopatologickými reakcemi, charakteristikou alergií, diagnostikou a léčbou alergických onemocnění a specifickými třídami imunoglobulinů. Praktická část se zaměřuje na stanovení hladin specifických protilátek metodou ImmunoCAP, vyhodnocení výsledků pomocí grafů s boxploty a následné statistické zhodnocení s využitím Wilcoxoova statistického testu včetně popisu změn v průběhu léčby.

Abstract

Surname and name: Racek Lukáš

Department: Department of Rescue, Diagnostic Field and Public

Title of thesis: Changes during allergen immunotherapy

Consultant: Ing. Bc. Tomáš Vlas

Number of pages – numbered: 44

Number of pages – unnumbered: 19

Number of appendices: 0

Number of literature items used: 33

Keywords: Specific allergen immunotherapy, immunoglobulins, allergy, allergens, ImmunoCAP

Summary:

This bachelor thesis focuses on changes in the levels of the specific IgE and IgG₄ immunoglobulins during treatment with specific allergen immunotherapy. The theoretical part deals with the immunopathological reactions, characteristics of allergy, diagnosis and treatment of allergic diseases and specific classes of immunoglobulins. The practical part focuses on the determination of specific antibody levels by ImmunoCAP, evaluation of results using graphs with boxplots and subsequent statistical evaluation using Wilcoxon's statistical test, including a description of changes during treatment.

OBSAH

SEZNAM GRAFŮ	12
SEZNAM OBRÁZKŮ	13
SEZNAM TABULEK	14
SEZNAM ZKRATEK	15
ÚVOD.....	16
TEORETICKÁ ČÁST	17
1 IMUNOPATOLOGICKÉ REAKCE.....	17
1.1 Charakteristika	17
1.2 Imunopatologická reakce I. typu	17
1.3 Imunopatologická reakce II. typu	19
1.4 Imunopatologická reakce III. Typu	20
1.5 Imunopatologická reakce IV. typu.....	20
2 ALERGIE A ASTMA	22
2.1 Charakteristika astma bronchiale.....	22
2.2 Anafylaxe	22
2.2.1 Průběh.....	23
2.2.2 Léčba	23
2.3 Anafylaktický šok	23
2.3.1 Anafylaktoidní reakce.....	23
2.4 Genetická predispozice a atopie.....	24
2.5 Enviromentální faktory	25
2.5.1 Znečištěné ovzduší	25
2.5.2 Infekce	26
2.5.3 Střevní mikroflóra	26
2.6 Senzibilizační fáze	26
2.7 Akutní alergický zánět	26
2.8 Chronický alergický zánět	27
3 ALERGENY	28
3.1 Inhalační alergeny	28
3.1.1 Sezónní	28
3.1.2 Celoroční	29
3.2 Potravinové alergeny	30
3.2.1 Zkřížené reakce.....	30
3.3 Alergeny hmyzího jedu.....	31
3.4 Lékové alergeny.....	31

3.5	Profesní alergený	32
3.6	Rekombinantní alergený	32
4	DIAGNOSTIKA ALERGIÍ	33
4.1	Anamnéza	33
4.2	In vivo testý	33
4.2.1	Kožní testý	33
4.2.2	Provokační testý a eliminační testý	34
4.3	In Vitro testý	34
4.3.1	Stanovení IgE v séru	34
4.3.2	Další metody využívané pro diagnostiku alergie	35
5	LÉČBA ALERGIÍ	36
5.1	Eliminace	36
5.2	Antihistaminika	36
5.3	Kortikosteroidý	36
5.4	Další možnosti léčby alergických onemocnění	37
6	SPECIFICKÁ ALERGENOVÁ IMUNOTERAPIE	38
6.1.1	Mechanismus účinku	38
6.1.2	Indikace	38
6.1.3	Kontraindikace	39
6.1.4	Postup SAIT	39
7	IMUNOGLOBULINY	40
7.1	Struktura	40
8	IMUNOGLOBULINY STANOVOVANÉ PŘI KONTROLE ÚČINNOSTI SAIT	42
8.1	IgE	42
8.1.1	Struktura	42
8.1.2	Syntéza	42
8.2	IgG ₄	43
9	STANOVENÍ SPECIFICKÝCH IGE A IGG ₄ METODOU IMMUNOCAP	44
9.1.1	Princip	44
	PRAKTICKÁ ČÁST	45
10	CÍL A ÚKOL PRÁCE	45
10.1	Hlavní cíl	45
10.2	Výzkumné otázky	45
11	CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU	46
12	METODIKA PRÁCE	46
12.1	Stanovení specifických IgE a IgG ₄ na přístroji Phadia 250 metodou ImmunoCAP	46

12.1.1	Vybavení a materiál.....	46
12.1.2	Postup	46
13	VÝSLEDKY	48
13.1	Změny v hladinách IgE	49
13.2	Změny v hladinách IgG ₄	52
14	STATISTICKÉ ZHODNOCENÍ.....	55
	DISKUZE	57
	ZÁVĚR.....	59
	SEZNAM LITERATURY.....	60

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Boxploty koncentrací specifických IgE na alergen I3.....	49
Graf 2: Boxploty koncentrací specifických IgE na alergen I209.....	50
Graf 3: Boxploty koncentrací specifických IgE na alergen I211.....	51
Graf 4: Boxploty koncentrací specifických IgG4 na alergen I3.....	52
Graf 5: Boxploty koncentrací specifických IgG4 na alergen I209.....	53
Graf 6: Boxploty koncentrací specifických IgG4 na alergen I211.....	54

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Senzibilizační fáze a imunopatologická reakce I. typu	19
Obrázek 2 Důsledek genetické predispozice a působení environmentálních faktorů.....	25
Obrázek 3 Pylový kalendář.....	29
Obrázek 4 Struktura imunoglobulinu	41
Obrázek 5 Metoda ImmunoCAP	44

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Rozdíly ve fyziologických a patologických imunitních reakcích	18
Tabulka 2: Zkřížené reakce mezi potravinami a inhalačními alergeny.....	31
Tabulka 3: Typy imunoglobulinů.....	41
Tabulka 4: Statistické hodnocení pro koncentrace specifických IgE na alergen I3.....	55
Tabulka 5: Statistické hodnocení pro koncentrace specifických IgE na alergen I209.....	55
Tabulka 6: Statistické hodnocení pro koncentrace specifických IgE na alergen I211.....	55
Tabulka 7: Statistické hodnocení pro koncentrace specifických IgG ₄ na alergen I3.....	56
Tabulka 8: Statistické hodnocení pro koncentrace specifických IgG ₄ na alergen I209.....	56
Tabulka 9: Statistické hodnocení pro koncentrace specifických IgG ₄ na alergen I211.....	56

SEZNAM ZKRATEK

ACE	Inhibitor enzymu angiotenzin-konvertázy
C složky	Složka komplementu
CD	Diferenční skupina, Cluster designation
cDNA	Komplementová deoxyribonukleová kyselina
CNS	Centrální nervová soustava
Fab fragment	Fragment vazující antigen
Fc fragment	Fragment krystalizovaná forma
FcεRI	Vysokoafinitní receptor pro imunoglobulin třídy E
FcεRII	Nízkoafinitní receptor pro imunoglobulin třídy E
H1 receptor	Histaminový receptor
HLA	Lidský hlavní histokompatibilní komplex, Human Leukocyte Antigen
Ig	Imunoglobuliny
IgA	Imunoglobulin třídy A
IgD	Imunoglobulin třídy D
IgE	Imunoglobulin třídy E
IgG ₄	Imunoglobulin třídy G ₄
IgM	Imunoglobulin třídy M
IL	Interleukin
INFγ	Interferon gama
mRNA	Mediátorová ribonukleová kyselina
NK	Natural killers, přirození zabíječi
PAF	Platelet activating factor – destičky aktivující faktor
PCR	Polymerázová řetězová reakce
SAIT	Specifická alergenová imunoterapie
STAT-6	Převodník signálu a aktivátor transkripce 6
TBC	Tuberkulóza
Tc	Cytotoxický T lymfocyt
Th	Helperský (pomocný) T lymfocyt
WHO	Světová zdravotnická organizace

ÚVOD

Alergická onemocnění trápí celosvětově více než 30 % obyvatelstva a v posledních letech počet pacientů stále stoupá. U jedince s diagnostikovanou alergií je možnost využít farmakoterapie, která tlumí pouze projevy alergie. Další možností léčby je specifická alergenová imunoterapie. Jedná se o jedinou, doposud známou léčbu alergických onemocnění, která je schopna navodit toleranci imunitního systému vůči cílenému alergenu. Články popisující účinnost léčby jsou staré více než 100 let, ale až na přelomu století došlo k uplatnění v léčbě alergických onemocnění. Účinně potlačuje vznik alergické rýmy či astmatu. Nejlepší výsledky byly dosaženy při léčbě alergie způsobené inhalačními alergeny a u alergií na vosí nebo včelí jed, kde často po bodnutí může docházet k rozvinutí život ohrožující anafylaktické reakce.

Tato bakalářská práce se zaměřuje na změny, ke kterým dochází v průběhu léčby specifickou alergenovou imunoterapií u pacientů, u nichž byla prokázána alergie na alergeny, jež jsou součástí vosího jedu. Konkrétně na změny v hladinách specifických protilátek třídy IgE a IgG₄.

V teoretické části jsou charakterizovány patologické reakce imunitního systému, alergie, atopie a astma, diagnostika a léčba alergických onemocnění včetně specifické alergenové imunoterapie. Dále se zabývá obecně protilátkami imunitního systému a následně popisuje specifické protilátky stanovované při kontrole léčby specifickou alergenovou imunoterapií.

Praktická část popisuje metodiku stanovení specifických protilátek a soubor pacientů, u nichž je prokázána alergie na vosí jed, a jsou zde uvedeny alergeny, které byly použity pro stanovení. V další části jsou ze získaných výsledků vytvořeny grafy tvořené boxploty a následně je využito statistického zhodnocení pro neparametrické metody.

V diskuzi jsou zodpovězeny předem stanovené otázky a následné porovnání výsledků s odbornými články zabývající se stejnou problematikou.

TEORETICKÁ ČÁST

1 IMUNOPATOLOGICKÉ REAKCE

1.1 Charakteristika

Imunopatologické reakce lze vysvětlit jako hypersenzitivní reakci z důvodu poruchy imunity. Organismus reaguje na zcela běžně se vyskytující antigeny přehnanou reakcí, protože imunitní systém není schopen rozpoznat antigeny neškodné od antigenů nebezpečných. Zdrojem antigenů mohou být látky z vnějšího i vnitřního prostředí. S reakcí na vnější antigeny se setkáváme u alergií, zde jsou antigeny označovány alergeny. Pokud imunitní systém přehnaně reaguje na vnitřní antigeny vlastního těla z důvodu poruchy imunitního systému, dochází k autoimunitním reakcím. Hypersenzitivní reakce může být také způsobena jako vedlejší účinek běžné obranné imunitní reakce. (Rokyta, 2015)

Imunopatologická reakce probíhá více méně stejně jako běžná ochranná imunitní reakce, ale je možné nalézt změny v imunitních mechanismech. Příklady změn jsou uvedeny v tabulce 1 níže. Základní rozdělení imunopatologických reakcí zavedli Gell a Coombs roku 1963. Dnes je již známo více imunopatologických reakcí, ale stále se využívá základní klasifikace na čtyři skupiny, označovány římskými číslicemi I-IV. (Hořejší, a další, 2009)

1.2 Imunopatologická reakce I. typu

Imunopatologická reakce I. typu je zprostředkována IgE protilátkami. V literatuře se také můžeme setkat s názvem reakce časně přecitlivělosti nebo anafylaktický typ reakce. (Rokyta, 2015)

Jakmile se organismus setká s antigenem, na který reaguje přehnanou reakcí, dochází k uvolňování protilátek IgE. Tyto protilátky jsou navázané svojí Fc částí těžkého řetězce na receptory FcεRI (vysokoafinitní receptor pro IgE), které jsou na žírných buňkách a bazofilech. Protilátky IgE se mohou také vázat na ostatní buňky, které mají na svém povrchu nízkofinitní receptor FcεRII, CD23. Navázané protilátky IgE na buňkách zůstávají a pokud dojde k opakovanému kontaktu s citlivým antigenem, dochází k aktivaci buněk. U aktivovaných žírných buněk dojde k uvolnění granul, které obsahují mediátory histamin a heparin, regulační cytokiny, ovlivňující eozinofily a neutrofilů. (Rokyta, 2015, Šterzl, 2007)

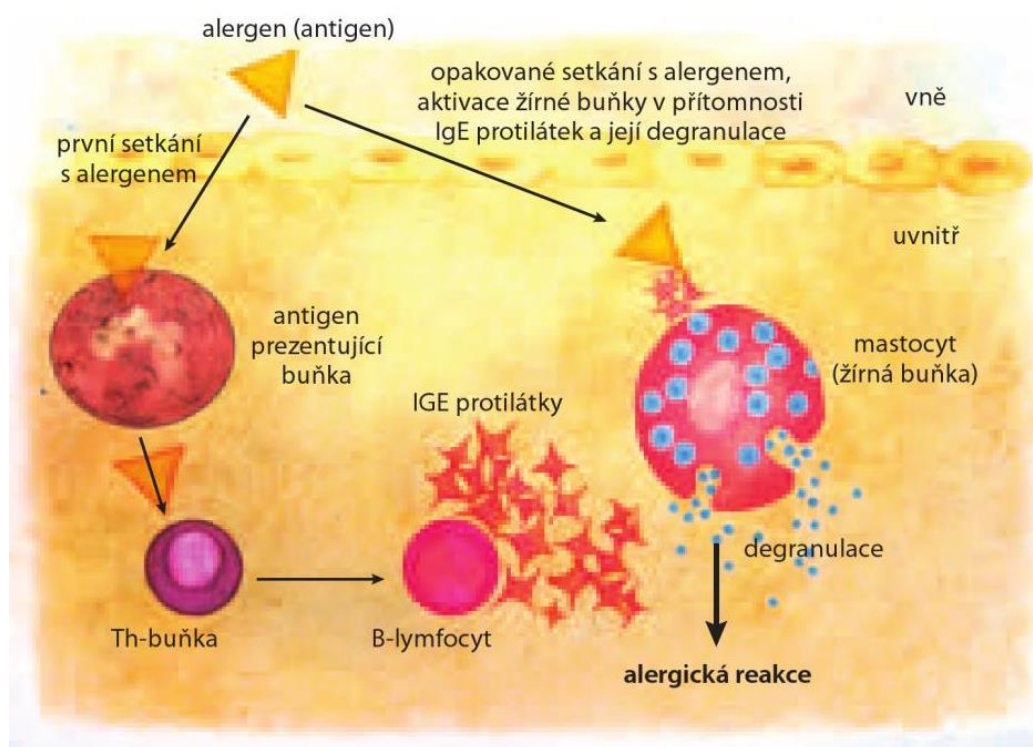
Tabulka 1 Rozdíly ve fyziologických a patologických imunitních reakcích

Imunitní mechanismus	Fyziologická reakce	Patologická reakce	Příklad onemocnění
Vazba protilátek	Neutralizace toxinů, blokování adheze virů	Neutralizace sérových proteinů, blokování buněčných receptorů	Hemofilie s protilátkami proti faktoru VIII., Myasthenia gravis
Vazba protilátek a aktivace komplementu	Oponizace, popř. lýza mikroorganismů	Oponizace a destrukce vlastních buněk	Autoimunitní hemolytická anémie, trombocytopenie, neutropenie
Tvorba imunokomplexů	Eliminace antigenů, stimulace akutního zánětu	Usazování imunokomplexů v tkáních	Vaskulitidy, glomerulonefritidy, sérová nemoc
Produkce IgE a aktivace mastocytů	Vypuzení intestinálních parazitů	Lokálně: místní alergický zánět Systémově: anafylaxe	Alergická rýma, atopická dermatitida, astma, anafylaktický šok
Aktivace Tc	Destrukce buněk infikovaných viry	Destrukce vlastních neinfikovaných buněk nebo buněk infikovaných relativně neškodnými viry	Kontaktní dermatitida, virové exantémy, autoimunitní hepatitidy
Aktivace Th1 a makrofágů	Obrana proti intracelulárním bakteriím (tbc, syfilis, lepra)	Destrukce vlastních tkání neúměrné infekci, autoimunitní choroby	Rozpadová tbc, roztroušená skleróza
Granulomatózní reakce	Ohraničení infekce granulomem (tbc, helmintózy, aspergilózy)	Tvorba granulocytů s následnou fibrózou kolem anorganických částic, granulomatózní autoimunitní onemocnění	Silikóza, berylióza, sarkoidóza

Zdroj: HOŘEJŠÍ, Václav a Jiřina BARTŮŇKOVÁ. *Základy imunologie*. 4. vyd. Praha: Triton, 2009. ISBN 978-80-7387-280-9.

V další fázi dochází k aktivaci komplementu za pomoci tryptázy uvolněné z žírných buněk. Makrofágy a žírné buňky produkují leukotrieny, prostaglandiny a PAF. PAF má za následek uvolnění převážně histaminu z granul agregovaných destiček. Regulaci imunopatologická reakce I. typu zajišťuje IL-4 a IL-5. S tímto typem reakce se setkáváme nejvíce u atopiků. Tato reakce může mít lokální projev v podobě alergické rýmy, astma bronchiale nebo atopického ekzému, ale může docházet i k systémovým projevům, kam řadíme anafylaktické a anafylaktoidní reakce. (Rokyta, 2015)

Obrázek 1 Senzibilizační fáze a imunopatologická reakce I. typu



Zdroj: ROKYTA, Richard. *Fyziologie a patologická fyziologie: pro klinickou praxi*. Praha: Grada Publishing, 2015. ISBN 978-80-247-4867-2.

1.3 Imunopatologická reakce II. typu

Reakce II. typu je označována reakcí cytotoxickou. Na reakci se podílejí protilátky IgG a IgM, které reagují proti tělu vlastním antigenům navázaných na erythrocytech, leukocytech a trombocytech. Aby tento typ reakce byl spuštěn antigeny vnějšího prostředí, musí dojít nejprve k pohlcení a následné prezentaci antigenů na povrchu antigen prezentujících buněk. Těmito antigeny mohou být některé léky. (Rokyta, 2015)

Jakmile dojde k navázání protilátky na antigen, nastává aktivace cytotoxické reakce. Reakce se účastní buněčná i humorální složka imunitního systému. Z buněčné složky dochází k aktivaci NK buněk zprostředkované protilátkami, kdežto z humorální složky dochází k aktivaci komplementu klasickou cestou, která je způsobena cytolýzou. Při reakci se uplatňuje také fagocytóza, ke které napomáhají protilátky IgG a IgM pomocí opsonizace. Buňky nesoucí antigeny, proti kterým je reakce namířena, jsou zničeny. (Rokyta, 2015)

S projevem imunopatologické reakce II. typu se setkáváme u hemolytické anémie Goodpasturova syndromu, který je způsoben cirkulujícími protilátkami proti bazální membráně v ledvinách a plicích, nebo rejekcí u transplantovaného orgánu. „*V současné době se do této skupiny řadí i reakce zprostředkované antireceptorovými protilátkami. Ty se váží na buněčné receptory a mají povahu buď stimulující (Graves-Basedowova choroba) nebo blokující (myastenia gravis, diabetes mellitus rezistentní na inzulin)*“ (Šterzl, 2007)

1.4 Imunopatologická reakce III. typu

Při reakci III. typu, která se také jinak nazývá imunokomplexová, dochází k imunitní reakci zprostředkovanou imunokomplexy volně kolujícími v krevním oběhu. Imunokomplexy jsou tvořeny dvěma složkami navázanými. První složkou je protilátka třídy IgG nebo IgM, na kterou je navázána druhá složka tvořená C3a, C4a nebo C5a složkami komplementu. S imunokomplexy se běžně setkáváme v krevním řečišti a do určité koncentrace jsou neškodné. Velkou roli zde hraje jejich velikost, fyzikální vlastnosti, genetická predispozice a exogenní faktory. Imunokomplexy mohou přecházet do tkání nebo zůstávají v cirkulaci. Jejich nahromadění způsobuje lokální zánět, který může poškozovat tkáň. Spouštěčem reakce III. typu jsou nejčastěji antigeny bakterií, virů nebo parazitů, setkáváme se i s reakcí proti antigenům vnitřního prostředí. (Rokyta, 2015)

Klinickým projevem reakce III. typu je sérová nemoc, způsobena aplikací heterogenního séra. Dále se s tímto typem reakce setkáváme u reakcí aktivující komplement (léky, potraviny). Pokud atopik trpí deficiencí C2 a C4 složky komplementu, dochází k manifestaci reakce bez účasti autoprotilátek (Šterzl, 2007)

1.5 Imunopatologická reakce IV. typu

Na reakci IV. typu se podílejí paměťové T lymfocyty vzniklé po kontaktu s antigenem, a proto se jinak nazývají reakce buněčně zprostředkované. Paměťové T lymfocyty mají životnost i několik let. K aktivaci této reakce dochází až po opakovaném styku s antigenem. Můžeme se setkat také s názvem reakce oddálené přecitlivělosti z důvodu jejího nástupu až

po delší době. Jakmile se paměťové T lymfocyty setkají s citlivým antigenem, dochází k aktivaci specifických T lymfocytů, které začnou působit cytotoxicky a zároveň uvolňují cytokiny, které aktivují další buňky imunitního systému. (Ochotná, a další, 2015)

Imunopatologické reakce IV. typu se dále rozdělují do dalších čtyř skupin podle účasti specifických T lymfocytů na:

- 1) Reakce zprostředkované Th 1 lymfocyty spojené s aktivací makrofágů
- 2) Reakce zprostředkované Th 2 lymfocyty a účastí eozinofilů
- 3) Reakce zprostředkované cytotoxickými T lymfocyty
- 4) Reakce zprostředkované Th a Tc lymfocyty a účastí neutrofilů (Ochotná, a další, 2015)

„Reakce IV. typu se manifestuje jako kontaktní dermatitida, jako exfoliativní dermatózy-Stevens-Johnson sy, hepatitida, je spojena s chronickými granulomatozními chorobami atd.“ (Šterzl, 2007)

2 ALERGIE A ASTMA

„Alergii definujeme jako klinický projev atopie, jako imunopatologický stav neúčelné obrany organismu na běžné podněty.“ (Šterzl, 2007) Roku 1906 zavedl výraz alergie Clemens von Pirquet, který vycházel z řeckých slov „*allos*“ (jiný) a „*ergon*“ (reakce), kterou popsal jako přehnanou reakci imunitního systému na, pro zdravého jedince, neškodný antigen, se kterým se můžeme běžně setkat. První zmínka o alergických onemocněních pochází již z dob starého Egypta. Alergické reakce rozdělili Coombs a Gell na čtyři typy imunopatologických reakcí. Při vzniku alergické reakce dochází nejen k projevům v místě vstupu alergenu do vnitřního prostředí, ale změny probíhají v celém imunitním systému. Mezi nejčastější lokální projevy patří atopický ekzém a otok či kopřivka. Jako příklad systémového onemocnění způsobené alergickou reakcí je astma bronchiale. K život ohrožujícím projevům alergické reakce řadíme anafylaktický šok. (Souček, 2011, Šterzl, 2007)

Vznik alergického onemocnění způsobuje porucha rovnováhy mezi Th1 a Th2 lymfocyty s převahou Th2 lymfocytů. Předpokládá se, že pokud by došlo k rovnováze mezi pro a protizánětlivými faktory s účastí T regulačních lymfocytů, došlo by k zabránění vzniku Th1 a Th2 mediovaných onemocnění. (Šterzl, 2007, Souček, 2011)

2.1 Charakteristika astma bronchiale

„Astma je chronické zánětlivé onemocnění dýchacích cest, v němž se účastní mnoho buněk a buněčných působků.“ (Novotná, a další, 2012) Při vzniku astmatu dochází ke zvýšení průduškové reaktivity, která se projevuje nejčastěji během spánku. K projevům astmatu řadíme pískot při dýchání, kašel a dušnost. Projevy jsou způsobené bronchiální obstrukcí, která při lehkém projevu odezní spontánně, nebo při rozsáhlejší bronchiální obstrukci je nutná léčba kortikosteroidy. (Novotná, a další, 2012)

V roce 2004 uvedla Světová zdravotnická organizace (WHO), že astma bronchiale postihuje 150 miliónů lidí na celém světě. (Novotná, a další, 2012)

2.2 Anafylaxe

„Anafylaxe je neočekávaná a náhle vzniklá život ohrožující reakce. Anafylaxe je děj, který vzniká na podkladě senzibilizace organismu při opakovaném kontaktu s alergenem. Podstatou je imunologická reakce zprostředkována IgE protilátkami s následným uvolněním biologicky aktivních mediátorů, které jsou zodpovědné za klinický průběh reakce.“ (Souček, 2011) Anafylaxe je způsobena rozptýlením velkého množství alergenu v organismu nebo

dojde-li k silné imunitní reakci. Rozsáhlým uvolněním vazoaktivních mediátorů v nejvyšším stupni anafylaktické reakce dochází k zástavě dechu a zástavě srdeční činnosti zapříčiněné kardiovaskulárním šokem. Nejčastějšími antigeny způsobující anafylaxi jsou potravinové nebo lékové alergeny a alergeny hmyzího jedu. (Ochotná, a další, 2015)

2.2.1 Průběh

V akutní fázi dosahuje anafylaktické reakce vrcholu za 5–30 minut. Při pozdní reakci nastává vrchol reakce až za 8–12 hodin po proniknutí antigenu do organismu. Délka urgentního stavu anafylaktické reakce se pohybuje mezi 5 až 32 hodinami. Po snížení příznaků anafylaxe je nutná hospitalizace pacienta na 24 hodin na interním oddělení. Pacient, který prodělal anafylaxi z nejasné příčiny by měl být vyšetřen a dále sledován na alergologii. (Souček, 2011)

2.2.2 Léčba

Lékem první volby je intramuskulární nebo intravenózní podání adrenalinu (epinefrin hydrochlorid), další možností je podání kortikoidů a krystaloidů. Adrenalin zvýší systolický tlak účinkem na myokard a způsobí vazokonstrikci cév. Dalším účinkem adrenalinu je bronchodilatace. Je nutné zajistit průchodnost dýchacích cest. Pomocí žilního vstupu podáváme fyziologický roztok a dle dalších obtíží příslušné léky. Pacienti, kterým alergen způsobil anafylaktickou reakci, si mohou první pomoc po bodnutí zajistit pomocí pera, které vpraví do těla dávku adrenalinu. (Ochotná, a další, 2015, Souček, 2011)

2.3 Anafylaktický šok

Anafylaktický šok nejčastěji způsobují léky, potravinové alergeny a bodnutí blanokřídlým hmyzem. U alergické reakce na léky vyvolané nejčastěji penicilínovými antibiotiky, anestetiky, rentgenovými kontrastními látkami, sulfonamidy nebo antirevmatiky se anafylaktický šok vyskytuje u 10-15 % případů. Při reakci imunitního systému na tyto alergeny nedochází k anafylaktické reakci, ale k reakci anafylaktoidní. (Ferenčík, a další, 2005)

2.3.1 Anafylaktoidní reakce

Klinický průběh anafylaktoidní reakce je stejný jako u reakce anafylaktické. Ale u anafylaktoidní reakce dochází k aktivaci komplementu namísto reakce způsobené IgE protilátkami. „*Při aktivaci komplementu vzniká velké množství anafylatoxinů (fragmenty C5a a C3a), které se navazují na „svoje“ receptory na žírných buňkách a bazofílech, což způsobuje, že se z těchto buněk uvolní mediátory anafylaxe*“ (Ferenčík, a další, 2005) Anafylatoxiny mají stejné účinky jako histamin. Ke vzniku anafylaktoidní reakce může dojít i bez

senzibilizační fáze. Látky označené jako uvolňovače histaminu dokážou uvolnit histamin ze žírných buněk bez účasti IgE nebo anafylatoxinů. (Ferencík, a další, 2005)

2.4 Genetická predispozice a atopie

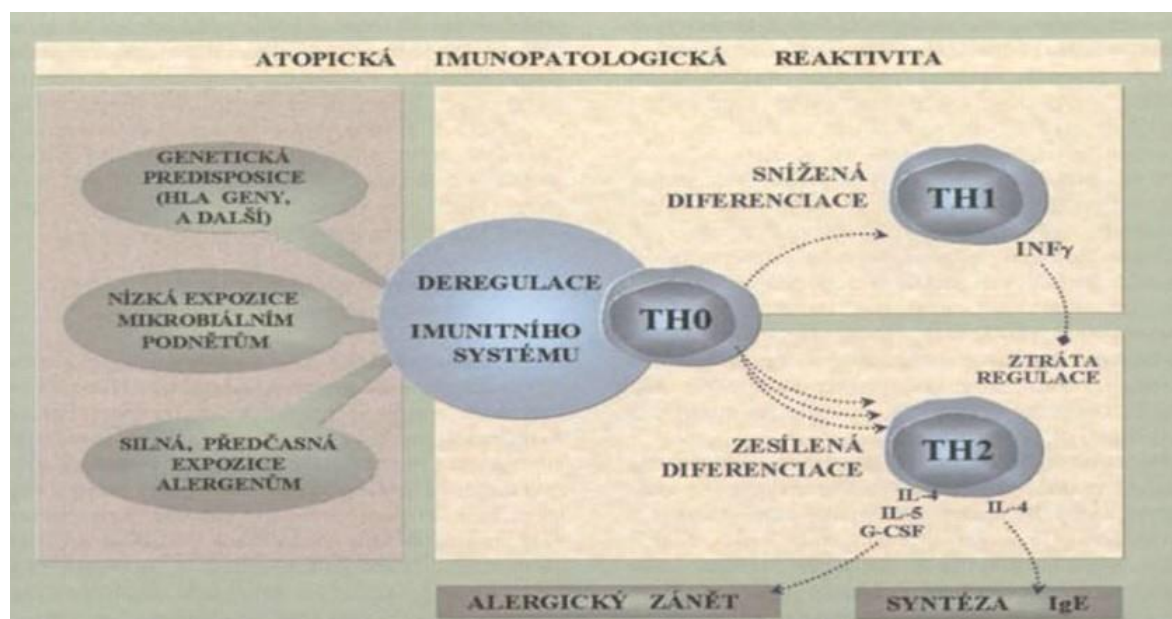
„Jako atopik je označován jedinec, který má genetickou predispozici k tvorbě IgE protilátek, které jsou odezvou na nízké dávky alergenu. Dědičnost alergických chorob je polygenní, multifaktoriální a nelze stanovit typ dědičnosti“ (Šterzl, 2007) Z toho důvodu není možné stanovit riziko vzniku alergického onemocnění u vyvíjejícího se plodu, jako tomu je u jiných dědičných onemocnění. V populaci se vyskytuje 30–50 % atopiků, ale nelze označit každého atopika za alergika z toho důvodu, že alergik se již setkal s daným alergenem, kdežto atopik se ještě nesetkal s alergenem, který by alergickou reakci navodil. (Šterzl, 2007, Souček, 2011)

Na vzniku atopického fenotypu se podílí velké množství genů, které jsou uloženy na 3., 4., 5., 6., 7., 11., 12., 13., 14. a 16. chromozomu. Další skupinou genů, které ovlivňují vznik atopie, jsou geny kódující specifickou IgE odpověď, kam řadíme geny pro HLA a pro receptory T-lymfocytů. Geny, kódující generalizovanou IgE odpověď a geny kódující expresi klinických projevů, ovlivňují také vznik alergických chorob. (Kopřiva, 2003, Šterzl, 2007)

Geny pro chemokiny, které ovlivňují infiltraci alergického zánětu T-lymfocyty a mastocyty, jsou uloženy na 3. chromozomu. Geny kódující cytokiny jsou uloženy na 5. chromozomu. Na 11. chromozomu se nachází geny kódující odpověď imunitního systému na antigeny. Gen, který ovlivňuje syntézu interferonu alfa a transkripčního faktoru STAT-6 se nachází na 12. chromozomu. (Kopřiva, 2003)

Dědičnost na potomka, jestliže se v rodině vyskytuje alergie u jednoho rodiče, je riziko vzniku atopie 40 %. Pokud oba rodiče trpí alergií, riziko je 50 %. Můžeme se setkat s případy, kdy oba rodiče trpí stejnou formou alergie, zde je riziko, že jejich potomek se narodí s atopickým onemocněním až 70 %. (Šterzl, 2007)

Obrázek 2 Důsledek genetické predispozice a působení environmentálních faktorů



Zdroj: KREJSEK, Jan a Otakar KOPECKÝ. *Klinická imunologie*. [Hradec Králové]: Nucleus HK, 2004. ISBN 80-86225-50-x.

2.5 Enviromentální faktory

Základní rozdělení predispozičních faktorů je na faktory, vyvolávající vznik alergického onemocnění. Další skupina aktivuje již vzniklé onemocnění. Do poslední skupiny patří protektivní faktory, které mají pozitivní (ochranné) účinky a zmírňují projevy alergií. (Šterzl, 2007)

2.5.1 Znečištěné ovzduší

Vliv znečištěného ovzduší na vznik astmatu není zcela potvrzen, protože v oblastech s vysokou čistotou ovzduší se také setkáváme s vysokým výskytem astmatu. Prokazatelný vliv na dýchací systém mají látky obsažené v tabákovém kouři, které se dostávají do těla ať už aktivním nebo pasivním kouřením, stejný vliv mají uhlíkové částice z výfukových plynů, oxid siřičitý a oxid dusičitý, jež způsobují podobné potíže jako pylové alergeny. Dochází k stimulaci IgE protilátek a produkci IL-4. Děti žijící na venkově jsou vystaveny většímu množství různých alergenů a z toho důvodu jsou méně náchylné na vznik alergického onemocnění. (Šterzl, 2007, Hořejší, a další, 2009)

2.5.2 Infekce

Infekce mohou ovlivňovat alergické onemocnění pozitivně (projektivně) i negativně. „*Opakované respirační (zejména virové) infekce způsobují bronchiální hyperaktivitu, která může ovlivnit reakci na neškodné vdechované antigeny.*“ (Hořejší, a další, 2009) Jiné nemoci mohou mít projektivní účinky. K nárůstu alergií dochází ve vyspělých zemích z důvodu nižšího výskytu alergenů. Pokud se dítě v časném věku potýká s různými infekcemi, nedochází u něj k tak častému vzniku alergie. (Hořejší, a další, 2009, Ferenčík, a další, 2005)

2.5.3 Střevní mikroflóra

Vliv kolonizace trávicího traktu bakterií *Escherichia coli* v dětském věku ovlivňuje množství lipopolysacharidu ve střevě a dochází ke snížené orální toleranci. Pokud dojde k nevyvinutí orální tolerance, která je způsobena současným důrazem na sterilitu prostředí, zvyšuje se riziko vzniku alergie. Další vliv střevní mikroflóry byl prokázán studií, kde docházelo k podávání probiotického kmene *Lactobacillus rhamnosus* GG po dobu 4 týdnů před porodem matce trpící atopickým ekzémem, výsledkem byl pokles vzniku atopie u potomka až o 50 %. (Šterzl, 2007)

2.6 Senzibilizační fáze

V dýchacích cestách dochází k průniku inhalačního alergenu přes hlenovou vrstvu do submukózy a následně do mizních cév. U atopiků dochází k diferenciaci $CD4^+$ T lymfocytů na Th2 lymfocyty, díky prezentaci antigenu (alergenu) buňkami, se kterými alergen přišel do kontaktu (epitelové a dendritické buňky, makrofágy a granulocyty). Vliv na diferenciaci má také mikroprostředí, zejména cytokiny IL-4 a IL-5, které působí na Th2 buňky protagonisticky a antagonisticky na Th1 buňky. (Špičák, a další, 2004)

Buňky Th2 odpovídají za vznik alergické reakce, protože se hromadí v dýchacích cestách, kde jsou udržovány adhezními molekulami na endoteliích. Th2 buňky produkují IL-4, který stimuluje plazmatické buňky k produkci IgE protilátek. (Špičák, a další, 2004)

2.7 Akutní alergický zánět

Při vzniku akutního alergického zánětu se alergen váže na specifické IgE protilátky, které jsou lokalizované na FcεRI receptorech na žírných buňkách a bazofilech. Dochází také k aktivaci nespecifických mechanismů imunitní odpovědi. Mediátory reakce jsou látky uložené v granulích buněk a mediátory, jež vznikly aktivitou fosfolipázy A2 de novo. V granulích jsou uloženy chemotaktické faktory, serotonin, histamin. Mediátory de novo jsou prostaglandiny, leukotrieny. (Špičák, a další, 2004, Šterzl, 2007)

Časná fáze akutního alergického zánětu se rozvíjí do 30 minut od průniku alergenu do organismu. Pozdní fáze plynule navazuje na časnou fázi a nastává do 8 hodin. Na sliznicích dochází během časně fáze k zarudnutí z důvodu zvýšené cévní permeability. Se zvýšenou tvorbou hlenu, svěděním a kontrakcí hladké svaloviny se také setkáváme během časně fáze. Na kůži dochází ke společné reakci I. a IV. typu imunopatologické reakce. Reakce se účastní celá řada buněk, kde hlavní roli mají mastocyty, bazofily, Langerhansovy buňky, fibroblasty, keratinocyty a T lymfocyty, které se podílejí na odpovědi zprostředkovanou Th2 lymfocyty. Z humorální složky imunity se na reakci podílí celá řada interleukinů a následně dochází k produkci IgE protilátek. Po přestupu do pozdní fáze dochází k přesmyku na Th 1 odpověď za pomoci IL-12. (Šterzl, 2007, Špičák, a další, 2004)

2.8 Chronický alergický zánět

Chronický alergický zánět je ovlivněn chemotaxiny uvolňující se během akutního zánětu. Chemotaxiny působí na makrofágy, lymfocyty, neutrofilů a trombocyty, které se podílejí na vzniku infiltrátu v místě chronického zánětu. Během zánětu jsou z eozinofilů uvolňovány mediátory napomáhající udržování zánětu ve tkáních. Díky těmto látkám dojde v tkáni k morfologickým změnám, a proto reaguje tkáň i na nízkou intenzitu alergenů. Do chronického zánětu řadíme také chronické astma a chronický atopický ekzém. (Šterzl, 2007, Hořejší, a další, 2009)

3 ALERGENY

„Alergeny jsou antigeny nejčastěji proteinové povahy, které jsou schopny vyvolat alergické reakce“ (Ochotná, a další, 2015) Molekulová hmotnost alergenů se pohybuje v rozmezí 5-100 kDa. Alergeny členíme do skupin podle způsobu průniku do organismu na inhalační alergeny, které pronikají do organismu pomocí dýchacích cest. Další možností průniku alergenů do organismu je intradermálně, gastrointestinálním traktem nebo intravenózně. Pokud se atopik opakovaně setká s alergenem, imunitní systém spustí kaskádu buněčných pochodů a dojde k uvolnění mediátorů alergické reakce. (Šterzl, 2007, Litzman, a další, 2001)

Alergeny organické povahy způsobují protilátkovou imunitní odpověď, zatímco anorganické látky vyvolávají buněčnou odpověď imunitního systému. Alergeny označovány hlavními, iniciují specifickou protilátkovou odpověď IgE u 90 % alergiků, ostatní nazýváme vedlejší. Do zvláštní skupiny řadíme panalergeny. Jedná se o antigeny, které jsou obsaženy v různých přírodních zdrojích. Panalergeny jsou nejčastější příčinou vzniku zkřížené reakce. (Hořejší, a další, 2009)

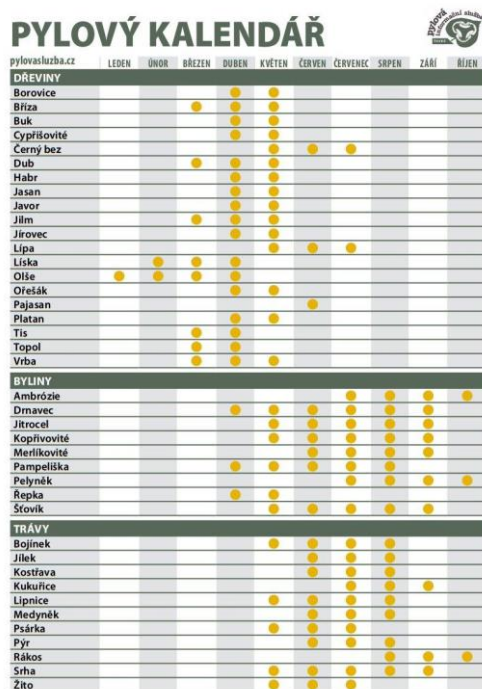
3.1 Inhalační alergeny

Cesta průniku inhalačních alergenů nemusí být jen dýchacími cestami, ale mohou pronikat i narušenou kůží atopickým ekzémem. Inhalační alergeny dělíme na sezónní nebo celoroční. (Ochotná, a další, 2015)

3.1.1 Sezónní

Do skupiny sezónních alergenů řadíme pylové alergeny, které jsou příčinou 10-20 % alergických onemocnění, kdy nejčastějším příznakem je alergická rhinitida. Největší obtíže způsobují pyly anemofilních rostlin, u kterých dochází k přenosu pylových zrn větrem. Jedná se o samčí pohlavní gamety rostlin a jejich velikost je od 15 do 200 μm . Koncentrace pylových zrn během pylové sezóny (viz obr. 3) se pohybuje od 100 do 500 zrn/m^3 . Pokud se jedná o citlivého alergika, k projevení obtíží postačí pouze koncentrace 15-75 zrn/m^3 . Výskyt daného alergenu v pylové sezóně, která v naší oblasti trvá od února do října, je možné sledovat v tzv. pylovém kalendáři. Během jara se setkáváme s pyly lísky, olše, topolu, břízy. V letních měsících se vyskytují pyly trav a obilovin. V období podzimu se v ovzduší vyskytují pyly plevelů. V jižních oblastech Evropy se setkáváme s pylem olivovníku. V Americe se mezi nejvýznamnější pylové alergeny řadí pyly kostřavy, bojínku, jitrocelu, javoru a břízy. (Litzman, a další, 2001, Šterzl, 2007)

Obrázek 3 Pylový kalendář



Zdroj: <https://files.zdravotniregistr.cz/static/data/uploaded/160802046493946/pylovy-ka-lendar.jpg>

3.1.2 Celoroční

Mezi celoroční alergeny řadíme roztoče, plísně a živočišné alergeny. Jejich výskyt je během roku neměnný. (Ochotná, a další, 2015)

3.1.2.1 Roztoči

„V našich podmínkách jde o roztoče prachu druhu *Dermatophagoides pteronyssinus* a *Dermatophagoides farinae*. Jako alergeny působí především bílkoviny obsažené ve výměšcích a svlečkách roztočů“ (Ochotná, a další, 2015) Výskyt alergenů roztočů je celosvětově významný. Během reprodukčního období kladou 2-3 vajíčka denně po dobu 26-34 dnů. Ideální teplota pro množení je 25 °C a vlhkost 80 %. S roztoči se setkáváme v lůžkovinách a kobercích. Alergeny v sekretech roztočů jsou hydrolytické enzymy ze zažívacího traktu, alergeny ve slinách a bílkoviny ze žláz roztočů. (Šterzl, 2007)

3.1.2.2 Plísně

„Plísně jsou saprofytické eukaryotní organismy“ (Šterzl, 2007) V alergologii jsou významné vláknité plísně, které jsou schopny produkovat spory, které se dostávají až do dolních cest dýchacích vdechnutím. Obecně se spory plísní nachází v místech s vysokou

vlhkostí vzduchu. Plísně rodu *Cladosporium* a *Alternaria* se vyskytují ve venkovním prostředí sezónně. Největší potíže působí od července do srpna, ale setkáváme se s nimi po celou pylovou sezónu. Ve vnitřních prostorech s větší vlhkostí vzduchu se s plísněmi rodu *Aspergillus* a *Penicilium* setkáváme celoročně. Každý druh plísně uvolňuje spory rozdílně. Plísně rodu *Aspergillus* se podílejí na vzniku astmatu. (Šterzl, 2007, Ochotná, a další, 2015)

3.1.2.3 Živočišné alergeny

Do skupiny živočišných alergenů se řadí bílkoviny obsažené ve slinách, epitelie, srst a exkrementy. Nejčastěji se v domácnostech vyskytuje alergie na kočku a psa, ve venkovním prostředí jsou významné alergie na hlodavce, králíky, morčata a koně. Živočišné alergeny mají velmi dobrou přilnavost ke všem povrchům, nebo se váží na prachové částice, které vdechujeme. Jejich odstranění je velmi náročné, protože např. kočičí alergeny se mohou vyskytovat v domácnosti i roky po odstranění zvířete. (Litzman, a další, 2001, Šterzl, 2007)

3.2 Potravinové alergeny

Místo průniku potravinových alergenů je trávicím traktem, poté přes sliznici do krevního oběhu. Jedná se o alergeny, se kterými se setkáváme v běžných potravinách, ať už rostlinného či živočišného původu. Alergeny rostlinného původu jsou nejčastěji obsaženy v obilovinách, luštěninách, ořechách a semenech. Alergie na vaječný bílek, kravské mléko a arašídý působí potíže u dětí. V dospělosti se vyskytuje nejčastěji alergie na ořechy, semena, mořské plody a obiloviny. (Ochotná, a další, 2015, Ferenčík, a další, 2005)

Alergickou reakci vyvolávají glykoproteiny o velikosti 10-70 kDa. Některé potravinové alergeny jsou termostabilní, jiné po denaturaci nezpůsobí žádné potíže. Příklady termostabilních alergenů jsou alergeny obsaženy v kravském mléce, vejcích. Pokud je pacient alergický na bílkoviny vajec, není možné jej očkovat „*látkami, které byli připravovány na půdách z kuřecích embryí.*“ (Šterzl, 2007) Největším problémem u potravinových alergií je možnost vzniku zkřížené reakce způsobené panalergeny. (Šterzl, 2007)

3.2.1 Zkřížené reakce

Ke zkřížené reakci dochází po vniknutí panalergenu do organismu. Panalergeny jsou bílkoviny, které jsou obsaženy ve velkém množství potravin, živočichů a rostlin. Mezi hlavní panalergeny se řadí profilin. Pokud je alergik citlivý na alergen Bet v 2, který je obsažen v pylu břízy, může se alergie projevit i na arašídý, jablka, hrušky, peckoviny z důvodu obsažení profilinu ve všech uvedených alergenech. Panalergen tropomyosin, jenž je obsažen

v korýších, způsobuje zkřížené reakce u pacientů citlivých na roztoče. Příklady možných zkřížených reakcí jsou uvedené v tabulce 2. (Hořejší, a další, 2009, Šterzl, 2007, Ferencík, a další, 2005)

Tabulka 2 Zkřížené reakce mezi potravinami a inhalačními alergeny

<i>Potravina</i>	<i>Inhalační alergen</i>
Jablko, mrkev, brambor, meruňka, broskev, kaštan, kivi	Pyl břízy
Ořech, rajče	Pyl trav
Okurka, banán, meloun	Pyl pelyňku
Mouka	Pyl žita
Vaječný žloutek a vaječné výrobky	Peří domácích ptáků
Med	Pyl některých květů
Vepřové maso a výrobky z něj	Epitel koček
Krevety, langusty	Roztoči

Zdroj: FERENČÍK, Miroslav, Jozef ROVENSKÝ, Yehuda SHOENFELD a Vladimír MAŤHA. *Imunitní systém: informace pro každého*. Praha: Grada Publishing, 2005. ISBN 978-80-247-1196-6.

3.3 Alergeny hmyzího jedu

Do skupiny alergenů hmyzího jedu patří blanokřídlý hmyz (vosa, včela, sršeň), který po bodnutí způsobuje alergickou reakci. „*Jed obsahuje enzymy a biologicky aktivní látky, např. fosfolipázu A2, hyaluronidázu, mellitin a další.*“ (Ochotná, a další, 2015) Tyto alergeny způsobují alergickou reakci zprostředkovanou IgE a dochází k anafylaktickým reakcím, které mohou vyústit anafylaktickým šokem. Samotný vpravený jed je toxický i pro nealergického jedince, u dětí je riziko toxické reakce po 50 žihadlech, u dospělé osoby po 100 žihadlech. Složky jedu působící přímo na bazofily, mastocyty a aktivaci komplementu vyvolávají IgE nezávislou reakci. (Litzman, a další, 2001, Ochotná, a další, 2015, Šterzl, 2007)

3.4 Lékové alergeny

Nežádoucí účinky léků se vyskytují poměrně často, ale důvodem je předávkování, toxicita léku nebo léková interakce. Pouze 6-10 % z nežádoucích účinků jsou alergické reakce. (Souček, 2011) Některé léky jsou schopny působit přímo na imunitní systém, jsou pohlceny antigen prezentujícími buňkami. Většinou se setkáváme s léky, které nedokážou

působit na imunitní systém přímo, reakci vyvolají až po navázání na makroskopický nosič, kterými jsou bílkoviny séra. „*Imunitní odpověď je pak zaměřena na různé epitopy, kterými může být přímo lék (haptén), komplex haptén-nosič (neoantigen), nebo samotný nosič (vlastní antigen).*“ (Šterzl, 2007)

Léky vyvolávají všechny druhy imunopatologických reakcí. Zvířecí inzulín vyvolává reakci I. typu, soli zlata a penicilin reakci II. typu, III. typ reakce nejčastěji antibiotika a reakci IV. typu lokálně aplikované léky. Diagnostika lékové alergie se provádí provokačním testem, protože kožní testy jsou často falešně pozitivní. (Šterzl, 2007)

3.5 Profesionální alergeny

Při vykonávání profesí mohou alergie vyvolat alergeny vyskytující se v pracovním prostředí. Alergeny zahrnují látky od nízkomolekulárních až po vysokomolekulární. Do nízkomolekulárních látek řadíme kovy, které vyvolávají IgE odpověď. Dřevěný prach, formaldehyd a další podobné látky způsobují non-IgE odpověď. Příkladem vysokomolekulárních látek jsou látky rostlinného a živočišného původu. (Ochotná, a další, 2015, Šterzl, 2007)

3.6 Rekombinantní alergeny

Rekombinantní alergeny se využívají při diagnostice alergií i při následné léčbě specifickou alergenovou imunoterapií. Díky využití rekombinantních alergenů v diagnostice, je potlačeno riziko vzniku zkřížené reaktivity a došlo ke standardizaci diagnostických metod. U specifické alergenové imunoterapie dochází k minimálnímu vzniku anafylaktické reakce i po podání vysoké dávky vakcíny. Snížené riziko vzniku nežádoucích účinků je zajištěno redukcí IgE reaktivity, kde postačuje i záměna jediné aminokyseliny v molekule alergenu. Takto změněná struktura alergenu nesmí ovlivnit aktivaci T-lymfocytů. (Janů, 2007, Thon, 2012)

Na přelomu 80. a 90. let minulého století došlo díky rozvoji molekulární biologie k syntéze alergenů podle jejich přesných funkčních molekul složených z rekombinantních proteinů. Syntéza rekombinantních alergenů je založena na izolaci mRNA a následné syntéze komplementární cDNA a pomocí PCR dochází k amplifikaci alergenu. Vzniklý alergen je zakomponován do plazmidu a následně je plazmid vpraven do bakteriální buňky, která syntetizuje předem specifikovaný alergen. (Janů, 2007, Thon, 2012)

4 DIAGNOSTIKA ALERGIÍ

Pro diagnostiku alergií je velmi důležité přesně identifikovat alergen, který způsobuje potíže. Další součástí diagnostiky je určení mechanismu imunopatologické odpovědi organismu. Pokud by nebyla diagnostika provedena správně, byla by ovlivněna následná terapie. Diagnostika alergií klade největší důraz na podrobný rozbor anamnézy pacienta, expozičních faktorů a následně na in vivo i in vitro testy. (Pawankar, a další, 2011)

4.1 Anamnéza

Základním vyšetřením je shromáždění informací o podrobné anamnéze a o fyzikálním vyšetření. Akademická organizace, zabývající se diagnostikou alergií, varovala před pomíjením anamnézy pacienta. Pokud by se anamnéza nebrala v potaz a spoléhalo by se pouze na in vitro testy, docházelo by velmi často k určení špatné diagnózy. Nejdůležitější je identifikovat souvislost mezi příznaky alergie s expozicí alergenu. Takto určená souvislost musí být dále vyšetřena pomocí ostatních diagnostických metod. (Pawankar, a další, 2011)

Anamnéza je vždy prováděna lékařem, kdy někdy podrobnému vyšetření může předcházet vyplnění dotazníku. Během vyšetření lékař shromažďuje údaje o výskytu alergie u rodinných příslušníků a o dalších onemocněních, která mohou souviset s případnou alergií. Dále zjišťuje informace o čistotě prostředí v domácnosti i v pracovním prostředí, zda kouří, s jakými možnými alergeny mohl pacient přijít do kontaktu, nebo zda má nějaké typické projevy alergie, ať už kožní nebo systémové. Důležité jsou také případné nežádoucí reakce např. na očkování, užívání léků či anestetik a antibiotik. (Špičák, a další, 2004)

4.2 In vivo testy

4.2.1 Kožní testy

Kožní testy jsou základním vyšetřením pro identifikaci citlivého alergenu a následnou kontrolu. Jsou označovány jako zlatý standard při diagnostice, zda se jedná o IgE zprostředkovanou imunitní odpověď. Provedení kožních testů není finančně náročné a je vysoce citlivé, jednoduché, snadno proveditelné a reprodukovatelné. Pro testování se využívá vysoce kvalitních extraktů. Testy se musejí provádět na oddělení alergologie, která je vybavena pro léčbu případné anafylaktické reakce, jež může ohrozit i život pacienta. Testy simulují lokální kontakt s alergenem, na který organismus reaguje lokální alergickou reakcí. Pokud není možné z nějakých důvodů provést kožní testy, přistupuje se ke stanovení specifických IgE protilátek. (Pawankar, a další, 2011, Lukáš, a další, 2018)

Testy se provádějí na volární straně předloktí nebo v horní oblasti zad. Na kůži jsou rozmístěny kapky obsahující vyšetřované alergeny a pomocí lancety dojde k intradermální aplikaci alergenů. Současně s alergeny je nanesena kapka negativní a pozitivní (histamin) kontroly. Odečítání se provádí po 15 nebo 20 minutách po aplikaci. Hodnotí se velikost pupenu v mm. Pokud je velikost pupenu větší než negativní kontrola, je pacient na daný alergen citlivý. Před provedením testu je nutné vysadit antihistaminika (pokud je pacient užívá), která by mohly způsobit falešně negativní výsledky. Při testování na potravinové alergeny se můžeme setkat se zkříženou reaktivitou. (Pawankar, a další, 2011)

4.2.2 Provokační testy a eliminační testy

Provokační testy se provádějí u některých pacientů nebo u konkrétních alergenů pro potvrzení diagnózy. Tyto testy by měl provádět pouze lékař se specializací v alergologii, aby byl test proveden a vyhodnocen správně. Lékaři musí mít také zkušenost s léčbou případných nežádoucích účinků. Provokační testy jsou indikovány, pokud není možné využití jiné diagnostické metody nebo pokud u předchozích testů není jistě znám výsledek, aby nedošlo k falešně negativnímu nebo pozitivnímu výsledku. Kontraindikace testu je předchozí těžká anafylaktická reakce nebo jiná život ohrožující reakce. Prováděny jsou spojivkovou, nosní, bronchiální nebo orální cestou. Orální cesta se může využívat u alergie na potravinové a lékové alergeny. Využití provokačních testů je spíše pro výzkumné účely, protože přinášejí vysoké riziko vzniku nežádoucích účinků. (Pawankar, a další, 2011)

Opakem provokačních testů jsou testy eliminační. Tento test se využívá u potravinových alergií a je považován za „zlatý standard“. Pro indikaci k eliminačnímu testu je nutný pozitivní výsledek kožního testu nebo zvýšená koncentrace specifických IgE protilátek. Principem testu je postupná eliminace potravin, které měly pozitivní výsledek kožního testu. Pokud není možnost přesné identifikace potravinového alergenu, dochází k postupné eliminaci dalších možných potravinových alergenů, dokud nedojde k vymizení projevů. Následně jsou potraviny zavedeny zpět do jídelníčku, jakmile se objeví příznaky alergie, lze přesně určit, o jaký alergen se jedná. (Litzman, a další, 2001)

4.3 In Vitro testy

4.3.1 Stanovení IgE v séru

Stanovení hladiny celkových IgE v séru není zcela specifické pro diagnostiku alergie. Zvýšení hladiny IgE může být způsobeno i jiným onemocněním. Pacienti s již prokázanou citlivostí na určitý alergen mohou mít fyziologickou hladinu celkových IgE. (Litzman, a další, 2001)

Specifická metoda pro diagnostiku alergií je stanovení specifických IgE v séru pacienta. Tato metoda je ale finančně nákladná oproti běžným kožním testům, a proto se využívá u pacientů, kteří jsou kontraindikováni k provedení kožních testů. Indikována je např. u malých dětí a u pacientů, kde není možné přerušení léčby alergických projevů. (Litzman, a další, 2001)

4.3.2 Další metody využívané pro diagnostiku alergie

Mezi další metody, které se využívají pro diagnostiku alergických onemocnění, je test aktivace bazofilů, stanovení sérové tryptázy a počet eozinofilních leukocytů. Test aktivace bazofilních granulocytů se využívá velmi zřídka pro běžnou diagnostiku, protože test je finančně i přístrojově náročný. Principem je stanovení procenta aktivovaných bazofilů na průtokovém cytometru. Stanovení sérové tryptázy se využívá jako marker systémové anafylaxe, kde dochází k jejímu vyplavení z žírných buněk. Zvýšený absolutní i diferenciální počet eozinofilních granulocytů v krvi koreluje se závažností alergického onemocnění. (Pawankar, a další, 2011)

5 LÉČBA ALERGIÍ

5.1 Eliminace

Při léčbě alergií nebo prevenci je nejúčinnější co nejvíce omezit kontakt s alergeny způsobující pacientovi potíže. Eliminace patří mezi základní léčbu alergie. Možnosti eliminace závisí na povaze a zdroji alergenu. Například u plísni a pylu je téměř nemožné zamezit styku s alergeny, protože jsou transportovány vzduchem. U zvířecích a potravinových alergenů je eliminace velice účinnou možností léčby, ale nedá se hovořit o 100% účinnosti, protože může dojít ke styku s alergenem, aniž by si to jedinec uvědomil. (Akdis, a další, 2014)

Eliminace plísni a prachu lze provést úpravou prostředí, ve kterém pacient pobývá. Snížení vlhkosti v místnostech brání vzniku plísni a častější úklid a snížení předmětů, na nichž ulpívá prach, napomáhá k mírnění projevů alergie. Samotné vyhýbání se alergenům ve většině případů není dostačující, a proto je léčba alergií podporována vhodnou farmakoterapií. (Stites, a další, 1994)

5.2 Antihistaminika

Antihistaminika patří mezi základní léky využívající se při léčbě alergických onemocnění a mohou být využity jak k léčbě akutních projevů, tak i dlouhodobě. Mechanismem účinku je blokáda receptorů pro histamin. Fyziologicky aktivace těchto receptorů způsobuje kontrakce hladké svaloviny, vazodilataci kapilár a zvýšenou tvorbu hlenu v dutině nosní. Antihistaminika lze rozdělit do třech skupin na: I., II. a III. generaci, z nichž nejvíce v praxi využívanými jsou antihistaminika II. generace. Antihistaminika I. generace působí tlumivým efektem na H1-histaminové receptory, ale mají účinek i na další receptory, což se projevuje nežádoucími účinky např. útlum CNS. V dnešní době jsou nejvíce využívány antihistaminika II. generace, které neprocházejí hematoencefalickou bariérou a tím pádem neovlivňují CNS. Nově se setkáváme s antihistaminiky III. generace, které mají navíc protizánětlivé účinky. (Špičák, a další, 2004, Bystroň, 2014)

5.3 Kortikosteroidy

„Kortikosteroidy působí tlumivě na mnoha úrovních zánětlivého procesu a mají velmi silný klinický účinek.“ (Litzman, a další, 2001) Při léčbě alergických onemocnění se využívají kortikosteroidy topické ale i systémové. Kortikosteroidy způsobují celou řadu nežádoucích účinků při dlouhodobém užívání, a proto se systémově využívají výhradně při léčbě závažných projevů alergie. Topické kortikosteroidy působí velmi účinně lokálně

s nízkým výskytem vedlejších účinků. Do této skupiny řadíme inhalační kortikosteroidy, které se uplatňují při léčbě těžkého a středního bronchiálního astmatu. Jsou podávány ve formě aerosolu nebo prášku pomocí inhalátoru. Pro léčbu lehčích forem bronchiálního astmatu mohou být ordinovány antileukotrieny, které působí antagonisticky na cysteinyl- leukotrienové receptory. Kortikosteroidy se také využívají k léčbě alergické rýmy, kožních a očních projevů. (Tomčalová, 2014, Litzman, a další, 2001)

5.4 Další možnosti léčby alergických onemocnění

Léčbu pomocí kromonů lze využít pouze těsně před kontaktem s alergenem. Z tohoto důvodu je využívána jako prevence vzniku projevů. Obsahují léčebnou látku kromoglykát disodný, který působí na mastocyty a zabraňuje uvolnění mediátorů alergické reakce. U pacientů s těžkou formou astmatu je možné využití biologické léčby monoklonálními protilátkami. Léčba specifickou alergenovou terapií je popsána v následující kapitole. (Tomčalová, 2014)

6 SPECIFICKÁ ALERGENOVÁ IMUNOTERAPIE

První zmínky o specifické alergenové imunoterapii (SAIT) jsou staré přes 100 let. V tu dobu byla nazvána očkováním proti toxinům ze vzduchu, protože po subkutánním podání pylových extraktů došlo ke snížení příznaků senné rýmy. Po objevení IgE byla zahájena studie kontrolovaná placebem, aby došlo k potvrzení účinnosti léčby. Mezi 60. a 80. lety minulého století došlo pouze k objevení modifikovaných alergenů. V roce 1986 došlo ve Velké Británii k 26 úmrtí vlivem SAIT, proto bylo upuštěno od léčby. V roce 2006 WHO vydala dokument, ve kterém byly uvedeny indikace, kontraindikace, rizika a výhody SAIT, a díky kterému byla léčba uznána za účinnou. (Pawankar, a další, 2011)

SAIT je jediná kauzální léčba alergických onemocnění, což znamená, že léčí přímo příčinu vzniku alergických onemocnění navozením tolerance imunitního systému vůči cílovému alergenů. Je definována jako „*opakovaná expozice alergenům v pravidelných intervalech vede k modulaci imunitní odpovědi se snížením symptomů a snížení farmakoterapie a k předcházení vzniku nových alergií a astmatu*“ (Anon) Účinnost léčby SAIT je větší než 75 %. Nejlepší výsledky vykazuje při léčbě alergií na hmyzí jed a brání vzniku anafylaxe. (Petrů, 2014)

6.1.1 Mechanismus účinku

Mechanismus účinku SAIT není ještě přesně objasněn. Předpokládá se, že je ovlivněna funkce T-regulačních a paměťových T a B lymfocytů. Dochází ke snížení produkce IL-4, IL-5 a IL-13 působením na Th2 lymfocyty a ke zvýšené produkci IL-2 a IFN γ z Th1 lymfocytů. Stoupá koncentrace specifických IgG₄, a naopak je potlačena produkce specifických IgE. SAIT potlačuje životní cyklus eozinofilů, bazofilů a žírných buněk. (Petrů, 2014, Litzman, a další, 2001)

6.1.2 Indikace

„*SAIT je indikována při příznacích alergické rinitidy spojené s konjunktivitidou a průduškového astmatu vyvolané kontaktem s příslušným aeroalergenem a u závažných celkových projevů alergie (anafylaxe) na jed blanokřídlého hmyzu.*“ (Kučera, 2010) Citlivý alergen musí být potvrzen kožním testem nebo laboratorním stanovením specifických IgE na daný alergen a citlivých alergenů nesmí být mnoho. SAIT je indikována, pokud nelze provést eliminaci alergenů. Pacient musí být seznámen se všemi riziky a souhlasit s léčbou. Posouzení vhodnosti specifické alergenové imunoterapie provádí alergolog nebo imunolog. (Litzman, a další, 2001)

6.1.3 Kontraindikace

SAIT nesmí být indikována pacientům s jiným závažným onemocněním, které by zapříčinilo přítomnost nežádoucích účinků. Pokud pacient užívá betablokátory nebo inhibitory ACE, není SAIT vhodná. Dalšími kontraindikacemi je těhotenství, děti mladší pěti let a osoby nad 60 let. Horní věková hranice se nebere v potaz u alergie na hmyzí jed. (Bousquet, a další, 1998)

6.1.4 Postup SAIT

SAIT lze rozdělit podle aplikace alergenu pacientovi na subkutánní nebo sublinguální. Alergeny použité při léčbě jsou standardizované a jsou připravovány z přírodních i umělých zdrojů. Subkutánní léčba je zahájena aplikací vzrůstajících dávek alergenu 1x týdně injekčně do zevní části paže. Po dosažení určité koncentrace alergenu, které je stanoveno výrobcem, je zahájena aplikace udržovací dávky alergenu po dobu 3-5 let. Interval mezi aplikacemi je 4-6 týdnů. Aplikace je prováděna na oddělení imunologie nebo alergologie a z důvodu možnosti vzniku anafylaxe pacient musí setrvat v čekárně po dobu 30 minut od aplikace. Pokud je SAIT prováděna u alergie na pyl, je možnost provést zkrácenou předsezonní aplikaci. (Seberová, 2018)

Druhou možností je aplikace sublinguální, u níž pacient nemusí z důvodu aplikace navštívit lékaře. Tableta obsahující alergen se vkládá pod jazyk. Pacient si tabletu aplikuje sám v domácím prostředí, vyjma první dávky, která je kontrolovaná lékařem z důvodu správné aplikace. Pro účinnost léčby je nejdůležitější dobrá spolupráce pacienta. (Seberová, 2018)

7 IMUNOGLOBULINY

Imunoglobuliny jsou základními složkami podílející se na specifické odpovědi imunitního systému. Jejich mechanismem účinku je neutralizace, opsonizace a aktivace komplementu. Vznikají v plazmatických buňkách, které vznikly z B-lymfocytů. (Strašík, 2014)

7.1 Struktura

Imunoglobuliny jsou tvořeny minimálně jednou základní jednotkou, která je složena z cukerné a aminokyselinové složky. Z toho důvodu jsou imunoglobuliny řazeny mezi glykoproteiny. Podle počtu základních jednotek se můžeme setkat s monomery (jedna základní jednotka) až s pentamery (pět základních jednotek). Obecný tvar monomerní jednotky je tvar do písmene „Y“, který je možné pozorovat pod elektronovým mikroskopem. Imunoglobulin monomer je složen ze dvou lehkých a dvou těžkých řetězců, označovány písmeny L a H. Spojení lehkých a těžkých řetězců je zajištěno disulfidickými můstky. Lehké i těžké řetězce obsahují vždy konstantní domény, které jsou pro jeden typ imunoglobulinů specifické, a variabilní domény. Variabilní doména slouží ke specifické reakci s antigenem a konstantní doména zajišťuje např. aktivaci komplementu. (Lochmanová, 2006)

Typy lehkých řetězců jsou kappa – κ nebo lambda – λ , kdy v jednom imunoglobulinu se nachází vždy jen jeden typ řetězce. U těžkých řetězců je pět typů, podle kterých jsou následně imunoglobuliny rozděleny do pěti tříd. Řetězec α je součástí IgA, γ – IgG, δ – IgD, ϵ – IgE a řetězec μ je obsažen v molekule IgM. Funkce, koncentrace, biologický poločas a lokalizace jednotlivých druhů imunoglobulinů je shrnuta v tabulce 3. (Lochmanová, 2006)

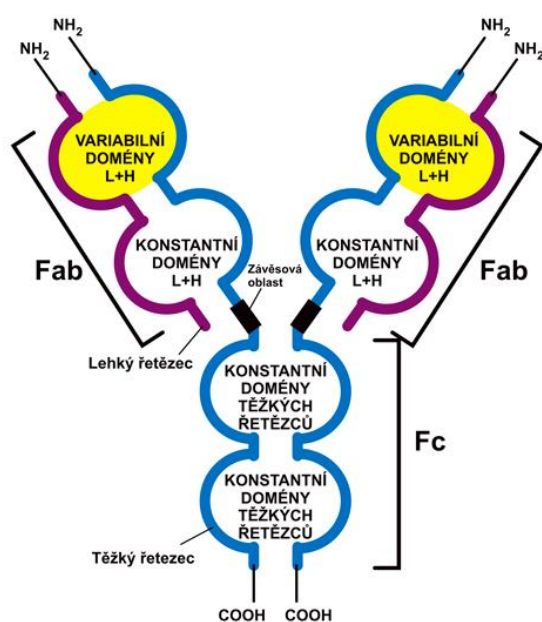
Monomerní jednotka ve své centrální oblasti má tzv. pantovou oblast, která rozděluje molekulu na tři části. První částí je Fc-fragment složený z části obou těžkých řetězců a svým koncem se váže na Fc receptory buněk. Zbylé dvě části jsou označovány Fab-fragmenty, na jejichž konce se váže antigen. Fab-fragment je tvořen celým lehkým řetězcem a částí těžkého řetězce. (Lochmanová, 2006)

Tabulka 3 Typy imunoglobulinů

Typ imunoglobulinu	Obsah v séru (g/l)	Lokalizace	Biologický poločas (dny)	Funkce
IgG	8-18	sérum, intersticiální tekutina	21	opsonizace, neutralizace, přestupuje přes placentu; specifická odpověď
IgA	0,9-3,5	sérum, slzy, sliny, povrch sliznic, mléko	6	opsonizace, ochrana sliznic
IgM	0,9-2,5	sérum, povrch B-buněk	6	aktivace komplementu, nespecifická odpověď, receptor pro antigen
IgD	0,1	sérum, povrch B-buněk	3	receptor pro antigen
IgE	3×10^4	sérum, intersticiální tekutina	2	ochrana proti parazitům

Zdroj: ROKYTA, Richard. *Fyziologie a patologická fyziologie: pro klinickou praxi*. Praha: Grada Publishing, 2015. ISBN 978-80-247-4867-2.

Obrázek 4 Struktura imunoglobulinu



Zdroj: <https://www.wikiskripta.eu/images/e/ef/IMUNOGLOBULIN.png>

8 IMUNOGLOBULINY STANOVOVANÉ PŘI KONTROLE ÚČINNOSTI SAIT

8.1 IgE

Imunoglobuliny třídy IgE jsou produktem B-lymfocytů. Objev IgE protilátek zásadně ovlivnil výzkum alergických onemocnění. V organismu se vyskytuje jako monomer. Zásadní funkci plní IgE při odpovědi na specifický alergen v imunopatologických reakcích, ale také je důležitý při obraně proti parazitárním infekcím. Molekulová hmotnost jedné molekuly IgE je $190\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. (Stites, a další, 1994)

8.1.1 Struktura

IgE je složen z dvojice lehkých a těžkých řetězců, v tomto případě řetězce epsilon-ε. Každá z dvojic je strukturně totožná. Disulfidické vazby v Ig spojují tzv. imunoglobulinové domény tvořeny stovkou aminokyselin. Každý lehký i těžký řetězec obsahuje vždy jednu variabilní a jednu N-terminální doménu. Rozdílný je počet konstantních domén, kdy u lehkého řetězce je pouze jedna, kdežto těžký řetězec obsahuje čtyři konstantní domény. IgE se svým Fc fragmentem váže na vysokoafinitní receptor FcεRI, který je lokalizován na žírných buňkách. Na opačné straně molekuly Ig se na Fab zakončení, složené z variabilních domén lehkého i těžkého řetězce, může vázat antigen. Jelikož IgE obsahuje dvě Fab zakončení, je umožněno navázání dvou antigenů. (Stites, a další, 1994, Šterzl, 2007)

8.1.2 Syntéza

Syntézu IgE zajišťují B-lymfocyty, kde dochází k izotypovému přesmyku. Tento proces je ovlivňován poměrem koncentrací cytokinů, vážící se na receptory na B-lymfocytech. IL-4, IL-5 a IL-13, které jsou produkovány Th2 lymfocyty ovlivňující pozitivně tvorbu IgE. Izotypový přesmyk je inhibován IFN-γ, který je produktem Th1 lymfocytů. „*K izotypovému přesmyku je však nutná kooperace T a B lymfocytů prostřednictvím ligandu CD40 na T lymfocytech a molekula CD40 na B lymfocytech.*“ (Šterzl, 2007)

Schopností B-lymfocytů je možnost aktivace Th2 lymfocytů a zvýšená produkce IgE. Tato schopnost je umožněna díky prezentaci antigenu za pomoci IgE protilátek. Pokud dojde ke zvýšené tvorbě protilátek třídy IgE, dochází u pacienta k lokálním i systémovým projevům alergie nebo u parazitárních onemocnění. Koncentrace IgE je ovlivněna v největší míře alergenem, a to jeho koncentrací, místem vstupu do organismu a četností vystavení danému alergen. (Šterzl, 2007)

8.2 IgG₄

Imunoglobuliny třídy IgG₄ jsou izotopovou podtřídou nejhodněji se vyskytujícími IgG. Fyziologická koncentrace IgG₄ v séru je 0,01-1,0 g/l, což odpovídá 2-6 % z celkových Ig. IgG₄ imunoglobulin není schopen aktivace komplementu klasickou cestou, ale pro aktivaci komplementu využívá cesty alternativní. Imunodeficiencie IgG₄ a IgG₂ se vyskytuje u osob s autoimunitními poruchami nebo u pacientů s opakovanými infekcemi a ataxií s teleangiectaziemi. Domnívá se, že IgG₄ jsou schopny vazby na mastocyty, ale není doposud známo, s jakou afinitou jsou schopny vazby. V publikacích se uvádí že IgG₄ hrají svou roli při vzniku anafylaktického šoku, ale tyto domněnky nejsou potvrzeny. IgG₄ jsou považovány za ochranné protilátky uplatňující se při SAIT a koncentrace specifických IgG₄ na daný alergen je stanovována jako kontrola účinnosti léčby. Během SAIT dochází k izotypovému přesmyku a dochází k produkci IgG₄ místo IgE. Domnívá se, že IgG₄ jsou produktem paměťových B-lymfocytů. (Stites, a další, 1994, Hořejší, a další, 2009, Špičák, a další, 2004, Chapel, a další, 2018)

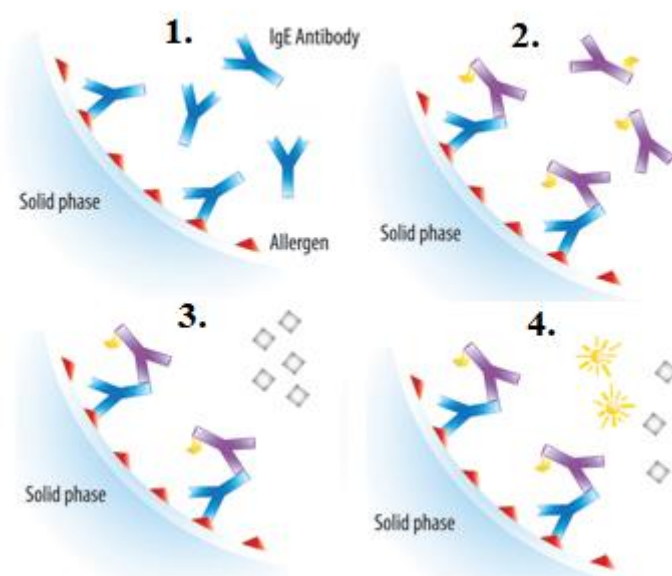
9 STANOVENÍ SPECIFICKÝCH IGE A IGG4 METODOU IMMUNOCAP

Metoda ImmunoCAP pro stanovení specifických IgE a IgG₄ je systém pro in vitro kvantitativní měření specifického Ig v klinických laboratořích na alergen v lidském séru nebo plazmě. Stabilita vzorku je jeden týden při teplotě 2-8 °C. Je určen k diagnostickému použití in vitro při klinické diagnostice alergických poruch zprostředkovaných IgE ve spojení s dalšími klinickými nálezy. Metoda ImmunoCAP se využívá na přístrojích Phadia 100, 200, 250, 1000, 2500 a 5000. (Phadia)

9.1.1 Princip

Metoda ImmunoCAP využívá pro stanovení specifických Ig ve vzorku imunochemické metody na principu sendvičové fluoroenzymoimunoanalýzy, která je založena na reakci antigen-protilátka viz obrázek 5. Výsledná koncentrace specifických Ig je určena pomocí hodnoty fluorescence metodou kalibrační křivky. Specifické alergeny jsou kovalentně vázány na pevnou fázi tvořenou hydrofilním derivátem celulózy, na který se kovalentně váže a nedochází ke změně struktury alergenu. (Thermo, 2012)

Obrázek 5 Metoda ImmunoCAP



Zdroj:<http://www.recaptulandodigital.com.br/en-GB/5/Products/ImmunoCAP-Assays/1/Test-Principle-ImmunoCAP-Specific-IgE/>

PRAKTICKÁ ČÁST

10 CÍL A ÚKOL PRÁCE

10.1 Hlavní cíl

Zjistit, k jakým změnám dochází v hladinách specifických protilátek třídy IgE a IgG₄ u pacientů během specifické alergenové imunoterapie na vosí jed. Vytvořit grafy za pomoci boxplotů a z důvodu neparametrické metody statisticky zhodnotit případný pokles či nárůst hladin specifických protilátek pomocí Wilcoxoova testu. Potvrdit či vyvrátit ochranou funkci specifických IgG₄.

10.2 Výzkumné otázky

- 1) Jaké jsou změny u stanovení specifických IgE na alergen I3 v průběhu specifické alergenové imunoterapie?
- 2) Jaké jsou změny u stanovení specifických IgE na alergen rVes v 5 v průběhu specifické alergenové imunoterapie?
- 3) Jaké jsou změny u stanovení specifických IgE na alergen rVes v 1 v průběhu specifické alergenové imunoterapie?
- 4) Jaké jsou změny u stanovení specifických IgG₄ na alergen I3 v průběhu specifické alergenové imunoterapie?
- 5) Jaké jsou změny u stanovení specifických IgG₄ na alergen rVes v 5 v průběhu specifické alergenové imunoterapie?
- 6) Jaké jsou změny u stanovení specifických IgG₄ na alergen rVes v 1 v průběhu specifické alergenové imunoterapie?

11 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU

Sledován byl soubor 87 pacientů, u nichž byla indikována specifická alergenová imunoterapie na vosí jed. Soubor zahrnuje obě pohlaví. U každého patientského vzorku byla stanovena hladina specifických protilátek třídy IgE a IgG₄ imunochemickou metodou, kde byly vždy použity alergeny I3, I209 a I211 pro každou třídu Ig. Stanovení probíhalo vždy jednou ročně, poprvé před zahájením SAIT a naposledy rok od ukončení SAIT na vosí jed.

12 METODIKA PRÁCE

12.1 Stanovení specifických IgE a IgG₄ na přístroji Phadia 250 metodou ImmunoCAP

Pro stanovení specifických IgE a IgG₄ byl využit přístroj Phadia 250 na Ústavu imunologie a alergologie Fakultní nemocnice Plzeň.

12.1.1 Vybavení a materiál

Biologický materiál: Krevní sérum

Pomůcky:

Phadia 250

Chemikálie:

Ultračistá voda, Set ImmunoCAP™ Specific IgE, IgG₄, ImmunoCAP Allergen i3, ImmunoCAP Allergen component rVes v 5 (I209), ImmunoCAP Allergen component rVes v 1 (I211)

12.1.2 Postup

Postup byl vždy stejný, ať se jednalo o patientský vzorek, kontrolu či kalibrátor. Vzorek od jednoho pacienta byl stanoven celkem šestkrát. Rozdíl v postupu u každého vzorku byl v použitém specifickém alergenu a v sekundární protilátce. První stanovení v kombinaci alergenu I3 a protilátce proti specifickému IgE. Druhé stanovení v kombinaci alergenu rVes v 5 a protilátce proti specifickému IgE. Třetí stanovení v kombinaci alergenu rVes v 1 a protilátce proti specifickému IgE. Čtvrté stanovení v kombinaci alergenu I3 a protilátce proti specifickému IgG₄. Páté stanovení v kombinaci alergenu rVes v 5 a protilátce

proti specifickému IgG₄ a šesté stanovení v kombinaci alergenu rVes v 1 a protilátce proti specifickému IgG₄. (Phadia)

- Do měřicí kyvety byla vložena pevná fáze složená z polymeru celulózy a specifického alergenu.
- Bylo napipetováno 40 µl vzorku do měřicí kyvety.
- Po inkubaci, během které došlo k navázání specifického Ig, byla kyveta promyta z důvodu odstranění nenavázaného nespecifického Ig ve vzorku.
- Do kyvety bylo přidáno 50 µl konjugátu, který obsahoval sekundární protilátku proti navázanému Ig, která byla značena enzymem. Sekundární protilátka vytvořila komplex.
- Po inkubaci se provedlo promytí, aby se odstranila nenavázaná sekundární protilátka značená enzymem.
- Bylo přidáno 50 µl vývojového roztoku.
- Po přesně definovaném čase se přidalo 600 µl stop roztoku a následně byla změřena hodnota fluorescence.

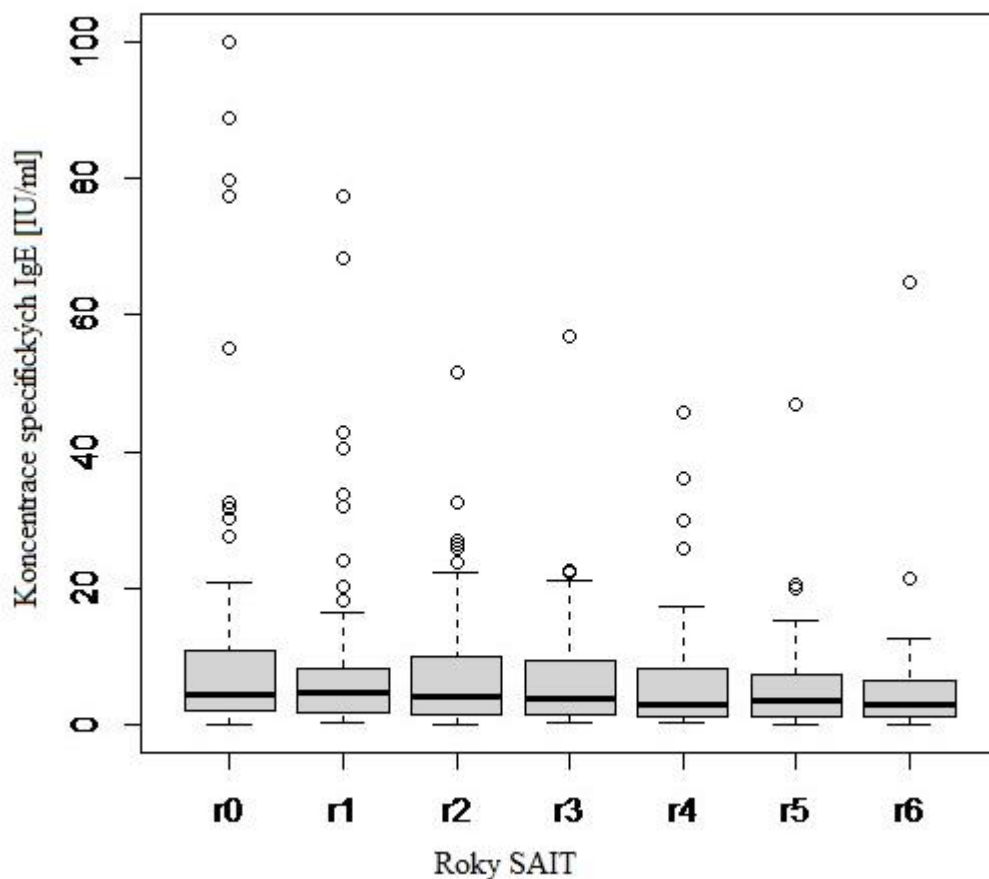
Výsledná koncentrace specifického Ig ve vzorku byla zjištěna metodou kalibrační křivky podle hodnoty naměřené fluorescence. Kalibrační křivka je vytvořena z hodnot získaných stanovením fluorescence u vzestupných koncentrací kalibrátorů a následném proložení bodů. (Phadia)

13 VÝSLEDKY

Stanovení hladiny specifických IgE a IgG₄ u pacientů s indikací ke specifické alergické imunoterapii na vosí jed bylo provedeno vždy jednou ročně před, během i rok po ukončení SAIT. Pro stanovení specifických Ig byly využity alergeny I3, I209 (rVes v 5) a I211 (rVes v 1) a měření probíhalo na přístroji Phadia 250 za pomoci imunochemické metody. Jako kontroly byly využity činidla, která byla součástí setu. Jednalo se o negativní kontrolu, kontrolu nízké hladiny Ig, kontrolu střední hladiny Ig a kontrolu vysoké hladiny Ig. Výsledné hodnoty kontrol musely vždy spadat do určitého rozmezí, aby mohly být výsledky dále interpretovány. Získaná data byla zpracována v programu Microsoft Excel a následně pomocí programu R byly vytvořeny grafy s boxploty a provedeno statistické zhodnocení Wilcoxonovým testem.

13.1 Změny v hladinách IgE

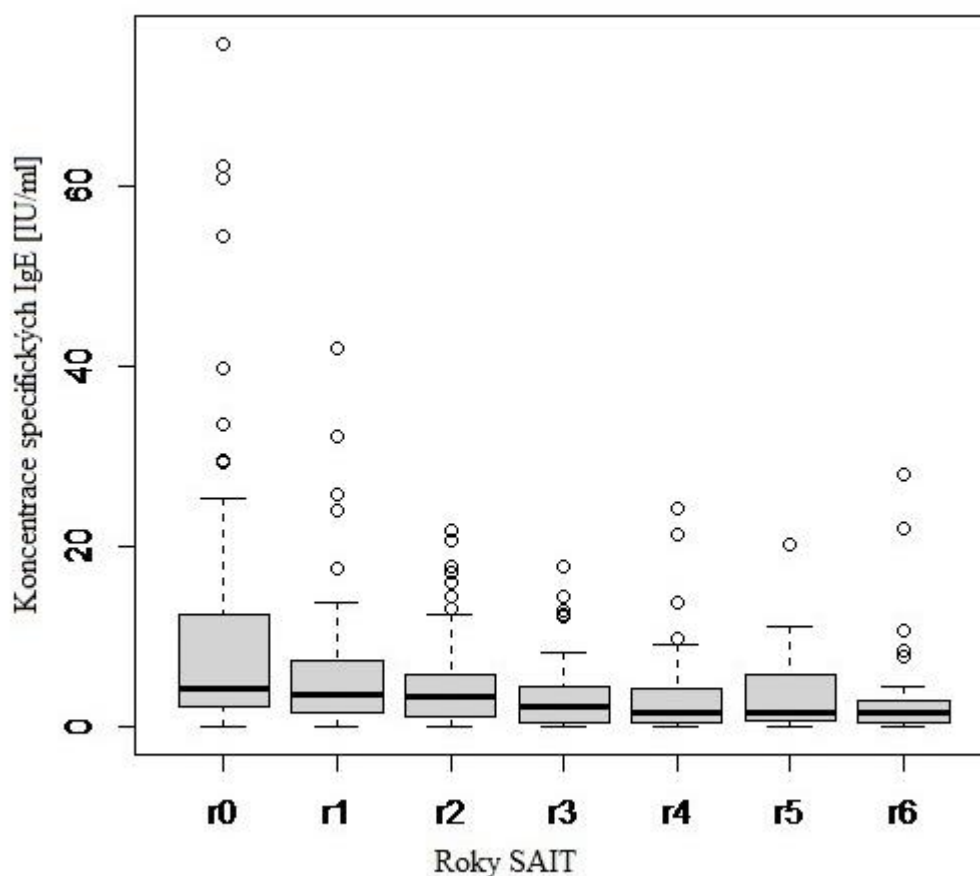
Graf 1 Boxploty koncentrací specifických IgE na alergen I3



Zdroj: Vlastní

Graf tvořen boxploty s koncentracemi specifických IgE na alergen vosího jedu I3 pro jednotlivé roky specifické alergenové imunoterapie. Graf poukazuje na pokles specifických IgE v průběhu 5let SAIT a následné ustálení koncentrací.

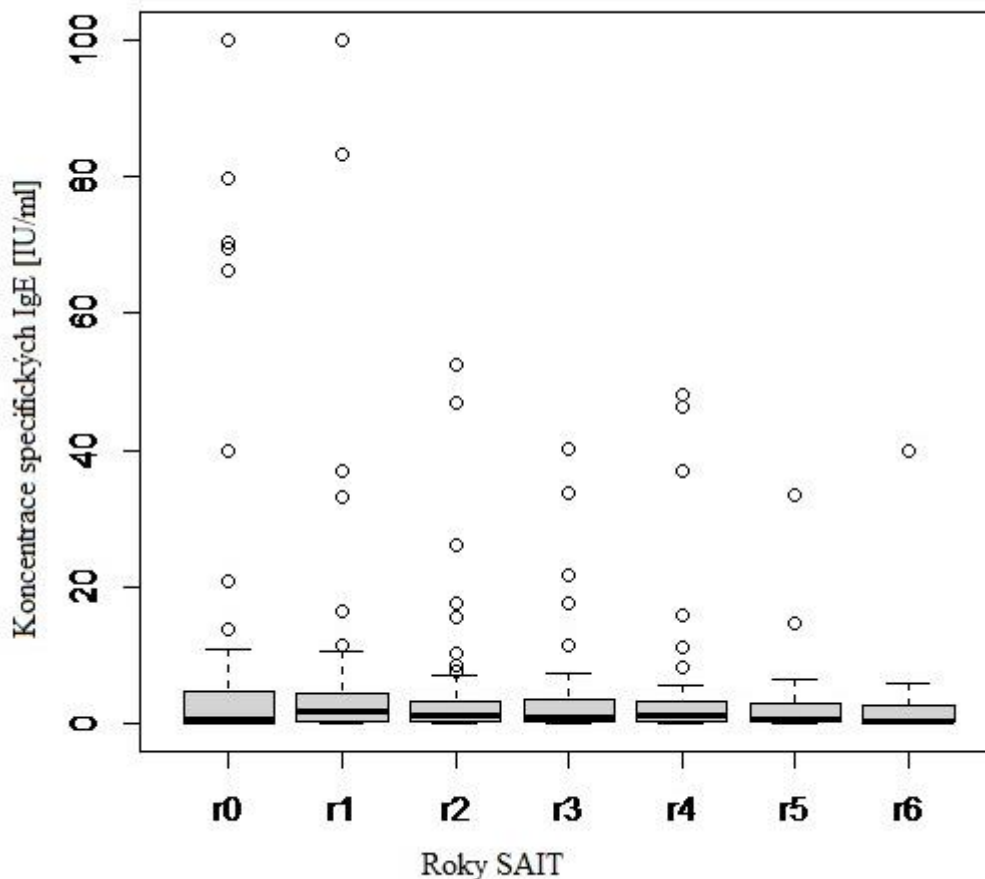
Graf 2 Boxploty koncentrací specifických IgE na alergen I209



Zdroj: Vlastní

Graf je tvořen boxploty s koncentracemi specifických IgE na rekombinantní alergen I209, který je součástí vosího jedu, pro jednotlivé roky specifické alergenové imunoterapie. Graf poukazuje na pokles specifických IgE v průběhu 5let SAIT a následný vzestup po jejím ukončení.

Graf 3 Boxploty koncentrací specifických IgE na alergen I211

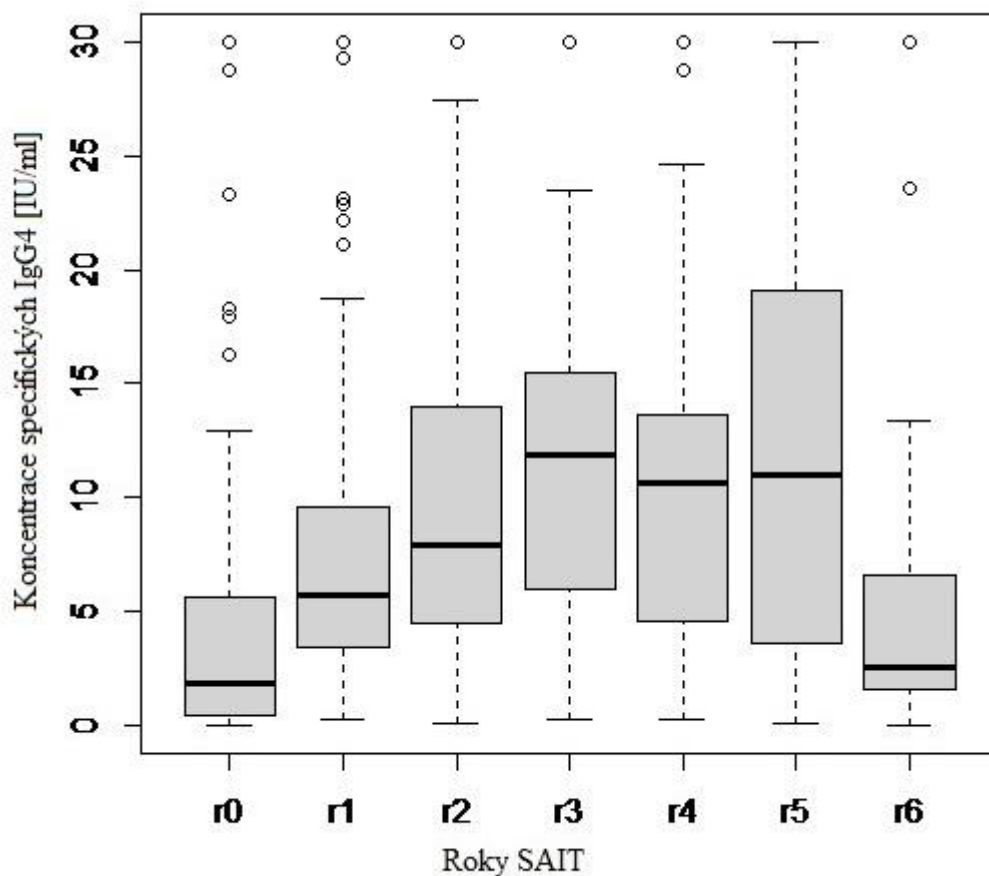


Zdroj: Vlastní

Graf je tvořen boxploty s koncentracemi specifických IgE na rekombinantní alergen I211, který je součástí vosího jedu, pro jednotlivé roky specifické alergenové imunoterapie. Graf poukazuje na změny v koncentracích specifických IgE v průběhu 5let SAIT.

13.2 Změny v hladinách IgG₄

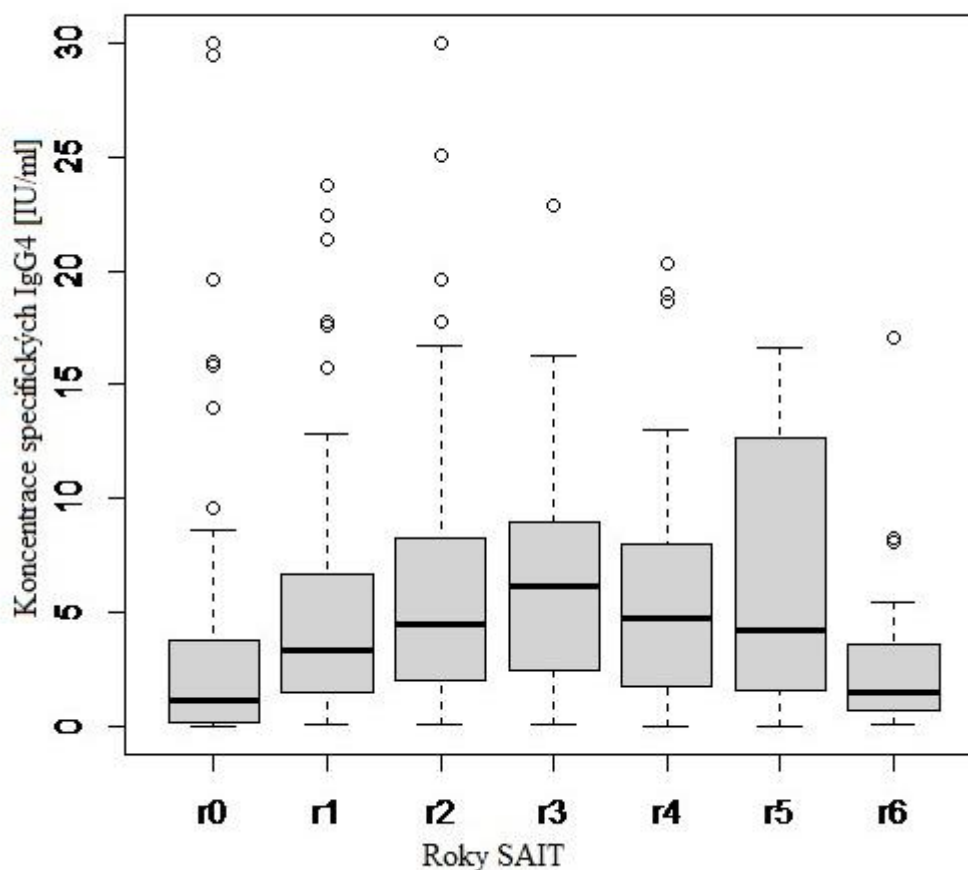
Graf 4 Boxploty koncentrací specifických IgG₄ na alergen I3



Zdroj: Vlastní

Graf je tvořen boxploty s koncentracemi specifických IgG₄ na alergen vosího jedu I3 pro jednotlivé roky specifické alergenové imunoterapie. Graf poukazuje na vzestup specifických IgG₄ v průběhu 5let SAIT a následný významný pokles po jejím ukončení.

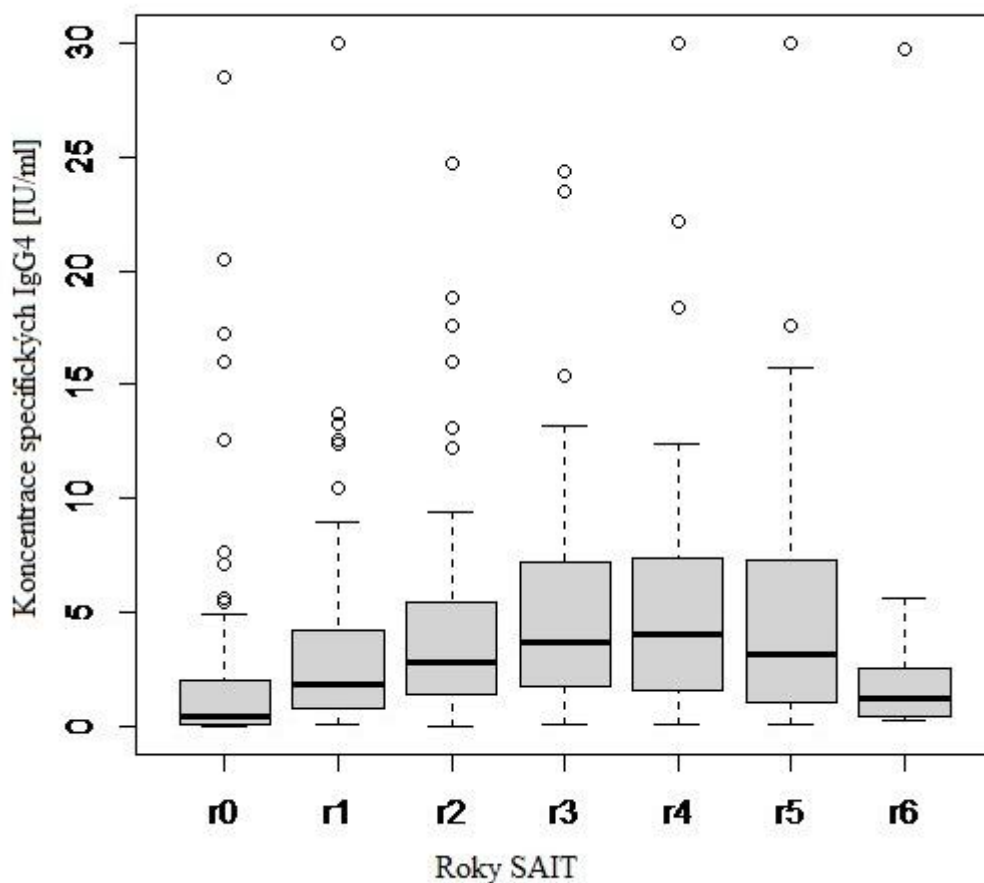
Graf 5 Boxploty koncentrací specifických IgG₄ na alergen I209



Zdroj: Vlastní

Graf je tvořen boxploty s koncentracemi specifických IgG₄ na rekombinantní alergen I209, který je součástí vosího jedu, pro jednotlivé roky specifické alergenové imunoterapie. Graf poukazuje na vzestup specifických IgG₄ v průběhu SAIT a následný pokles během posledních let léčby a významný pokles po jejím ukončení.

Graf 6 Boxploty koncentrací specifických IgG₄ na alergen I211



Zdroj: Vlastní

Graf je tvořen boxploty s koncentracemi specifických IgG₄ na rekombinantní alergen I211, který je součástí vosího jedu, pro jednotlivé roky specifické alergénové imunoterapie. Graf poukazuje na vzestup specifických IgG₄ v průběhu SAIT a následný pokles po jejím ukončení.

14 STATISTICKÉ ZHODNOCENÍ

Pro statistické zhodnocení byl využit program Microsoft Excel a program R. Protože výsledky stanovení nebyly Gaussově rozmístěny, ale jednalo se o nerovnoměrné rozmístění, bylo použito hodnocení pro neparametrické metody, využívající mediány, rozdíly mediánů a Wilcoxonův statistický test, který porovnává rozdíly mediánů a dle kterého lze určit, zda se jedná o statisticky významné hodnoty.

Tabulka 4 Statistické hodnocení pro koncentrace specifických IgE na alergen I3

Roky SAIT	R0	R1	R2	R3	R4	R5	R6
Medián	4,476	4,596	4,196	3,915	2,860	3,626	2,820
Δ mediánů (r0 – rx)	-----	-0,119	0,280	0,561	1,616	0,851	1,656
P-value	-----	0,5316	0,4949	0,2461	0,09243	0,07152	0,07083

Zdroj: Vlastní

Tabulka 5 Statistické hodnocení pro koncentrace specifických IgE na alergen I209

Roky SAIT	R0	R1	R2	R3	R4	R5	R6
Medián	4,295	3,460	3,230	2,245	1,530	1,630	1,660
Δ mediánů (r0 – rx)	-----	0,835	1,065	2,050	2,765	2,665	2,635
P-value	-----	0,1017	0,01001	$3,111 \cdot 10^{-4}$	$1,574 \cdot 10^{-4}$	$1,659 \cdot 10^{-4}$	$2,652 \cdot 10^{-4}$

Zdroj: Vlastní

Tabulka 6 Statistické hodnocení pro koncentrace specifických IgE na alergen I211

Roky SAIT	R0	R1	R2	R3	R4	R5	R6
Medián	0,621	1,611	1,210	0,780	1,280	0,610	0,360
Δ mediánů (r0 – rx)	-----	-0,990	-0,589	-0,159	-0,659	0,011	0,261
P-value	-----	0,09031	0,1837	0,2709	0,3632	0,9229	0,8265

Zdroj: Vlastní

Tabulka 7 Statistické hodnocení pro koncentrace specifických IgG₄ na alergen I3

Roky SAIT	R0	R1	R2	R3	R4	R5	R6
Medián	1,830	5,710	7,880	11,900	10,650	11,000	2,580
Δ mediánů (r0 – rx)	-----	-3,880	-6,050	-10,070	-8,820	-9,170	-0,750
P-value	-----	2,454.10 ⁻⁶	5,614.10 ⁻⁹	6,462.10 ⁻¹⁰	2,032.10 ⁻⁸	3,175.10 ⁻⁶	0,1196

Zdroj: Vlastní

Tabulka 8 Statistické hodnocení pro koncentrace specifických IgG₄ na alergen I209

Roky SAIT	R0	R1	R2	R3	R4	R5	R6
Medián	1,100	3,350	4,500	6,170	4,765	4,260	1,450
Δ mediánů (r0 – rx)	-----	-2,250	-3,400	-5,070	-3,665	-3,160	-0,350
P-value	-----	3,776.10 ⁻⁵	1,906.10 ⁻⁶	9,73.10 ⁻⁷	2,143.10 ⁻⁴	2,213.10 ⁻⁴	0,2218

Zdroj: Vlastní

Tabulka 9 Statistické hodnocení pro koncentrace specifických IgG₄ na alergen I211

Roky SAIT	R0	R1	R2	R3	R4	R5	R6
Medián	0,406	1,861	2,831	3,720	4,000	3,160	1,210
Δ mediánů (r0 – rx)	-----	-1,456	-2,425	-3,315	-3,595	-2,755	-0,805
P-value	-----	1,257.10 ⁻⁶	1,298.10 ⁻⁸	2,331.10 ⁻⁹	7,437.10 ⁻⁸	1,372.10 ⁻⁶	0,00644

Zdroj: Vlastní

DISKUZE

Cílem této bakalářské práce je zjistit, zda v průběhu léčby a následně rok po ukončení specifické alergenové imunoterapie cílené na vosí jed dochází ke změnám v koncentracích specifických IgE a IgG₄ oproti hodnotám stanovených před zahájením léčby. Stanovení specifických imunoglobulinů bylo provedeno imunochemickou metodou ImmunoCAP, kde sekundární protilátka byla značena enzymem a následně po přidání činidla se změřila hodnota fluorescence. Pro stanovení byl využit přístroj Phadia 250.

Z každého odebraného vzorku jsme získali 6 hodnot koncentrací, z nichž první polovinu pro IgE a zbylou část pro IgG₄. Jednotlivé imunoglobuliny byly stanoveny vždy s využitím alergenu I3 a dvojicí rekombinantních alergenů I209 (rVes v 5) a I211 (rVes v 1), jež jsou součástí vosího jedu.

Stanovení bylo provedeno u 87 vzorků od pacientů, kteří byli indikováni k léčbě alergie na vosí jed. Od každého pacienta byl vždy jedenkrát ročně odebrán vzorek krve a následně byly stanoveny koncentrace specifických Ig. Takto byly hodnoty shromažďovány po dobu sedmi let a poté byly zpracovány a statisticky zhodnoceny, zda změny, ke kterým došlo, jsou pro nás statisticky významnými.

Koncentrace specifických IgE při reakci s alergenem I3 vykazovala v prvním roce léčby mírný nárůst, ale v dalších letech byl již pozorován patrný pokles koncentrace. Statisticky se významnosti přibližovaly hodnoty až od čtvrtého roku SAIT.

Při stanovení specifických IgE na rekombinantní alergen I209 (r Ves v 5) byl pozorován pokles koncentrací a v posledním roce SAIT a rok po ukončení léčby hodnota stagnovala. Statisticky významných hodnot bylo dosaženo již po dvou letech od zahájení léčby SAIT.

Změny koncentrací specifických IgE na rekombinantní alergen I211 (rVes v 1) po prvním roce vykazovaly vzestup a následně, vyjma čtvrtého roku SAIT, byl pozorován pokles i rok od ukončení léčby. Z pohledu statistické významnosti nebyla žádná hodnota statisticky významná.

Studie, jež se zabývala obecně alergenovou imunoterapií, popisuje nárůst koncentrace specifických IgE v první fázi léčby a následný pokles v průběhu dalších let SAIT. Nárůst koncentrace specifických IgE je popisován v mnoha studiích. Je způsoben aktivací imunitních mechanismů z důvodu podávání vzrůstající dávky alergenu. Po určité době dochází k izopovému přesmyku a dochází k produkci specifických IgG₄ místo IgE. Se stejnými

změnami jsme se setkali při stanovení specifických IgE na alergen I3 a alergen I211. (Frew, 2010, Durham, a další, 1998)

Pokud jsme se zaměřili na změny v koncentracích specifických IgG₄ na alergen I3, pozorovali jsme vzestup koncentrací a její následné ustálení v dalších letech léčby. Rok po ukončení SAIT byl patrný pokles koncentrace specifických IgG₄. Vyjma tohoto roku se jednalo o statisticky významné hodnoty.

V koncentracích specifických IgG₄ na rekombinantní alergen I209 (rVes v 5) jsme pozorovali vzestup během první poloviny SAIT a následně došlo k mírnému poklesu, který se ustálil. Rok po ukončení léčby došlo k poklesu specifických IgG₄. Vyjma tohoto roku se jednalo o statisticky významné hodnoty.

Poslední pozorované změny byly v koncentracích specifických IgG₄ na rekombinantní alergen I211 (rVes v 1). V průběhu SAIT byl patrný vzestup koncentrací, vyjma posledního roku léčby, kde došlo k mírnému poklesu. Rok po léčbě koncentrace IgG₄ výrazně poklesla. Všechny hodnoty byly statisticky významné, kromě hodnoty po ukončení SAIT, kde se ale hodnota velmi přibližovala statistické významnosti.

Jedna teorie uvádí, že alergenově specifické IgG₄ soutěží o vazebné místo se specifickým IgE na povrchu alergenu a dochází tak k zabránění aktivace mastocytů a následnému uvolnění histaminu. Jiná studie popisuje, že specifické IgG₄ nesoutěží o místo, ale blokují vazbu IgE na alergen břízy a produkce histaminu z mastocytů zůstává nezměněna. (Durham, a další, 1998)

Studie zabývající se specifickou alergenovou imunoterapií na jed blanokřídlého hmyzu uvádí, že v hladinách specifických IgE byl pozorován pokles koncentrací, naopak v hladinách specifických IgG₄ vzestup koncentrací. Při porovnání s námi získanými výsledky můžeme říci, že se z velké části shodovaly, ale nacházíme zde i rozdíly. (Santos, a další, 2001)

Rodriguez, a další v roce 2015 publikovali studii, v níž popisují alergenovou imunoterapii u dětí mladších 4 let. Popisují zásadní nárůst koncentrací specifických IgG₄, ale v hladinách specifických IgE nebyly výrazně ovlivněny, pouze léčba na kočičí alergen vykazovala pokles hladin. Změny, ke kterým dochází v průběhu SAIT, jsou velice ovlivněny věkem pacienta a také alergenem, na který je léčba cílena. (Rodriguez, a další, 2015)

ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo zjistit, zda dochází ke změnám v koncentracích specifických IgE a IgG₄ u pacientů s alergií na vosí jed, kteří jsou indikováni k léčbě specifickou alergenovou imunoterapií. Z naměřených hodnot vytvořit grafy a případné změny popsat a následně statisticky zhodnotit Wilcoxonovým statistickým testem.

Pokud bychom se zaměřili na specifické IgE na vosí jed, tak nejlepších výsledků se nám podařilo dosáhnout při reakci na rekombinantní alergen rVes v 5. Statistické zpracování významnost změn potvrdilo. Koncentrace specifických IgG₄ dosahovala nejlepších změn při stanovení na alergen I3, kde došlo k rychlému nárůstu koncentrací. Po ukončení léčby hladina IgG₄ mírně klesla, ale koncentrace před zahájením léčby byla stále nižší. Z toho můžeme usoudit, že hladina specifických IgG₄ je závislá na aplikovaném alergenu. Z výsledků vyplývá, že specifické IgG₄ mohou mít ochrannou funkci.

Léčba SAIT vykazuje u většiny pacientů stejných výsledků, avšak setkáváme se i s případy, kdy není léčba účinná. Účinnost závisí na mnoha enviromentálních faktorech včetně genetické predispozice a věku pacienta.

Výsledkem této práce je, že v hladinách specifických IgE dochází vlivem specifické alergenové imunoterapie k poklesu a u specifických IgG₄ pozorujeme nárůst koncentrací. Stanovení specifických imunoglobulinů můžeme využít pro potvrzení pozitivity či negativity kožního testu, ale jedná se o finančně nákladnou metodu, proto je významnější stanovení specifických imunoglobulinů pro kontrolu léčby specifické alergenové imunoterapie.

SEZNAM LITERATURY

AKDIS, Cezmi A., Ioana AGACHE, Anthony J. FREX a Pascal DEMOLY. *Global Atlas of Allergy* [online] Zurich: European Academy of Allergy and Clinical Immunology, 2014. [cit. 2021-02-03]. Dostupné z: <http://www.eaaci.org/globalatlas/GlobalAtlasAllergy.pdf>

ANON. *ProLékaře* [online]. [cit. 2021-01-06]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/kreditovane-kurzy/alergenova-imunoterapie-v-lecbe-inhalacnich-alergii-107019/alergenova-imunoterapie-v-lecbe-inhalacnich-alergii>.

BOUSQUET, J, R LOCKEY a H MALLING. Allergen immunotherapy: Therapeutic vaccines for allergic diseases A WHO position paper☆☆☆★★★◇. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. 1998, **102**(4), 558-562 [cit. 2021-02-02]. ISSN 00916749. Dostupné z: doi:10.1016/S0091-6749(98)70271-4

BYSTRONĚ, Jaromír. Antihistaminika v léčbě alergického zánětu. *Remedia*. 2014, **24**(4), 272-278. ISSN 0862-8947.

DURHAM, Stephen R. a Stephen J. TILL. Immunologic changes associated with allergen immunotherapy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. 1998, **102**(2), 157-164 [cit. 2021-02-08]. ISSN 00916749. Dostupné z: doi:10.1016/S0091-6749(98)70079-X

FERENČÍK, Miroslav, Jozef ROVENSKÝ, Yehuda SHOENFELD a Vladimír MAŤHA. *Imunitní systém: informace pro každého*. Praha: Grada Publishing, 2005. ISBN 978-80-247-1196-6.

FREW, Anthony J. Allergen immunotherapy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. 2010, **125**(2), S306-S313 [cit. 2021-01-12]. ISSN 00916749. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaci.2009.10.064

CHAPEL, Helen, Mansel HAENEY, Siraj A. MISBAH a Neil SNOWDEN. *Základy klinické imunologie: 6. vydání*. Přeložil Vojtěch THON. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, [2018]. ISBN 978-80-7553-396-8

HOŘEJŠÍ, Václav a Jiřina BARTUŇKOVÁ. *Základy imunologie*. 4. vyd. Praha: Triton, 2009. ISBN 978-80-7387-280-9.

JANŮ, Veronika, Šárka KOPELTOVÁ a Petr KUČERA. *Stanovení senzibilizace na rekombinantní alergeny* [online]. Praha: Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, 2012 [cit. 2021-03-08]. Dostupné z: <http://www.imulab.cz/upload/LI2012/4.Stanoveni%20senzibilizace%20na%20rekombinantni%20alergeny.pdf>

KOPŘIVA, František. *Chronický eozinofilní zánět a asthma bronchiale*. Praha: Maxdorf, 2003. ISBN 80-85912-73-2.

KREJSEK, Jan a Otakar KOPECKÝ. *Klinická imunologie*. [Hradec Králové]: Nucleus HK, 2004. ISBN 80-86225-50-x.

KUČERA, Petr. *Alergenová imunoterapie – praktické aspekty*. 2010, **7**(4), 174-176. ISSN 1214-8687.

LITZMAN, Jiří, Pavel KUKLÍNEK a Ondřej RYBNÍČEK. *Alergologie a klinická imunologie*. Brno: Vydavatelství IDVPZ, 2001. ISBN 80-7013-345-7.

LOCHMANOVÁ, Alexandra. *Základy imunologie*. Ostrava: Ostravská univerzita, Zdravotně sociální fakulta, 2006. ISBN 80-7368-153-6.

LUKÁŠ, Karel, Jiří HOCH a kolektiv. *Nemoci střev*. Praha: Grada Publishing, 2018. ISBN 978-80-247-1334-2.

NOVOTNÁ, Bronislava a Jiří NOVÁK. *Alergie a astma: v těhotenství, prevence v dětství*. Praha: Grada Publishing, 2012. ISBN 978-80-247-8283-6.

OCHOTNÁ, Jitka, Martin LIŠKA a Petr PANZNER. *Základy alergologie a klinické imunologie pro studenty lékařských fakult - IV.část*. [Online] 2015, [cit. 2021-01-30] Dostupný z www: <https://mefanet.lfp.cuni.cz/clanky.php?aid=495>. ISSN 1804-4409.

PAWANKAR, Ruby, Giorgie Walter CANONICA, Stephen T. HOLGATE a Richard F. LOCKEY. *World Allergy Organization (WAO) white book on allergy*. United Kingdom: WAO, 2011. ISBN 978-06-154-6182-3.

PETRŮ, Vít. *Specifická alergenová imunoterapie u dětí*. *Pediatr. praxi*. 2014, **15**(1), 22-24. ISSN 1213-0494.

PHADIA. *ImmunoCAP Specific IgE* [online]. [cit. 2021-02-06]. Dostupné z: <https://dfu.phadia.com/Data/Pdf/56cb2b6389c23251d0d2b2ff.pdf>.

RODRIGUEZ, Daniel, Gabriele DE VOS a Keshav ACHAR. Changes in Allergen Specific IgG4 and IgE after Subcutaneous Immunotherapy in Children Under 4 Years of Age. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. 2015, **135**(2) [cit. 2021-03-31]. ISSN 00916749. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaci.2014.12.1639

ROKYTA, Richard. *Fyziologie a patologická fyziologie: pro klinickou praxi*. Praha: Grada Publishing, 2015. ISBN 978-80-247-4867-2.

SANTOS, M.C.Pereira, M.L.Palma CARLOS, E PEDRO, M.Branco FERREIRA, A SPINOLA a A.G.Palma CARLOS. Specific immunotherapy with hymenoptera venom. *Clinical and Applied Immunology Reviews* [online]. 2001, **1**(3-4), 249-253 [cit. 2021-01-15]. ISSN 15291049. Dostupné z: doi:10.1016/S1529-1049(01)00013-7

SEBEROVÁ, Ester. Specifická alergenová imunoterapie – jediná kauzální léčba alergických chorob. *Remedia*. 2018, **28**(6), 542-549. ISSN 0862-8947.

SOUČEK, Miroslav a kolektiv. *Vnitřní lékařství*. Praha: Grada Publishing, 2011. ISBN 978-80-247-7559-3.

STITES, Daniel P. a Abba I. TERR. *Základní a klinická imunologie*. Praha: Victoria Publishing, 1994. ISBN 80-85605-37-6.

STRAŠÍK, Slavomír. Imunoglobuliny a jejich terapeutické použití. *Praktické lékařství*. 2014, **10**(6), 233-237. ISSN 1801-2434.

ŠPIČÁK, Václav a Petr PANZNER. *Alergologie*. Praha: Galén, 2004. ISBN 80-246-0846-4.

ŠTERZL, Ivan. *Základy imunologie pro zubní a všeobecné lékaře*. Praha: Karolinum, 2007. ISBN 978-80-246-0972-0.

THERMO. Princip testu ImmunoCAP specifický IgE. *Thermo, Scientific Fisher Inc.* [online]. 2012 [cit. 2021-02-10]. Dostupné z: <http://www.recaptulandodigital.com.br/en-GB/5/Products/ImmunoCAP-Assays/1/Test-Principle-ImmunoCAP-Specific-IgE/>

THON, Vojtěch. *Rekombinantní alergeny*, Brno: Masarykova univerzita [online]. 2007 [cit. 2021-03-09] Dostupné z: <https://www.masa.cz/media/files/pyly2007-13.pdf>

TOMČALOVÁ, Žaneta. Alergie – současné terapeutické možnosti. *Pediatr. praxi*. 2014, **15**(5), 280-286. ISSN 1213-0494.