

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2018

Alena Kolářová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Vývoj potravinové alergie v prenatálním období

Alena Kolářová

Bakalářská práce

2018

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2017/2018

## **ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Alena Kolářová**  
Osobní číslo: **C15412**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Název tématu: **Vývoj potravinové alergie v prenatálním období**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### **Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :**

V dostupné literatuře se seznámte s tématem potravinové alergie. Vypracujte rešerši podle osnovy:

- Imunologické mechanismy alergického zánětu u potravních alergenů
- Potravinové alergeny, definice, rozdělení
- Vývoj imunitních mechanismů v prenatálním období
- Diagnostika potravinové alergie a intolerance

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Seznam odborné literatury: literatura mladší 10 let, doporučené databáze, např.**

**<http://isiknowledge.com/>, <http://www.pubmed.gov>;**

**<http://www.sciencedirect.com/>; <http://scholar.google.cz>**

Vedoucí bakalářské práce:

**Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.**

Katedra biologických a biochemických věd


Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2017**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.  
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2018

## Prohlášení autora

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 3. 7. 2018

Alena Kolářová

## **PODĚKOVÁNÍ**

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucí mé bakalářské práce Mgr. Marcele Slovákové, Ph.D. za odborné vedení práce, poskytování rad a ochotu. Děkuji také mojí rodině za trpělivost a podporu.

## **ANOTACE**

Bakalářská práce se zabývá otázkami možného vzniku potravinové alergie již během prenatálního vývoje jedince. V úvodní části je charakterizována potravinová alergie, alergeny a základní mechanismy imunopatologických reakcí. V práci je uveden přehled vývoje imunitního systému v prenatálním období a časně po něm a střevního lymfatického systému k představě o průchodu potravinového alergenu. Stěžejní kapitoly jsou věnovány senzibilizaci potravním alergenem u plodu a možnými přenosy alergenu z matky na plod. Závěr práce předkládá informace o současné diagnostice potravinové alergie.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Potravinová alergie, alergen, imunopatologická reakce, prenatální období, ontogeneze, senzibilizace

## **TITLE**

The development of food allergy in the prenatal period

## **ANNOTATION**

This bachelor thesis deals with the possibilities of onset of food allergy during the prenatal development of an individual. The introductory part characterizes food allergies, allergens and basic mechanisms of immunopathological reactions. The thesis describes the development of the immune system in the prenatal period and early after and the intestinal lymphatic system with a focus on the passage of the food allergen. The main chapters are devoted to fetal sensitization to food allergens and the possibilities of transmission of allergens from mother to foetus. In conclusion of this thesis the information about current diagnostics of food allergy is presented.

## **KEYWORDS**

Food allergy, allergen, immunopathological reaction, prenatal period, ontogenesis, sensitization

# OBSAH

Úvod.....	13
1 Potravinová alergie .....	14
1.1 Historie alergických stavů.....	14
1.2 Alergie.....	14
1.3 Vývoj potravinové alergie.....	15
2 Potravinové alergeny .....	17
2.1 Vlastnosti hlavních alergenů .....	17
2.2 Struktura alergenů .....	18
3 Mechanismus imunopatologické reakce .....	19
3.1 Přecitlivělost I. typu - atopie .....	19
3.2 Další typy přecitlivělosti .....	21
3.3 Úloha orální tolerance .....	22
3.4 IgE syntéza a úloha v alergických reakcích .....	24
4 Vývoj imunitních mechanismů.....	27
4.1 Vývoj nespecifické imunity .....	27
4.2 Vývoj specifické imunity .....	29
4.3 Vývoj tvorby protilátek .....	31
5 Slizniční imunitní systém.....	34
5.1 Buněčná a funkční struktura intestinální sliznice.....	34
5.2 Transport antigenu střevní sliznicí .....	35
5.3 Mechanismus reakce na antigen v trávicím traktu.....	36
6 Senzibilizace plodu potravním alergenem .....	38
6.1 Expozice alergenu u plodu .....	38
6.1.1 Transplacentární expozice .....	39
6.1.2 Amniotická expozice .....	40
6.2 Mechanismy senzibilizace plodu .....	41



6.3	Mateřské mléko .....	43
6.4	Faktory ovlivňující senzibilizaci novorozence.....	43
7	Diagnostika potravinové alergie .....	44
7.1	Kožní „prick“ testy.....	44
7.2	Laboratorní diagnostika .....	44
7.2.1	Průkaz specifických IgE ze séra .....	44
7.2.2	Test aktivity basofilů .....	45
7.2.3	Molekulová diagnostika alergií .....	45
8	Závěr .....	46
9	Zdroje.....	47

## SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1: Struktura jednotlivých alergenů .....	18
Obrázek 2: Genetická predispozice alergie .....	20
Obrázek 3: Mechanismus alergické reakce časného typu .....	21
Obrázek 4: Základní struktura imunoglobulinu E .....	24
Obrázek 5: Přenos protilátek z matky na plod/novorozence .....	32
Obrázek 6: Senzibilizace v těhotenství .....	39

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

APC	Buňka předkládající antigen
AF	Amniotická tekutina
Ara h 2	Alergen 2 podzemnice olejně
BAT	Test aktivity basofilů
BcR	Receptor B lymfocytů pro antigen
CB	Pupečníková krev
CD4+	CD4 znak nesoucí pomahačské lymfocyty
CD8+	CD8 znak nesoucí cytotoxické lymfocyty
CRP	C-reaktivní protein
DC	Dendritické buňky
ELISA	Enzymová imunosorbentní analýza
Fc	Krystalizující fragment
FcRn	Neonatální receptor pro Fc fragment
FcεRI	Vsokoafinní receptor pro Fc oblast imunoglobulin E
FcεRII	Nízkoafinní receptor pro Fc oblast imunoglobulinu E
GALT	Střevní lymfatická tkáň
GIT	Gastrointestinální trakt
IgA	Imunoglobulin A
IgE	Imunoglobulin E
IgG	Imunoglobulin G
IgM	Imunoglobulin M
IL – 1	Interleukin 1
IL – 10	Interleukin 10
IL – 13	Interleukin 13
IL – 4	Interleukin 4
IL – 6	Interleukin 6
IL – 8	Interleukin 8
INF	Interferon
IS	Imunitní systém
MBN	Protein vázající manózu
MHC	Hlavní histokompatibilitní komplex
NK	Přirozený zabíječ

PA	Potravinová alergie
PP	Peyerovy pláty
Soy A1	Alergen soji
Tc	Cytotoxické T lymfocyty
TcR	Receptor T lymfocytů pro antigen
TGF- $\beta$	Transformující růstový faktor beta
Th	Pomocné T lymfocyty
TNF	Faktor nekrotizující nádory
Treg	Regulační T lymfocyty

## Úvod

Potravinová alergie je považována za jedno z nejrozšířenějších onemocnění na světě. To může být způsobeno mnoha faktory, mezi nejdůležitější patří genetická predispozice, enviromentální prostředí, kouření a životní styl jedince. V důsledku zabránění rozvoje alergií vzniká mnoho studií. Má práce s tématem „vývoj potravinové alergie v prenatálním období“ se zaměřuje na probádání možného vzniku potravinové alergie již v prenatálním období. To znamená, že je možné, že osud rozvoje alergické reaktivity na potravinové alergeny jedince, je dán dávno před tím, než se narodí.

Jedna z teorií je založena na tom, zda je možné, aby se specifické IgE, které zprostředkovávají alergickou reakci, vytvořily ještě před přímým kontaktem s potravinovým alergenem. Práce se zabývá změnou alergenního mechanismu již v prenatálním období a s tím upřesňuje vývoj imunitních mechanismů plodu. Řeší otázku schopnosti plodu produkovat specifické IgE.

Stále více je zřejmé, že mechanismy, kterými je zprostředkována alergická imunitní odpověď, mohou začít ještě před narozením dítěte. Tato hypotéza vyvolává hodně otázek a v současnosti je stále předmětem řešení. Pro mě je toto téma velmi zajímavé, jelikož jsem sama osoba trpící potravinovou alergií již od časného dětství.

První kapitola obsahuje obecné seznámení s potravinovou alergií a alergeny. Detailně budou charakterizovány mechanismy imunopatologických reakcí. Vzhledem k tématu je v následující kapitole zpracovávána ontogeneze čili vývoj imunitního systému v prenatálním období a období časně po narození. Zahrnuje objasnění vývoje imunitních buněk a vznik imunologických mechanismů plodu, které jsou rozhodující pro rozvoj alergické reakce nebo indukce tolerance v postnatálním období. V kapitole o mechanismech imunitního systému sliznic se zaměřuji na sliznici gastrointestinálního traktu, která je nejběžnější cestou senzibilizace potravinového alergenu. V kapitole o senzibilizaci potravinovým alergenem, nastiňuji možné cesty senzibilizace plodu vlivem matčiných specifických IgE protilátek. Jsou zde zpracovány možnosti přenosu matčiných IgE a alergenních molekul k plodu. V závěrečné kapitole jsou uvedeny typy diagnostických přístupů včetně laboratorních testů, kterými bude potvrzena konkrétní potravinová alergie a určena vhodná léčba.

# 1 Potravinová alergie

## 1.1 Historie alergických stavů

Alergické choroby byly známy již od starověku. Snad nejstarší hlášení alergického onemocnění pochází z Egypta, kdy došlo k úmrtí po bodnutí hmyzem. Lidé zvraceli, dusili se a docházelo k otoku hrdla. Poprvé byl pojem „alergie“ (*allos ergos* – jiná reakce) zmíněn v roce 1906 a to rakouským pediatrem von Pirquetem, který chápal alergii jako změněnou schopnost reakce na běžně neškodnou látku [1]. V roce 1920 vznikl další termín „atopie“, kterým Coca označuje typy alergií, na kterých se podílí dědičnost. Alergologie se plně rozvinula ve 20. století, kdy jsou známy všechny alergické choroby a výzkum se nadále zaměřuje na děje imunitních mechanismů, které se odehrávají uvnitř organismu při rozvoji alergie [1,2]

## 1.2 Alergie

Dnes je alergie chápána jako epidemie 21. století. Případů s tímto onemocněním stále přibývá. V České republice jím trpí 20 - 30 % populace a situace se stále zhoršuje [2]. Vzhledem k její závažnosti je předmětem stoupajícího zájmu a je kladen čím dál větší důraz na výzkum jejího vzniku, který je do jisté míry stále nejasný. Příčiny nárůstu vzniku jsou ve změněné, tedy imunopatologické reaktivitě imunitního systému zapříčiněny genetickými či environmentálními faktory [3].

Alergie se řadí mezi imunopatologické onemocnění, tedy onemocnění zprostředkované chybou v imunitním systému. Jako chybu můžeme chápat zvýšenou přecitlivělost (hypersenzitivitu) organismu na jinak, pro tělo, neškodnou látku – antigen [4]. Tento antigen aktivuje protilátkovou odpověď, při které se tvoří specifické protilátky imunoglobuliny E (IgE). Po prvním střetu s antigenem se tyto protilátky téměř okamžitě podílí na imunopatogenních mechanismech a vzniká alergický zánět. Projevy se mohou pohybovat na škále od lehkých symptomů jako je vyrážka až k život ohrožujícímu anafylaktickému šoku [5].

Dle toho, z jakého prostředí antigen (alergen) pochází, dělíme alergie na různé typy. Nejčastěji dochází k poškození kůže, kam patří atopický ekzém, kopřivka nebo poškození sliznice, zejména horní a dolní cesty dýchací (astma bronchiale, alergická rýma). Kromě

zevního prostředí může antigen do těla také proniknout krví nebo přes trávicí trakt, pak mluvíme o potravinové alergii [4,6].

### 1.3 Vývoj potravinové alergie

Termín potravinová alergie (PA) se používá k popisu nežádoucí imunitní odpovědi na potraviny, kdy pozření konkrétní potraviny může vyvolat celou řadu příznaků a poruch, od ekzému, kopřivky přes rýmu, astma až k anafylaktickému šoku [7]. Anafylaktický šok můžeme chápat jako nejintenzivnější odpověď organismu na opěťovaný kontakt s alergenem. Jedná se o systémovou reakci imunitního systému. U postiženého dochází do několika minut k těžké bronchodilataci, otoku hrdla a může dojít až k úmrtí [5]. Potravinová alergie může být přičítána IgE a non-IgE zprostředkovaným (buněčným) mechanismům [7]. Ale pravou potravinovou alergií ve správném slova smyslu trpí dle odhadu okolo 2 % dospělých a 5–7 % dětí [8].

Exogenní látkou, antigenem, je tedy potravina. V posledních letech je zaznamenán významný nárůst potravinové alergie. Míra alergie na potraviny se liší podle věku, stravy a mnoha dalšími faktory [9].

Potravinová alergie postihuje kojence mnohem častěji, vlivem větší propustnosti střevní sliznice, což zapříčiní příliš časně vystavení alergenním antigenům. Gastrointestinální sliznice dosáhne své zralosti z hlediska propustnosti ve 2-3 letech života. Důsledkem toho u mnoha kojenců potravinová alergie v tomto věku vymizí, v některých případech se rozvine alergie na jiné potraviny [8]. Mechanismus propustnosti gastrointestinální sliznice je podrobněji popsán v kapitole číslo 5.

Nejčastější potravinové alergie jsou na kravské mléko, vejce, arašídý, sóju, pšenici, ryby a ořechy. Přibližně 80 % všech hlášených potravinových alergií u dětí jsou způsobeny arašídý, mlékem nebo vejci [10]. V mnoha případech s přibývajícím věkem potravinová alergie vymizí, ale osoby jsou náchylnější k rozvoji jiného typu alergického onemocnění. Tyto osoby se většinou nevyhnou propuknutí astmatu [8,9]. Senzibilizace kravského mléka nebo vejce v dětství jsou spojeny taktéž se zvýšeným rizikem rozvoje astmatu. Alergie na kravské mléko a vajíčka mají poměrně velkou šanci se stát tolerantními a v průběhu života vymizí, ale alergie na arašídý, ořechy, sezamová semínka a ryby patří mezi trvalejší [8,10].

Diagnóza je komplikovaná, vzhledem k tomu, že detekce IgE specifické pro potraviny nemusí nutně znamenat klinickou alergii. Proto diagnóza vyžaduje pečlivou anamnézu, laboratorní studie a v mnoha případech orální výzvu k potvrzení diagnózy [7].

V současné době léčba potravinových alergií spočívá v dodržování diety, kde se pacient aktivně vyhýbá konkrétním alergenům. V případě požití alergenu, by měl být pacient vybaven speciální autoinjekcí s dávkou epinefrinu. Dále jsou vhodné dlouhodobé terapie, a to orální nebo podjazyková imunoterapie, podávání anti-IgE protilátky nebo modifikované vakcíny [7]

Potravinové alergie nadále přibývá, podobně jako u jiných alergií, ale přesná příčina vzestupu není známa. Krátké období, během něhož došlo ke zvýšení, naznačuje, že faktory životního prostředí jsou více pravděpodobné než genetické faktory. Je pravděpodobné, že další faktory hrají také důležitou roli [8]. Aby se zabránilo zvyšování prevalence tohoto typu alergie, začíná se řešit možná změna v reaktivitě imunitního systému již v prenatálním období. Je uvažován přenos alergenu během embryogeneze [2].



## 2 Potravinové alergen

Potravinové alergen jsou látky se schopností vyvolat abnormální reakci imunitního systému, přestože jsou pro tělo neškodné [9].

Potraviny jsou významná energetická složka pro lidský organismus. Pro některé osoby, se ale již ve stopovém množství, mohou stát zdrojem zdravotních problémů [9]. Mnoho potravin prochází chemickými úpravami, s tím je možná souvislost, že potravinových alergií stále přibývá.

Přestože alergii může vyvolat prakticky každá potravina, hlavní alergen, které jsou zodpovědné za alergickou reakci zahrnují nejčteněji mléko, vejce, arašidy, ořechy (lískové, vlašské, burské, mandle), měkkýše, ryby, obilniny a sóju. Jedná se o potraviny jak živočišného, tak i rostlinného původu. Alergie na přísady a konzervační látky je obecně méně časté [7,11].

Bílkoviny kravského mléka jsou hlavním alergenem u kojenců, ale ve většině případů tato alergie do 4 let života vymizí [11]. Dalším hojně vyskytovaným potravinovým alergenem jsou vejce. Stejně jako u bílkoviny mléka, tento alergen vymizí v průběhu života. Tyto dva alergen se v mnoha případech vyskytují společně. [11]

### 2.1 Vlastnosti hlavních alergenů

Alergeny se dělí na hlavní a vedlejší. Hlavní alergen tvoří většinu, téměř 90 % všech alergenů a vyvolávají přímou reakci s IgE [3]. Potraviny patří mezi alergen původu rostlinného a živočišného [3]. Potravinové alergen jsou tvořeny bílkovinami, které nesou alergenní potenciál [12], ten nese například tropomyosin, který je součástí mořských korýšů. Pravalbumin je hlavním alergenem v rybích tkáních. Kravské mléko obsahuje dokonce několik alergenních proteinů, hlavně kasein. Důležitou roli hraje bílkovina panalergen, která je hlavním alergenem jablka a broskve a způsobuje řadu zkřížených reakcí a je vysoce stabilní [3].

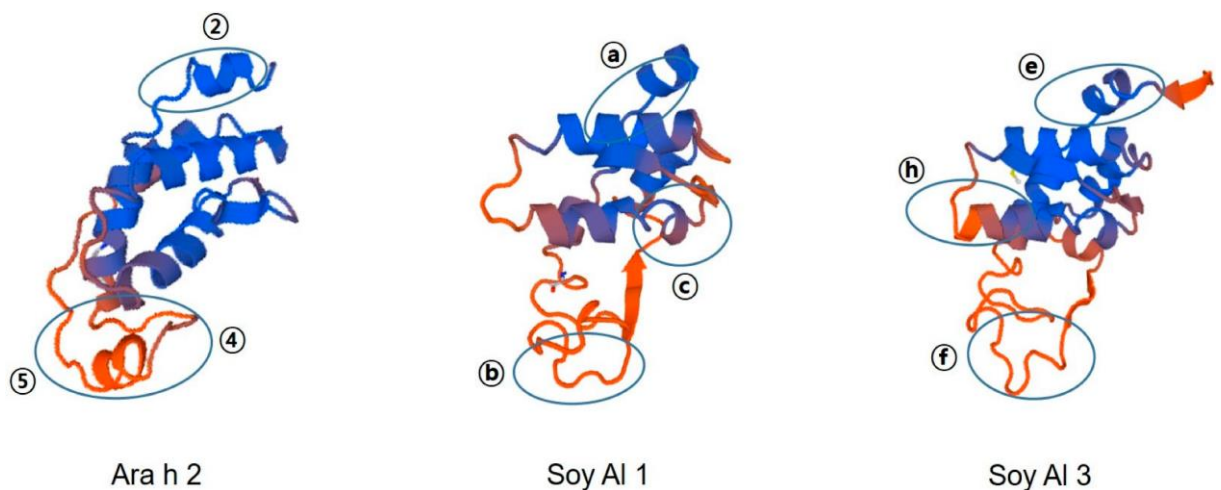
Alergenní struktury jsou většinou ve vodě rozpustné glykoproteiny jejichž molekulová hmotnost je 10 až 70 kD. Další důležitou vlastností je odolnost vůči denaturaci při tepelných úpravách, dále odolnost vůči trávicím enzymům [10]. Navíc obsahují imunostimulační látky, které přispívají k rozvoji senzibilizace. Například hlavní glykoproteinový alergen z arašidů

(Ara h 1) je nejen velmi stabilní a odolný vůči teplu a degradaci trávicími enzymy, ale také působí jako stimulant TH2 lymfocytů [12].

## 2.2 Struktura alergenů

Alergickou reakci způsobuje krátký úsek aminokyselin v polypeptidovém řetězci označován jako epitop. Nejčastěji v lineárním nebo konformačním prostorovém uspořádání. Lineární epitopy jsou pouze primární aminokyselinové sekvence, vyskytují se zejména u potravin, které prošly částečnou denaturací. Naproti tomu konformační epitopy se vyskytují u sekundárních nebo terciálních struktur alergenů. Odlišné potraviny mohou obsahovat stejný epitop. Tento epitop je prezentován na povrchu alergenů [10].

Každý alergen má jinou strukturu. Viz obrázek č.4. Modré a červené barvy představují šroubovice a smyčkovou strukturu. Identifikované epitopy jsou označeny ovály.



**Obrázek 1: Struktura jednotlivých alergenů**

Převzato z: [13]

### 3 Mechanismus imunopatologické reakce

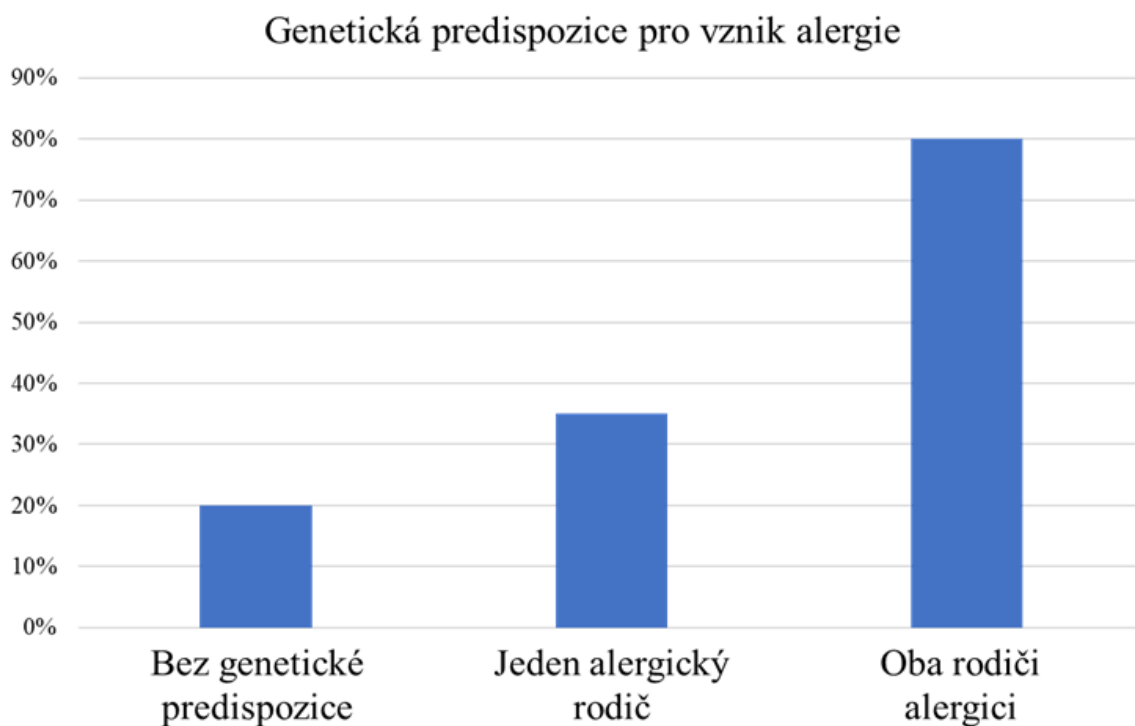
Imunopatologické reakce jsou klasifikovány podle Coombse a Gella do 4 skupin, ze které byla dále vyčleněna pátá skupina [6]. Alergická reakce patří do první skupiny mechanismů – do přecitlivělosti I. typu. V následujících kapitolách jsou shrnuty základní charakteristiky imunopatologických reakcí.

#### 3.1 Přecitlivělost I. typu - atopie

Po vniknutí alergenu do organismu dochází k senzibilizaci, kdy je alergen rozpoznán příslušnými antigen prezentujícími buňkami – APC a navázán na jejich povrch. K senzibilizaci dochází nejčastěji na sliznicích, u potravinových alergenů se jedná o zažívací trakt, kde se setká s APC v mukózní a submukózní tkáni.

Přecitlivělost neboli hypersenzitivita I. typu, dle klasifikace Coombse a Gella je nejčastější typ alergické reakce [3], který je zprostředkovaný humorální složkou imunity. Klíčový krok po senzibilizaci, tedy rozpoznání specifického alergenu, je vznik klonů Th2-lymfocytů. Následně se tvoří B-lymfocyty (plazmocyty) a za pomoci cytokinů IL4 a IL5 dochází k produkci specifických protilátek IgE. IgE jsou namířené proti potenciálnímu alergenu. IgE se mohou poté volně pohybovat v plazmě nebo se navážou na Fc receptory na povrchu žírných buněk a bazofilů v kůži a ve sliznici, tato interakce vede k jejich degranulaci a uvolnění velkého množství histaminu a dalších prozánětlivých mediátorů s následným rozvojem alergické reakce. Klony paměťových lymfocytů v těle tvoří imunologickou paměť. Při opětovném kontaktu s alergenem dochází k rychlejší reakci a alergen se naváže přímo na IgE na povrchu žírných buněk [3,5,6]. Ke klinickému projevu atopie tedy dochází až při opakovaných setkání s potenciálním alergenem. Mediátory uvolněné potravinovým alergenem nejčastěji mají vazodilatační a bronchodilatační účinky a působí na nervová zakončení v kůži [9]. Tento typ přecitlivělosti probíhá do několika minut od pozření potravin, proto se celá reakce označuje jako časná přecitlivělost.

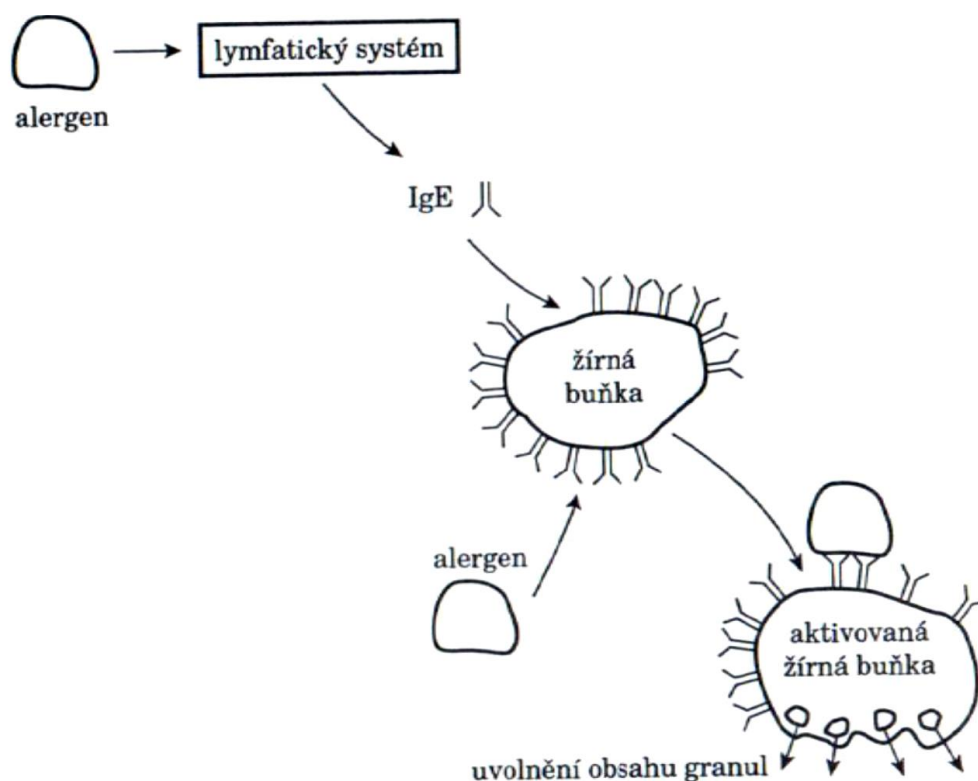
Významnou úlohu tohoto typu mechanismu má genetická predispozice jedince (atopie) [3,5,6], jsou známy procentuální odhady predispozice, jestliže jeden nebo oba rodiče trpí jakoukoliv alergií. Podle epidemiologických dat je hrozba propuknutí alergie u dítěte bez genetické zátěže zhruba 20 %, v rodině s jedním alergickým rodičem asi 30–40 % a v rodinách s oběma rodiči trpící alergií je to až 75–80 % (graficky znázorněno níže). Je-li postižena matka je hrozba přenosu alergického onemocnění asi 4× vyšší [14].



**Obrázek 2: Genetická predispozice alergie**

Vytvořeno podle: [14]

Po časně fázi, kde se nejvíce uplatňuje efekt histaminu a heparinu, plynule nastupuje pozdní fáze, při které se příznaky alergie dostávají později s časovým odstupem několika hodin. Typ přecitlivělosti, kdy se pod vlivem TH1 lymfocytů tvoří sekundární mediátory. Nejčastěji produkty kyseliny arachidonové (tromboxan, leukotrieny), které mají chemotaktické účinky. Způsobují tak abnormální hromadění neutrofilů, lymfocytů a nejvíce eozinofilů. Zmíněné buňky dále uvolňují cytotoxické mediátory, které se podílejí na udržení alergického zánětu a zodpovídají za poškození tkání, vedoucí až k irreverzibilním změnám [3,6,11].



**Obrázek 3: Mechanismus alergické reakce časného typu**

Převzato z: [11, str.44]

Mnoho alergických reakcí je ale uskutečňováno neimunologickou cestou, kdy se na reakci nepodílí protilátky IgE, tzv. non-IgE reakce, ty mohou být zprostředkované nesnášenlivostí (intolerancí) na různé potraviny, kdy v těle chybí potřebný enzym ke zpracování potravin. Existují další neimunologické děje vyvolané zvýšenou toxicitou, nebo větším množstvím histaminu v některých potravinách. Nesmíme opomenout, že v současnosti jsou potraviny zpracovávány chemicky, včetně přidávaných konzervantů, umělých barviv nebo antibiotik, na které může organismus reagovat také nepřiměřeně [8,11].

### 3.2 Další typy přecitlivělosti

Přecitlivělost II. typu, cytotoxická, je zprostředkována protilátkami třídy IgG nebo IgM a jejich vazbou na antigen na povrchu buňky. Tím dojde k aktivaci komplementu nebo fagocytů, což vede k cytolýze buňky. Antigen se může na povrchu buňky vyskytovat přirozeně (jedna z příčin vzniků autoimunitních onemocnění) nebo mohou být na buňku

navázány druhotně, příčinou nějaké infekce, pak se může jednat o různé anemie. Řadí se sem i různé typy transfuzních chorob způsobených inkompatibilitou krevních skupin [6,11].

Podtypem II. typu jsou inhibiční nebo stimulační protilátky. Řadí se do V. typu přecitlivělosti. Je to stav, kdy autoprotilátky neničí cílovou strukturu přímo, ale navážou se na receptor cílové struktury, čímž stimulují a ovlivňují její funkci. Navázané autoprotilátky na receptor mohou působit také inhibičním efektem, kdy blokují navázání na receptor jiným látkám [6].

Přecitlivělost III. typu je podobná atopiím, až na to, že jsou ve většině případů zprostředkované protilátkami IgG. Reakcí IgG s antigenem dochází k tvorbě imunokomplexů, které se dle jejich množství a vlastností mohou začít ukládat do tkání, místo toho, aby byly odstraňovány fagocytujícími buňkami. Tyto imunokomplexy aktivují komplement a dochází tak opět k řadě poškozujících pochodů, hlavně nahromadění neutrofilů a aktivace žírných buněk. Zapotřebí je velké množství protilátek, proto reakce vzniká za 10 až 14 dní. Tento zánět může přejít do chronického stavu. Typickým příkladem jsou glomerulonefritidy [6,11].

Posledním typem je imunopatologická reakce oddáleného typu. Tento IV. typ přecitlivělosti je zprostředkován zánětlivou reakcí závislou na TH1 lymfocytech a monocytech či makrofágích. Objevuje se 24 až 72 hodin po styku s alergenem. Po imunizaci alergenu se diferencují specifické TH1 lymfocyty a společně s makrofágy migrují do místa vpichu, kde způsobují tvrdý otok. Reakce oddáleného typu jsou namířeny proti intracelulárním parazitům a jsou zodpovědné za poškození tkání při některých infekcích jako je například tuberkulóza [6].

### **3.3 Úloha orální tolerance**

Orální tolerance má dosud nejasnou hypotézu, ale je známo, že je klíčovým rysem střevní imunity, který vede k systémovému nereagování na antigen [15]. Orální intolerance a potravinová alergie jsou dva rozdílné pojmy popsány níže. Lymfatická tkáň spojená se střevem představuje největší imunitní orgán v těle a je primární cestou, kterou jsme vystaveni antigenům, které mohou být pro tělo prospěšné nebo škodlivé. V důsledku toho střevní imunitní systém musí vyvážit buď ochrannou imunitu reakce, které jsou vyvolány při setkání střevních patogenů a toxinů nebo tolerance proti komensálním bakteriím a potravinovým antigenům [15,16].

Orální toleranci chápeme změny imunitního systému, ke kterým dochází po setkání mikrobiálního nebo častěji potravinového antigenu se slizničním imunitním systémem střeva,

aby nedošlo k přehnaným imunopatologickým reakcím. Tento děj je doprovázen tvorbou sekrečních IgA, které obalují antigeny ve střevní sliznici a následně je odstraňují a jsou hlavní třídou imunoglobulinů ve střevě [3,16]. Střevo je bohatým zdrojem TGF- $\beta$ , ten zahájí izotypové přepnutí IgA [16]. Orální tolerance má navodit snášenlivost vůči antigenům, kterým je jedinec vystaven [3]. Brání sliznici a organismus před klasickou alergickou reakcí na potravinový antigen. To závisí na neporušeném a imunologickém stavu aktivní gastrointestinální bariéry. Tato bariéra zahrnuje epitelální buňky a tlustou vrstvu hlenu, stejně tak i trávicí enzymy, žlučové soli a kyselé pH, které přispívají k tomu, aby antigeny byly méně imunogenní [8,17]. Antigen prochází skrz Payerovými pláty a je fagocytován M buňkami, důležitou roli mají také dendritické buňky (DC), které svými výběžky vychytávají antigeny a kooperují s makrofágy a dalšími epitelálními buňkami střevní sliznice [15,16] (více o přenosu antigenu skrz střevní sliznici v kapitole 5. Na indukci orální tolerance se s DC podílí také kyselina retinová, spolu mají hlavní podíl na indukci regulačních lymfocytů [16,18].

Orální tolerance se dělí na dva základní typy, toleranci centrální a periferní. Centrální tolerance je důležitým imunitním mechanismem. Uplatňuje se pouze v lymfatických orgánech, kde zabraňuje vzniku auto-reaktivních T a B lymfocytů, které reagují proti specifickým antigenním buňkám. Periferní tolerance je součástí imunologické tolerance, která se uskutečňuje v sekundárních lymfatických orgánech. Jejím hlavním cílem je zajistit, aby auto-reaktivní T a B lymfocyty, které unikly centrální toleranci, nezpůsobily nežádoucí imunopatologické reakce a nedošlo k rozvoji autoimunitního onemocnění [16]. Vlastní orální tolerance je udržována několika mechanismy, kterými je funkční suprese, klonální anergie nebo delece T lymfocytů a jejich konverze na regulační T lymfocyty (Treg) [18,19], které jsou zodpovědné za udržení tolerance, inhibují auto-reaktivní lymfocyty, které unikly centrální toleranci v thymu a nastolují tak periferní toleranci a regulují fyziologické reakce imunitního systému (IS). T lymfocyty dále tlumí efektorové funkce konvenčních lymfocytů. Závisí na dávce antigenu. Nízké dávky upřednostňují indukci regulačních T lymfocytů, zatímco při vyšších dávkách se uplatňuje delece nebo anergie T lymfocytů [16,18,19].

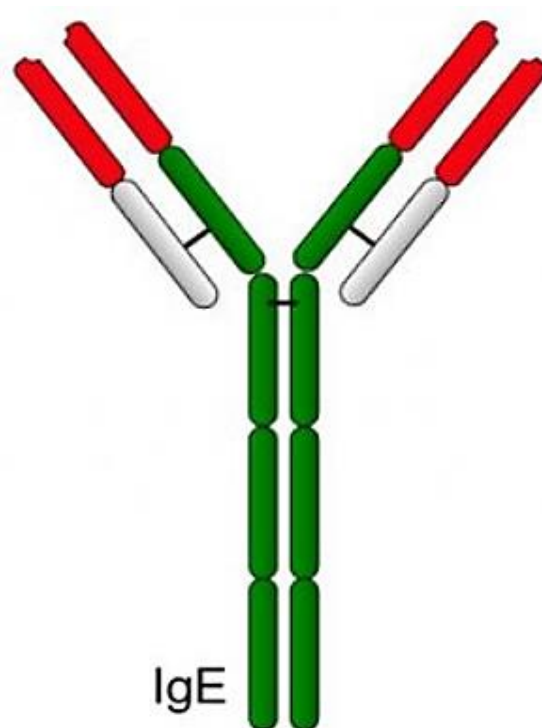
Při poruše orální tolerance dochází k intoleranci potravin. Tento děj lze považovat za nepříznivou fyziologickou odpověď na potravinový antigen a může být způsoben přirozenými vlastnostmi konkrétní potraviny (toxická kontaminující látka, farmakologicky aktivní složka). Na rozdíl od klasické alergické reakce, která je zprostředkováná s účastí IgE, nemusí být

intolerance reprodukovatelná a je často závislá na dávce potravin. Potravinová intolerance představuje většinu nežádoucích účinků k jídlu [17].

Doposud není objasněno, jak významnou roli v orální toleranci má genetický základ jedince. Důležitý je genetický faktor imunologické reaktivity, závisí na stupni vývoje imunitního systému a na věku jedince [3]. V časném stádiu po narození se orální indukce příliš neuplatňuje z důvodu snížené koncentrace IgA v organismu a omezené funkce imunitního systému [3,20]. Na indukci orální tolerance má zásadní vliv i přirozená střevní mikroflóra [16].

### 3.4 IgE syntéza a úloha v alergických reakcích

Již ve 20. století bylo definitivně prokazováno, že hlavní roli v patologii alergie je látka obsažená v séru [3]. Jedná se o pátou třídu imunoglobulinů označenou jako protilátka IgE [3,11]. Imunoglobuliny jsou protilátky, které hrají klíčovou roli v imunitní odpovědi [21]. Základní struktura IgE je stejná jako ostatních tříd imunoglobulinů. Těžký řetězec je tvořen čtyřmi konstantními doménami a jednou variabilní doménou. Lehké řetězce obsahují jednu konstantní doménu C a jednu variabilní doménu V [3].



**Obrázek 4: Základní struktura imunoglobulinu E**

Převzato z: [22]



Ve srovnání s jinými třídami imunoglobulinů, které jsou v séru přítomné v mikrogramech až miligramech na mililitr séra, se koncentrace imunoglobulinu E pohybuje v daleko nižších koncentracích, v rozmezích nano až mikrogramů na mililitr séra [21]. Pro alergiky je typická jeho vyšší koncentrace než u zdravých jedinců [23,24]. IgE jsou vysoce specifické pro různé alergeny [21]. Zprostředkovávají reakce přecitlivělosti 1. typu [23]. Můžeme ho nalézt u všech savců [21]. Fyziologicky se protilátky IgE v séru zdravého jedince vyskytují v obranné reakci proti parazitům [3]. Základní funkce je dosud nejasná [3,21]. V současné době je znám především pro své silné a nežádoucí funkce v alergických reakcích [23]. Je zodpovědný za anafylaktické vlastnosti, které představují způsob imunitní obrany, proto je velmi nebezpečný ve vysokých koncentracích [21].

Alergen specifické IgE protilátky se nejčastěji nachází ve sliznici, kde dochází k navázání na receptory pro Fc fragment [21,23]. Receptory jsou exprimovány na efektorových buňkách, především jsou to buňky imunitního systému a epitelové buňky [23]. Rozlišujeme tři receptory pro Fc část molekuly IgE [3].

Vysokoafinní receptor FcεRI, který se skládá z několika podjednotek. Obsahuje řetězce alfa, beta a gama. IgE se naváže na alfa řetězec za pomoci domény CH<sub>3</sub>. Řetězce beta a gama zprostředkovávají přenos signálu do nitra buňky [3,21,24]. Tento vysokoafinní receptor je vyjádřen především na mastocytech, basofílech a Langerhansových buňkách [3]. Dalším receptorem pro Fc fragment molekuly IgE je nízkoafinní receptor FcεRII, což je molekula CD23 vyskytující se na B lymfocytech, NK buňkách, makrofázích, eozinofílech a dendritických buňkách [3,24]. Je to protein a váže především komplexy molekul IgE, opět přes doménu CH<sub>3</sub> [3]. Tímto receptorem jsou buňky stimulovány k aktivaci neboli tvorbě prozánětlivých cytokinů. Posledním typem receptoru pro Fc fragment IgE je galektin 3 FcγR, který je vyjádřen na mastocytech, makrofázích, epitelových buňkách a neutrofilních a eosinofilních granulocytech [3,21].

Hlavním rozdílem těchto receptorů je, že na první dva FcεR se vážou samotné molekuly IgE bez toho, aniž by vytvořily komplex s alergenem. Na FcγR se naopak vážou IgG pouze v komplexu s antigenem. Po přemostění alergen specifických IgE dochází k degranulaci mastocytů, z kterých se následně uvolňují prozánětlivé mediátory jako je histamin, tryptáza nebo heparin, které jsou zodpovědné za projev alergických symptomů [3,21,24].

Syntéza protilátek třídy IgE je složitý a dosud ne zcela známý proces [3,21]. Za klíčové je považováno působení subsetu TH2 lymfocytů. Ty poskytují B lymfocytům optimální cytokinové prostředí pro diferenciaci s konečnou produkcí protilátek IgE [23]. Nejprve jsou v protilátkové odpovědi tvořeny IgM, které slouží jako součást BcR [3]. Za pomoci IL-4 nebo IL-13 tvořeným subsetem TH2 lymfocytů dochází k izotypovému přepnutí na IgE protilátky [3].

## 4 Vývoj imunitních mechanismů

Vývoj imunitního systému v této kapitole bude věnován ontogeneze v prenatálním období a krátce po narození s důrazem na možné souvislosti s vývojem alergie.

V posledních 30 letech dochází k vážným změnám imunitní reaktivity velkého počtu lidí. Důsledkem toho je rychle narůstající výskyt imunopatologických nemocí [3]. V současné době se jedná hlavně o atopickou reaktivitu vedoucí k rozvoji alergického zánětu zejména v rozvinutých zemích [25]. Je prokázáno, že na vzrůstající prevalenci těchto stavů má vliv genetická predispozice, ale především vystavení velkému množství mikrobiálních podnětů v embryonálním období vývoje jedince a v časných fázích postnatálního vývoje [20,25].

Během fetálního vývoje, novorozeneckého období a dětství se imunitní systém neustále mění a vyvíjí [16]. V prenatálním období dochází k rozvoji hlavně imunity nespecifické tedy přirozené. Specifická imunita je během embryonálního vývoje značně omezena a k jejímu rozvoji dochází až po narození v důsledku vystavení účinků mikrobů [3,20,25].

### 4.1 Vývoj nespecifické imunity

Části imunitního systému, které jsou zodpovědné za bezprostřední obranné mechanismy a které nevyžadují předchozí expozici specifického patogenu, se tradičně označuje jako nespecifická čili vrozená imunita [25]. Je zprostředkována zejména fagocytujícími buňkami, kterými jsou granulocyty, monocyty, makrofágy a dendritické buňky [25]. Kromě toho buňky nespecifické imunity cíleně produkují cytokiny, které pomáhají iniciovat následnou specifickou imunitní reakci [3,25]. Při porovnávání dospělých a fetálních nespecifických buněk jsou fetální buňky mnohem méně polyfunkční a každá jednotlivá buňka produkuje méně cytokinů [25]. Buňky produkují vysoké hladiny superoxidu a vykazují zvýšenou produkci chemotaktického IL-8. Naproti tomu je zjištěna nízká produkce klasických proinflammatorních cytokinů. Produkce superoxidů, která nakonec přispívá k zabíjení bakterií, představuje velmi primitivní, a přitom efektivní reakci [25].

Složky humorální imunity se významně zapojují do reaktivity embrya a v časných fázích postnatálního vývoje. Především se jedná o složky komplementového systému [3,25]. K jejich tvorbě dochází mezi 6. a 14. týdnem gestace [3]. Jejich počet je velmi nízký, avšak k normalizaci se přibližují těsně po porodu [3,25]. Velmi nízké jsou i hladiny proteinu vázajícího manózu (MBP), který se podílí na aktivaci komplementového systému. I další

významné složky humorální imunity jako je CRP a fibronektin jsou u novorozenců snižené a slouží pouze jako opsoniny [3]

Během embryogeneze tedy vývoje plodu probíhá průběžná modulace a tvarování lymfatické tkáně [20]. Hematopoetický systém spolu s vaskulárním a srdečním systémem je jedním z prvních, který se během embryonálního vývoje objevuje. První krvinky pocházející z mezodermových buněk [20,25]. Tyto primitivní buňky pak migrují a vyvíjejí se do erytroidních progenitorů. Předpokládá se, že tyto včasné progenitory také vedou k vzniku progenitorů granulocytů a makrofágů stejně jako megakaryocytů [25]. Tyto monocytomakrofágové buňky je možné detekovat již ve velmi časném stádiu vývoje embrya, přesněji ve 4. týdnu gestace [3]. Nejprve se nacházejí ve žloutkovém vaku, později v játrech, a nakonec osidlují kostní dřev. [3,20,25]

Monocyty se nejprve objevují ve vzrůstajícím počtu a současně zlepšují expresi fagocytárních Fc receptorů, což vede k lepší fagocytární a antigen prezentující funkci [25]. Počet monocytů u novorozenců je srovnatelný s počtem dospělého člověka [3,25] a monocyty u dětí mají schopnost produkovat TNF a IL6 na stejných úrovních jako monocyty dospělých ve věku 3 let. [3,25]

Neutrofilů jsou na rozdíl od monocytů funkčně nedostatečné a teprve až během porodu se stanou dominantními bílými buňkami [20]. Neutrofilní granulocyty odpovídají za zánětlivé reakce [20,25]. Jejich prekurzory se objevují nejdříve ve žloutkovém vaku, dále v játrech, slezině a kostní dřevě [3,20]. Vznikají okolo 14. týdnu gestace, kdy je jich pouhá desetina. Během porodu se jejich počet však rapidně zvyšuje a po porodu je již srovnatelný s počtem u dospělého jedince [3,25].

Významnou složkou vrozené imunity jsou NK buňky „přirození zabíječi“ [3,25]. Tyto buňky mají schopnost detekovat a zničit buňky infikované virem prostřednictvím cytotoxického mechanismu. Dále regulují krvetvorbu prostřednictvím IL-3 a zánětlivou reakci TNF- $\alpha$ . [20,25]. Reagují okamžitě a podílí se na rozvoji specifické imunity [3]. Funkce NK buněk je řízena rovnováhou mezi aktivačními a inhibičními receptory [25]. Počet NK buněk dosáhne maximální úrovně při narození. Hladiny pak postupně klesají, až dosáhnou úrovně dospělých [3,25]. Přestože počet NK buněk u malých dětí je vysoký, funkčnost těchto buněk je velmi odlišná, protože jejich cytotoxicita je mnohem nižší [20,25]. NK buňky jsou detekovány v játrech embrya již v 6. týdnu těhotenství [3].

Doposud jsou známy jen omezené informace o aktivitách dendritických buněk [20,25]. Jsou to buňky heterogenní, liší se fenotypovými a funkčními znaky. Pocházejí z lymfocytární a monocytární vývojové řady. Jsou schopné velmi dobře zpracovávat a předkládat antigen T lymfocytům. Považují se za profesionální APC buňky [20] a jsou schopné fagocytózy [25]. Vývoj dendritických buněk musí pravděpodobně souviset s vývojem sekundárních lymfatických orgánů, ve kterých je proces předkládání uskutečňován, podílejí se na rozvoji specifické imunity [3,20,25].

## 4.2 Vývoj specifické imunity

Specifická neboli adaptivní imunita je fylogeneticky mladší [3]. K jejímu rozvoji dochází později na rozdíl od imunity nespecifické, mění se v průběhu postnatálního života [3,25]. Zaměřuje se hlavně na eliminaci specifických patogenů a vytváří imunologickou paměť [20,25]. Těmto procesům je dosaženo působením několika typů T lymfocytů a B lymfocytů i s jejich produkty – protilátkami [25]. Během embryonálního vývoje je dán pouze základ T a B lymfocytární reaktivity, ta je dotvořena až v časném dětství [3].

Základem specifické imunity je myšleno rozpoznání „cizího“ od „vlastního“. Specifická imunita se rozvíjí až při rozpoznání „cizí“ molekuly, k tomuto procesu dochází hned po narození a krátce po něm, kdy je novorozenec vystaven vnějším potenciálním antigenům [3]. Během embryogeneze prodělává T lymfocytární složka proces indukce tolerance vlastního [3]. Dochází tedy k eliminaci vysokoafinních T a B lymfocytů, které by jinak mohly zahájit specifickou imunitní reakci proti vlastnímu [3]. Tato imunita kooperuje s imunitou přirozenou, která předkládá a prezentuje antigenní molekuly k rozpoznání T lymfocytům [3,25]. TH1 lymfocyty mají mimořádný cytotoxický potenciál, jenž se může obrátit proti vlastním buňkám. Je nutno jej regulovat, aby nedošlo k nežádoucím reakcím. To je řešeno hlavně v embryonálním a časném postnatálním vývoji, prostřednictvím matčinych protilátek. [3,20,25].

Prekurzory T lymfocytů jsou detekovány již v 6. týdnu těhotenství, a to v játrech a ve žloutkovém vaku embrya. V 15. týdnu gestace je vyvinut thymus s lymfoidními buňkami. Tvoří se již povrchový receptor TcR (receptor pro antigen) [3]. Během embryonálního vývoje je většina T lymfocytů naivních, to znamená že se ještě nesetkaly s antigenem [20]. T lymfocyty v embryonální a časně postnatální fázi mají značně sníženou aktivitu. Mají nižší schopnost proliferace a tvorby cytokinů [3,25]. Nemohou tak poskytnout dostatečnou podporu B lymfocytům pro rozvoj protilátkové reakce [25].

Ke konci embryonálního vývoje a na začátku postnatálního vývoje se v krvi vyskytuje více lymfocytů [3,20,25]. Lymfocyty cytotoxické nesoucí znak CD8 (lymfocyty CD8+), které působí při zabíjení infikovaných buněk, a lymfocyty pomocné nesoucí znak CD4 (lymfocyty CD4+), které hlavně podporují funkci jiných buněk prostřednictvím stimulace cytokinů [3,25]. T pomocné lymfocyty mohou být dále rozděleny na efektorové a regulační buňky [25]. T lymfocyty s oběma znaky se během postnatálního období po setkání s antigenem mění v paměťové T lymfocyty [3,25]. Ty se tvoří po infekci a mají potenciál okamžitě reagovat, pokud je organismus dítěte opět vystaven stejnému patogenu [25]. Mají schopnost se rozvíjet po celou dobu života [3]. Poměr CD4+ a CD8+ lymfocytů je vyrovnán v době porodu a postupně klesá. Definitivních hodnot jedinec dosáhne až okolo 4 let. [3,25]

Specifická reakce T a B lymfocytů vyžaduje vyvinuté sekundární lymfatické orgány. Slezina je vyvinuta mezi 7. a 8. týdnem gestace [3,20]. Dále dochází k oddělování těchto buněk a v druhé polovině těhotenství se vytváří germinální centra [3]. S vývojem sleziny se vytváří také lymfatické uzliny a lymfatická tkáň střeva včetně Payerových plaků [20,25]. K plnému vývoji slizničního imunitního systému dochází až bezprostředně po setkání s antigeny v postnatálním období [25]. B lymfocyty vznikají paralelně se vznikem lymfatických orgánů [3]. Prekurzory B lymfocytů jsou nalézány ve žloutkovém vaku, játrech a později v kostní dřeni. Již v 10. týdnu gestace vznikají B lymfocyty, které nesou na povrchu BcR a dochází k indukci tolerance vlastního a cizího [3]. Fetální a neonatální B lymfocyty jsou cytotoxicky potlačené a nezkušené. To se odráží nízkým počtem paměťových buněk. Jejich počet se zvyšuje postupně s věkem po narození [25].

V období embryogeneze je omezena specifická imunita a to sníženou tvorbou prozánětlivých cytokinů TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha,\beta$  a IL-6 [3,25]. Na placentární úrovni se upřednostňuje TH2 lymfocytární odpověď. Aktivita subsetu TH1 lymfocytů, který jinak produkuje INF- $\gamma$ , je snížena [3]. Snížení funkce imunitního systému novorozence je regulováno prostřednictvím matčiných protilátek. Aby se zabránilo vzniku neadekvátních reakcí, vede spíše k indukci imunologické tolerance [3]. Snížení funkce TH1 souvisí také se sníženou cytotoxicitou NK buněk a sníženým IL-4, což má za následek sníženou produkci IgE v časném období života [20].

### 4.3 Vývoj tvorby protilátek

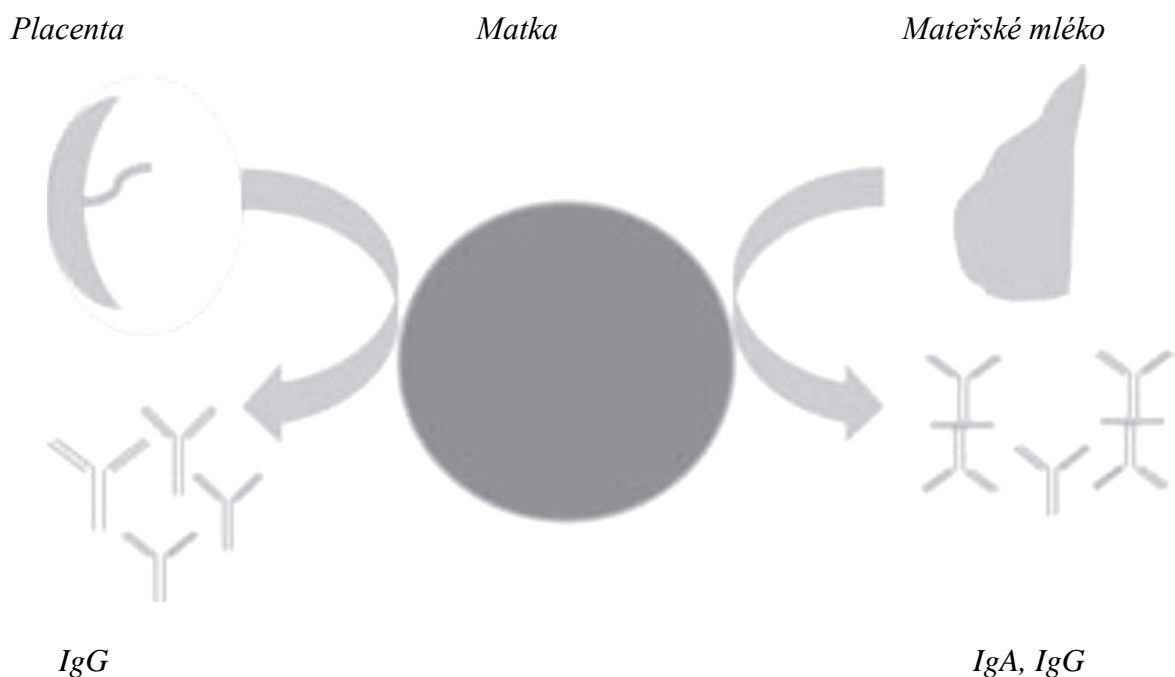
Efektorem humorálního odvětví adaptivní imunity je molekula imunoglobulinu (Ig), která se u lidí nachází v isotypových formách IgM, IgA, IgG a IgE [18]. Tyto látky mají svou funkci přímé neutralizace patogenů, a to připojením k povrchu, čímž dojde k inhibici interakcí s lidskými buňkami [25]. Vazbou také usnadňují opsonizaci fagocytujícími buňkami, které exprimují Fc receptory se schopností vázat se na komplexy protilátka-antigen [25].

Během 10. a 14. týdne gestace dochází k tvorbě protilátek třídy IgM [18]. Časně po narození se jejich koncentrace rapidně zvyšuje z důvodu vystavení cizorodým látkám. Zachycují infekční agens jako první, než se vytvoří specifické protilátky [3,25]. U novorozenců je IgM nejčastěji nalezeným imunoglobulinem [25].

K regulaci před nežádoucími reakcemi na vlastní buňky dochází především pomocí matčiny IgG protilátek, které prostupují placentou a významně ovlivňují individuální imunologickou reaktivitu [3]. Mateřské protilátky zůstávají v krvi novorozence i v pozdějším období vývoje, než tělo novorozence bude schopné protilátky vytvářet samo [20,25]. IgG tedy chrání plod a později i novorozence před potenciální infekcí [3,20,25]. Mateřský IgG představuje také imunologickou paměť matky a může chránit potomstvo během prvních 6 měsíců života. Pokud je matka dobře očkovaná, dítě je chráněno proti tetanu, záškrtu, pertusi a dalším infekcím prostřednictvím jejich protilátek. Předčasně narozené děti budou mít méně mateřského IgG a jsou tak náchylnější k infekcím [25].

Klíčovou roli hraje placenta, která spojuje matku a plod a funguje obousměrnou difúzí [20]. IgG jsou přenášeny aktivním transplacentárním transportem přes FcR na trofoblastu [3]. IgG se plně dostávají přes placentu od 20.týdne těhotenství [3,26].

Během těhotenství dochází také k pasivní ochraně plodu prostřednictvím plodové vody, která obsahuje látky jako je transferin, lysozym nebo zinek [3,26]. Významné jsou i protilátky třídy IgA, které se ke kojenci dostávají prostřednictvím kolostra a mateřským mlékem [3]. Zdrojem mateřského mléka je mléčná prsní žláza, která je regulována mateřskými hormony. IgA se přenáší sliznicí přes mléčnou tuto žlázu. IgA se na sliznici přenáší přes epitelální buňku, tomuto pochodu se říká transcytóza. Váže se na Fc receptor, dojde k přenosu na lumenární stranu buňky, kde fúzuje s membránou a část sekreční komponenty se odštěpí [3].



**Obrázek 5: Přenos protilátek z matky na plod/novorozence**

Převzato z: [25]

Matčiny IgA stejně jako IgG slouží k pasivní ochraně před mikroby a alergeny ve střevě. Kojení tak oddaluje expozici střevní sliznice potravním antigenům a působí pozitivně na střevní mikroflóru [3,25]. Vede k přiměřenému nastavení slizničního imunitního systému. Dlouhodobé kojení bylo dlouho jediným východiskem pro snížení rizik infekcí v časných fázích života jedince [3]. Mateřské mléko obsahuje lehce stravitelné, nutričně významné látky a buňky imunitního systému (NK, T a B lymfocyty, makrofágy), které produkují cytokiny podílející se na vývoji buněk IgA u novorozence [20]. Mateřské mléko působí tedy pozitivně a má imunomodulační vlastnosti. Tyto vlastnosti vedou k subklinickým a nikoli klinickým infekcím, které postupně stimulují paměť IgA proti potenciálním patogenům [25] a současně potlačují zánět. Kojení se nedoporučuje pouze matkám s HIV [3].

Vlivem potlačení imunitního systému reaguje novorozenec pouze na omezený počet antigenů. Neonatální B lymfocyty jsou schopné produkovat IgE, jen za předpokladu dostatečného množství IL-4. Minimální produkce IgE není způsobena nezralostí B lymfocytů, ale nedostatečností IL-4, který je normálně produkován TH lymfocyty. Další molekulou



důležitou pro směrování B lymfocytů k přechodu na produkci IgE je molekula CD40 prostřednictvím interakce s jeho ligandem na T buňkách. Ke zvýšené tvorbě IgE dochází v pozdějším stádiu dítěte, kdy plně dozrávají T lymfocyty a mohou tak produkovat dostatečné množství IL-4 [20].

Vývoj lidského imunitního systému je nepřetržitý proces, kdy jak urychlený, tak i zpomalený vývoj je škodlivý [25].

## 5 Slizniční imunitní systém

Největší součástí imunitního systému je slizniční systém, který je denně vystavován velkému množství antigenů z vnějšího prostředí, nejvíce potravinovým a mikrobinálním. Slizniční imunitní systém musí rozlišovat neškodné a nebezpečné antigeny a nacházet tak rovnováhu mezi imunologickou reaktivitou a neodpovídavostí (tolerancí) [19]. Imunitní systémy sliznic jsou vzájemně propojeny, může tak docházet k migraci T a B lymfocytů [3].

Nejvýznamnější složkou slizničního imunitního systému je gastrointestinální trakt (GALT), který nese největší antigenní zátěž [27]. Mechanismus slizničního imunitního systému gastrointestinálního traktu je zaměřen spíše na neodpovídavost. Lidský gastrointestinální trakt je složen z několika orgánů s komplexní buněčnou a funkční strukturou a není zodpovědný pouze za rozklad a absorpci živin, ale také za udržování homeostázy (stálosti vnitřního prostředí) [28,29].

### 5.1 Buněčná a funkční struktura intestinální sliznice

Anatomicky je střevní sliznice rozdělena do tří vrstev. První, která je nejbližší střevnímu lumenu se skládá z jedné vrstvy epitelálních buněk připojených k bazální membráně [27]. Povrch epitelu je organizován do klků a střevní epitelální buňky v něm mají schopnost rychlé obnovy [29]. Mezi nimi se nachází panethovy buňky, které jsou schopné vylučovat defenziny a cytokiny jako antimikrobinální produkty. Epitelální buňky jsou v těsném spojení a tvoří první ochrannou bariéru před vniknutím antigenu skrz sliznici [29]. Tato vrstva má resorpční úlohu a je potenciálním místem pro adsorpci mikroorganismu [3]. Dále buňky epitelu reagují se sekrečními imunoglobuliny IgA a s intraepitelovými T lymfocyty. Tvoří TGF- $\beta$ , který tlumí nežádoucí aktivitu lymfocytů. Epitelové buňky se podílejí na prezentaci antigenu T lymfocytům [3,30].

V první vrstvě, ve spodní části krypt, se nachází pluripotentní kmenové buňky, které se mohou diferencovat do pěti typů epitelálních buněk, kterými jsou: pohárkové buňky, endokrinní, sekreční panethovy a M-buňky. Pohárkové buňky pokrývají buňky epitelové a vylučují hlen (mucin), který přispívá k ochraně před vniknutím bakterií [27]. M-buňky a enterocyty zprostředkovávají transport antigenu přes epitelální vrstvu a předkládají ho APC buňkám, kterými jsou například dendritické buňky (DC) a střevní makrofágy, které antigen

zpracují a ve vazbě na buňky MHC I. nebo II. třídy ho předloží T lymfocytům [27]. DC pravděpodobně hrají rozhodující roli při indukci tolerance a alergické senzibilizace [31].

Druhá vrstva, lamina propria (LP), se skládá ze subepiteliálních pojivových tkání, rozptýlených imunitních buněk a tkáňově specifických lymfoidních struktur, jako jsou Peyerovy pláty a v nich specializované M-buňky a izolované lymfatické folikuly [29]. Třetí vrstva je známá jako muscularis sliznice a skládá se z hladkých svalových vláken [27].

Vzhledem k vysokému počtu imunitních buněk, které se ve sliznici nacházejí, je střevo považováno za hlavní orgán při rozvoji orální tolerance a dále také při indukci potravinové alergie [29]. Mechanismus orální tolerance byl již popsán v kapitole 2.3 této práce. Nedosažení vhodné rovnováhy tak může vést ke ztrátě tolerance, což vede ke vzniku zánětlivých onemocnění, jako je onemocnění střev nebo reakce na neškodné, zprostředkovaná IgE [31]. V případě většiny potravinových antigenů by jejich expozice měla v ideálním případě poskytovat kompletní absenci imunitní odpovědi nebo indukovat toleranci. Je zřejmé, že imunitní systém sliznice musí být schopný nějakým způsobem rozlišovat mezi antigeny vyžadující aktivní imunitní odpovědi a antigeny, které vyžadují toleranci [19].

## **5.2 Transport antigenu střevní sliznicí**

Potenciálně imunogenní proteiny nejprve podléhají denaturaci a degradaci pomocí trávení ve střevě. Zde dochází k trávení a vstřebávání živin z potravy. Skutečnost, že tyto procesy mohou hrát roli v senzitivaci (citlivosti) potravinových antigenů, byla prokázána několika studii na myších modelech [27,30,32]. Neporušené proteiny a peptidy, které projdou denaturací a trávením ve střevě, mohou projít epiteliální bariérou několika potenciálními mechanismy, včetně paracelulární difúze, transcytózy a endocytózy M-buněk [30,32]. Antigeny mohou prostupovat až na bazolaterální část sliznice, odkud se dostávají k submukóze [3]. V takovém případě je potřeba vyvolat imunitní odpověď.

Hlavní cesta přenosu přes střevní sliznici je zprostředkována M-buňkami, které jsou vysoce specializované [3,30]. M-buňky jsou typ epiteliálních buněk, které se vyskytují v Peyerových plátech (PP) [29]. Jsou obklopeny intraepitelovými T lymfocyty a aktivně se podílejí na fagocytóze a transcytóze částicových antigenů (včetně mikrobů). Méně účinně reagují na rozpustné makromolekuly ze střevního lumenu [30]. Tyto buňky nemají schopnost migrovat do mezenterických lymfatických uzlin (MLN) a nemohou aktivovat naivní T lymfocyty, ale mohou přenášet antigeny do lamina propria (LP). V LP se nachází lymfatické folikuly

obsahující lymfocyty a APC buňky. Zralé B lymfocyty, které se vyvíjejí podle stimulace antigenem. V LP jsou také malé T lymfocyty, schopné migrace do jiných slizničních imunitních systémů. Nachází se tam také CD4+ lymfocyty, které působí tlumivě na rozdíl od CD8+, které jsou na povrchu sliznice a působí cytolyticky [3]. APC buňkami jsou střevní makrofágy a DC, ty zpracovávají antigen a po vazbě na molekuly MHC I nebo II ho předloží T lymfocytům [3,30,32]. Intestinální DC a makrofágy mají navíc schopnost přímo rozlišovat antigeny ve střevní lumen prodloužením dendritů mezi epiteliálními buňkami [27]. Intestinální epiteliální buňky mohou také přímo prezentovat antigeny T lymfocytům ve střevě [30].

Odolnost vůči gastrointestinálnímu trávení může přispět k alergizaci. Jakmile bílkoviny a peptidy z potravy dosáhnou tenkého střeva, mohou být transportovány přes epiteliální střevní bariéry k základní bazolaterální straně a distribuovány odtud do celého těla. Existuje hypotéza, že transport zprostředkovaný M-buňkami vyvolá lokální nebo systémovou imunitní reakci na antigen, zatímco transportování rozpustného antigenu prostřednictvím enterocytů, vede k potlačení imunitního systému a k indukci tolerance na příslušný antigen [27].

### **5.3 Mechanismus reakce na antigen v trávicím traktu**

Jak již víme, hlavní antigenní výzva, které střevo musí podstoupit, pochází z požitých potravinových antigenů. Za normálních okolností způsobuje perorální podání proteinových antigenů systémovou neodpovídavost a podporuje tvorbu regulačních T lymfocytů (Treg), které dokáží významně kontrolovat střevní zánět a zdá se, že jejich účinky jsou zprostředkované prostřednictvím cytokinů IL-10 a transformačního růstového faktoru (TGF- $\beta$ ) [30].

Je prokázáno, že DC se podílejí na specifické imunitě. Pro sliznice je typická převažující aktivita subsetu TH2 lymfocytů a zároveň je tlumena aktivita TH1 lymfocytů prostřednictvím cytokinů IL-10 a TGF- $\beta$  [31]. Tyto pochody vedou k tvorbě sekrečního IgA a subsetu TH3 neboli Treg lymfocytů. Treg lymfocyty za pomoci IL-10 a TGF- $\beta$  blokují působení TH1 lymfocytů. IL-4 a TGF- $\beta$  regulují izotypové přepnutí směrem k tvorbě IgA [3,31].

Když antigen pronikne do střevní sliznice, je transportován M-buňkami do LP, kde je zachycen APC. Po zpracování je předložen TH1 a TH2 lymfocytům. TH2 lymfocyty produkují cytokiny potřebné pro aktivaci B lymfocytů. Ty zrají a dle stimulace se mění na plazmatické buňky. IgA jsou transportovány na povrch sliznice transcytózou. Buňky

epiteliální a imunitního systému s cytokiny vytváří zánětovou reakci na sliznici. IgA nepodléhá proteolytickým enzymům a zajišťuje na povrchu sliznice buněčnou exkluzi (zabraňují potenciálním antigenům prostupu přes sliznici) [27].

## 6 Senzibilizace plodu potravním alergenem

Senzibilizace je děj, kdy dochází k přímému kontaktu s alergenem a dále k rozvoji imunopatologické reakce zprostředkované IgE [33].

V roce 1906 Rosenau a Anderson jako první navrhli, že senzibilizace alergenů plodu může probíhat již během těhotenství. O sto let později je tato hypotéza stále předmětem diskuse. Zvýšené hladiny IgE z pupečnickové krve (CB) mohou být markerem pro prenatální senzibilizaci, proto bylo provedeno mnoho studií k objasnění načasování a základních mechanismů primární senzibilizace. Fetální původ IgE může poukázat na to, že specifický IgE může sloužit jako prediktor atopické senzitivizace a alergických onemocnění později v životě [34]. Je více než pravděpodobné, že se organismus setkává s alergenem ještě dříve než přímým kontaktem, a to během embryonálního života, prostřednictvím matčiných antigenů a specifických IgE a dalších protilátek. Osud alergického dítěte závisí na vystavení plodu alergenu odvozeného od matky [35]. Výrazné změny imunitní odpovědi, které mohou předcházet alergickým reakcím, jsou zjevné dávno předtím, než se symptomy projeví [35].

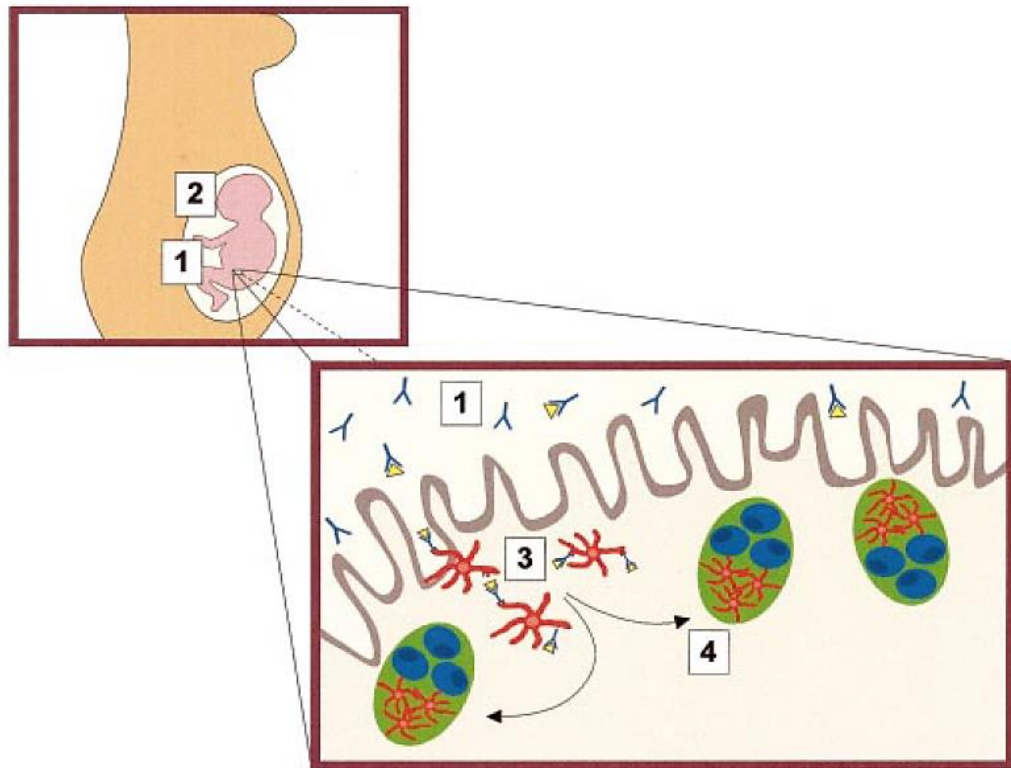
### 6.1 Expozice alergenu u plodu

Převod matčina alergenu může senzibilizovat imunitní systém plodu a podporovat imunitní reaktivitu nebo toleranci k přenesenému antigenu [20]. Existuje několik cest, kterými se alergen dostane k plodu. Jedná se o místa mateřského a plodového rozhraní [36,37], které představuje placenta, plodová voda a pupečnickovou krev [36]. Je prokázáno, že nejvíce se přenáší inhalační a potravní alergeny, zejména alergeny kravského mléka a slepičího vejce. Většina transportovaných alergenů se udržuje v placentární tkáni a neprostupuje do pupečnickové krve [36].

Specifická reaktivita na alergen byla zjištěna od 22. týdne embryonálního vývoje. Kdy imunitní systém plodu dosahuje takové zralosti, která umožňuje zahájení specifické imunitní odpovědi ještě před narozením [20,36].

Je prokázáno že matčina expozice alergenům během těhotenství je úměrná s rizikem vzniku alergie plodu po narození [20].

Přenos alergenů z matky na plod je závislý na dávce alergenu a na jeho molekulové hmotnosti [33].



- 1) Matěské IgE v plodové vodě
- 2) Přenos na plod (polykání)
- 3) FcεRI mediovaná absorpce antigenu
- 4) Usnadňování prezentace antigenu

**Obrázek 6: Senzibilizace v těhotenství**

Převzato a upraveno z: [36]

### 6.1.1 Transplacentární expozice

Nejdůležitější cesta expozice alergenů vede pravděpodobně přes hemochorionální placentu. Alergeny jsou k plodu transportovány placentou většinou v komplexu s IgG protilátkami matky [20,38]. Aktivní přenos IgG je zprostředkován neonatálním receptorem pro Fc fragment IgG (FcRn), které jsou vyjádřeny na povrchu syncytiotrofoblastu. Jak je zmíněno

v kapitole 4., protilátky IgG jsou transportovány od 20. týdne gestace a jejich koncentrace se zvyšuje s každým týdnem těhotenství, maxima dosahují v 32. týdnu těhotenství [36]. Expozice alergenu v komplexu s IgG se tedy vyskytne optimálně v třetím trimestru těhotenství [38].

Placenta je orgán, který se vyvíjí během těhotenství ve sliznici dělohy. Jeho primární funkcí je umožnit látkám v krvi matky difúzi do krve plodu. Za normálních podmínek se krve matky a plodu nemíchají nebo nepřicházejí do přímého kontaktu, protože jsou odděleny bariérou. V placentě se živiny a kyslík rozpuštěny v matčině krvi difundují bariérou do krevního oběhu plodu, čímž podporují život a růst plodu do narození [39]. Důležitou roli představuje syncytiotrofoblastová membrána, jejíž plocha je zvětšována úměrně s plodem a je v bezprostředním kontaktu s krví matky. Matčina krev obsahuje buňky imunitního systému, protilátky a další biologicky aktivní látky. Nejvýznamnější funkcí je tak ochraňování plodu. Syncytiotrofoblast má funkci sebeobnovy a slouží jako dialyzační membrány, a to v obousměrném transportu molekul. Placentu pokrývají buňky vilózního trofoblastu, tvoří rozhraní a podílejí se na látkové výměně mezi mateřskou krví a fetální cirkulací [36,39]

### **6.1.2 Amniotická expozice**

Plodové voda neboli amniotická tekutina představuje prostředí obsahující mateřské IgE a další specifické složky které obalují plod [35,36,38].

Matky s vysokou hladinou IgE, které jsou samy o sobě atopické, vystavují plody jejich vyšším množstvím IgE skrze amniovou tekutinu, přestože IgE nepřekročí placentu do oběhu plodu. Je rozumné předpokládat, že kombinace IgE v amniotě tekutin a IgE receptorů na buňkách prezentujících antigen ve fetálním střevě vytváří prostředí, které usnadňuje senzibilizaci na extrémně nízké hladiny antigenu [38].

Plod je tedy přímo vystavován antigením složkám z amniotické tekutiny. To vede k potenciální alergické senzibilizaci plodu, zejména v důsledku polknutí, respirace plodové vody nebo vysokou propustností pokožky plodu [38]. V těchto místech je větší expozice, tedy na kůži, v dýchacím a gastrointestinálním traktu vznikají po narození nejčastější alergické potíže [35,36]. Nejvíce do kontaktu s alergenem přichází trávicí trakt prostřednictvím požívání/polykání amniotické tekutiny. Stejně jako u dospělých, střevo je hlavní cestou senzibilizace plodu. Zatímco neexistují žádné zralé APC nebo T buňky v kůži nebo dýchacích cestách, fetální střeva mají zralé a imunologicky aktivní buňky [38]. Alergen



tam přichází do styku s lymfatickými strukturami, jako jsou lymfatické folikuly, peyerovy pláty, M-buňky a další. Tyto struktury jsou zralé již v 19. týdnu embryonálního vývoje [20,36], jak je uvedeno v kapitole 4. Od druhého trimestru těhotenství jsou buňky vyvíjejícího se imunitního systému ve střevě schopné prezentovat antigeny T lymfocytům, stejně jako exprimovat receptory s vysokou afinitou a s nízkou afinitou pro IgE a IgG [20]. APC jsou detekovatelné ve fetálním střevě již od 11. týdne těhotenství [38].

Přítomnost alergenů je často detekována právě v plodové vodě. Odběr neboli aminocentézou se provádí mezi 15. – 20. týdnem těhotenství [37]. Specifické IgE je detekovatelný v plodové vodě od 16. – 17. týdne těhotenství [36]. Tento včasný kontakt by mohl vysvětlit následnou senzibilizaci na potraviny, které nebyly nikdy dříve konzumovány. Alergenový ovalbumin ve vajíčku byl detekován u AF potkanů po příjmu matek [37].

## **6.2 Mechanismy senzibilizace plodu**

Imunitní systém v prenatálním a časném postnatálním období je považován spíše za tolerogenní než imunogenní. Tolerance nebo imunizace u novorozenců závisí především na povaze APC buněk a dávce antigenu [36]. Vývoj alergických specifických protilátek je ovlivněn expozicí alergenů, prezentací alergenů přes buňky prezentující antigen a následném rozpoznáním [34].

Vzhledem k průchodnosti IgG placentou, je známo, že v polovině těhotenství dochází k senzibilizaci alergy. Prekurzory T lymfocytů jsou v tuto dobu dostatečně zralé na vystavení alergenu. TH2 a Treg lymfocyty v amniotické tekutině mají úlohu při ochraně plodu před matčinými látkami. Amniotická tekutina obsahuje IgE i IL-4, o kterém je známo, že upřednostňuje FcεRI na žírných buňkách, může mít ale stejný účinek i na dendritické buňky [35]. B lymfocyty s nízkou afinitním receptorem IgE, umožňují detekovat určité množství IgE nebo alergenu a aktivovat tak specifické T lymfocyty. Je pravděpodobné, že dendritické buňky mohou tuto funkci provádět také, ale při nižších koncentracích IgE a alergenu, protože exprimují vysoko afinitní IgE receptor. DC mohou mít primární úlohu v imunitní odpovědi plodu. Receptorem zprostředkovaná endocytóza IgE alergenového komplexu a následné zpracování pro prezentaci antigenního peptidu na molekulách MHC I a II třídy, umožňuje prezentaci malého množství alergenu až s tisíckrát násobnou zvýšenou aktivací alergen specifických T lymfocytů [3,35]. Úplný senzibilizační proces nastává při prezentaci antigenu přes proliferaci T lymfocytů k stimulaci B lymfocytů a produkci protilátek [38].

Zvířecí modely na myších ukázaly, že dávka antigenu, načasování, způsob prezentace a forma expozice antigenu jsou faktory, které regulují, zda se objevuje tolerance nebo je indukována imunitní reakce [34,36]. Dále bylo zjištěno, že dlouhodobá stimulace TH1 lymfocytů přispívá k toleranci a stimulace subsetu TH2 lymfocytů naopak vede k rozvoji imunologické paměti, kdy po první expozici s jednotlivými antigeny dochází k rozvoji alergické reaktivity [36,40]. Tato reakce bývá irreverzibilní. V důsledku toho, je možné, že povaha expozice alergenu na počátku života může přispět ke složitému procesu, který řídí alergickou senzibilizaci a manifestaci onemocnění v průběhu života [40].

Aktivita přenosu IgG v posledním trimestru těhotenství vedla k hypotéze, že alergeny procházejí placentární bariérou navázané na molekuly IgG jako komplexy. Ukázalo se, že lidský IgG zvyšuje translokaci alergenů. Tyto alergeny pak mohou vyvolat produkci fetální IgE nezávisle na mateřském IgE [34]. Alergen, buď volný nebo v komplexu s IgG se ve fetálním oběhu setká s imunitními kompetentními APC buňkami [41]. Závisí na funkční změně novorozeneckých dendritických buněk u potomků alergických matek. Játra plodu od alergických matek se od potomků alergických matek liší zvýšeným počtem dendritických buněk, které jsou kriticky důležité pro generování alergických odpovědí [36]. Tyto studie naznačují, že mediátory, které nespecifikují alergenovou specifitu, mohou být přenášeny z matky na potomstvo a tito mediátoři regulují dendritické buňky potomstva a zvyšují citlivost potomků na vyvolání alergie [36].

Fetální produkce IgE se vyskytuje od 11. týdne těhotenství, kdy byly játra jediným zdrojem, poté během následujících deseti týdnů jsou zdrojem i plíce a slezina [9]. Plod je v tomto stádiu dokonale schopen indukovat odpověď antigen specifickými IgE ještě před porodem. Proces je stimulován prostřednictvím CD40 a IL-4, který indukuje hladiny IgE jako u dospělých. A co je nejdůležitější, bylo poukázáno, že klony reaktivních T lymfocytů byly fetálního, a nikoliv mateřské původu [36].

Je běžnou mylnou představou, že novorozenec je imunologicky naivní. Neonatální lidské T lymfocyty proliferují v reakci na řadu antigenů včetně alergenů. Nicméně plod i novorozenec mají omezenou schopnost nasměrovat imunitní odpovědi, jak z kvantitativního, tak i kvalitativního hlediska ve vztahu ke starším věkovým skupinám. Další modifikace antigenní specifické imunitní odpovědi nastávají postnatálně [35,36].

### **6.3 Mateřské mléko**

Požítky potravinových alergenů přítomných v mateřském mléce během kojení jsou předpokládány jako brána k senzibilizaci potravin [37]. V klinických studiích se uvádí, že mediátory omega-3 a omega-6 polynenasycené mastné kyseliny v lidském mléce jsou spojeny s výskytem astmatu a atopií, ale mechanismus není znám [40].

Lidské mateřské mléko je imunologicky složitá potravina obsahující mnoho ochranných faktorů proti infekčním chorobám během vývojového období imunitního systému novorozence. Mateřské mléko obsahuje vysoké koncentrace sekrečních protilátek IgA, které se podílejí na neutralizaci mikroorganismů, růstových faktorů, cytokinů a chemokinů novorozeneckého střevního epitelu [39].

Dlouhodobé kojení je profylaktické pro výskyt potravinové alergie a astma u dětí do 3-4 let a respirační alergie u dětí do 17 let. Látky obsažené v mateřském mléku mají ochrannou úlohu v rozvoji alergických onemocnění [39].

Někteří pediatři doporučují potravinové omezení v mateřském stravování během laktace, aby se zabránilo senzibilizaci alergenů přítomných v mateřském mléce [39].

### **6.4 Faktory ovlivňující senzibilizaci novorozence**

Postnatální období je rozhodující pro počáteční alergenní senzibilizaci u dítěte kvůli environmentálním a mateřským vlivům, které mohou zahájit nástup atopického procesu. Tyto vlivy jsou velmi různorodé, může to být znečištěné ovzduší, změna stravování během laktace a po ní, kouření cigaret matky, genetická predispozice. Je prokázáno, že matčina expozice alergenům během těhotenství je úměrná s rizikem vzniku alergie plodu po narození [20,38]. Jak už bylo řečeno, zvýšené riziko atopické alergie v ranném dětství je více u potomků atopických matek v porovnání s atopickými otci [20,36,40]. Hlavní cestou alergenu expozice matky je prostřednictvím potravy, v důsledku toho by měla být účinným prostředkem ke snížení přenosu antigenu, eliminace některých alergenních potravních složek [35]. Bylo potvrzeno, že vystavení faktorům životního prostředí, jako jsou chemické dráždivé látky nebo živiny během těhotenství, je spojeno s alergickým onemocněním u potomků [40]

## **7 Diagnostika potravinové alergie**

Diagnostika je soubor metod, které vedou ke stanovení diagnózy, na jejíž základě se dále určuje vhodně cílená léčba. Vzhledem k tomu, že případů s potravinovými alergiemi přibývá a u každého jedince je její rozvoj individuální, je diagnostika potravinové alergie stále obtížnější [42]. Alergologická vyšetření se skládají z několika kroků. Základem pro diagnostiku potravinových alergií je anamnéza, dále fyzikální vyšetření, následují kožní testy, laboratorní diagnostika a eliminační nebo expoziční testy [42,43]. Negativem kožních a sérových testů je falešně pozitivní výsledek, to znamená, že pozitivní výsledky nemusejí nutně znamenat potravinou alergii [44,45].

### **7.1 Kožní „prick“ testy**

Kožní testy neboli „prick testy“ patří k nejpoužívanějším metodám diagnostiky alergií, zejména atopií. Patří mezi testy prováděné na pokožce pacienta, tedy „in vivo“ [45]. Test je založen na extraktu získaném z alergenního zdroje [46]. Je prováděn specialistou v oboru. Na vydezinfikovanou pokožku předloktí se nanese kapky alergenních extraktů. Následně se naruší pokožka jemným vpichem pomocí lancetu. Tak dojde k zavedení malého množství alergenu do epidermis. Reakce se odečítá po 15 minutách. Jako pozitivní výsledek se považuje otok a zarudnutí v místě vpichu, jehož průměr se měří a srovnává s pozitivní a negativní kontrolou [42].

### **7.2 Laboratorní diagnostika**

Testy jsou prováděné mimo tělo pacienta tedy „in vitro“ a jsou o trochu méně přesné než kožní testy [45]. Laboratorní vyšetření slouží zejména pro diagnostiku alergických reakcí, které jsou způsobeny účastí IgE, tedy přecitlivělostí I. typu dle Coombsa a Gella. Alergické stavy uskutečněné jinými mechanismy, nejsou schopny laboratorní testy prokázat [45].

#### **7.2.1 Průkaz specifických IgE ze séra**

Sérologické testy specifických IgE jsou základem laboratorní diagnostiky [43]. Stanovuje se koncentrace specifického IgE ze séra nejčastěji metodou ELISA nebo „western blottem“. Principem je reakce alergenu s monoklonální protilátkou, a následná vizualizace vzniklého imunokomplexu [45].

### **7.2.2 Test aktivity basofilů**

Dalším typem laboratorního diagnostického vyšetření jsou „in vitro“ buněčné testy. Ty vychází z předpokladu, že většina IgE je navázána na žírných buňkách a bazofilech. Mezi buněčné testy tedy patří test aktivace bazofilů (BAT), jehož principem je sledování uvolněných mediátorů (nejčastěji histaminu) v reakci na aktivaci konkrétním alergenem. Dojde k navázání specifických IgE na povrch buněk, což vyvolá jejich degranulaci. BAT se nejvíce uplatňuje, když testy na průkaz specifického IgE a kožní testy jsou nedostatečné a nejasné pro určení diagnózy [44,45].

### **7.2.3 Molekulová diagnostika alergií**

Molekulová diagnostika alergií, jako nejnovější přístup k diagnostice, slouží pro zmapování senzibilizace alergenu u pacienta [46]. Používají se čisté přírodní alergenové extrakty nebo rekombinantní alergenní molekuly. Tato metoda se vyvíjí velmi rychle a předpokládá se, že se stane rutinní v každé imunologické a alergologické laboratoři. Umožňuje zvýšit přesnost v diagnostice a prognóze potravinových i jiných alergií [46].

## 8 Závěr

Tato bakalářská práce je věnována otázce možnosti senzibilizace potravinovým alergenem během embryonálního života jedince. Tato senzibilizace může být uskutečněna třemi možnými cestami na rozhraní plodu a matky. Přes placentu, plodovou vodu a pupečnickovou krev.

Nejdůležitější cesta senzibilizace je transplacentární. Alergenní molekuly procházejí placentou volně, ale častěji v komplexu s matčiny IgG a takto se dostávají přímo do fetálního oběhu. IgG mohou procházet placentou od 20. týdne gestace a jeho koncentrace se zvyšuje každým dalším týdnem těhotenství. Senzibilizace je tedy možná od třetího trimestru těhotenství.

Další možnou cestou senzibilizace potravním alergenem je transport přes plodovou vodu, v které byly detekovány matčiny IgE s alergenními molekulami již v 16. týdnu těhotenství. Matčiny IgE se vyskytují v amniotické tekutině, ale prostupovat placentou nemohou. Jelikož je plod obklopen touto amniotickou tekutinou, mohou se do něj alergenní molekuly dostat resorpcí přes kůži, dále fetus amniotickou tekutinu polyká, takže k průchodu IgE dochází přes střevní sliznici. Tam alergen přichází do kontaktu s lymfatickým střevním systémem sliznice. Plod také amniotickou tekutinu aspiruje, dalším místem kontaktu alergenu je tedy respirační trakt. Na těchto třech místech, kůži, dýchací a trávicí sliznici, dochází po narození k rozvoji alergických onemocnění nejvíce. Vznikají potravinové alergie, astma i ekzém. Většinou se tyto tři alergenní typy doprovázejí.

Imunitní systém dozrává, zejména v gastrointestinálním traktu, kde je největší pravděpodobnost senzibilizace, a je schopen tvořit imunologickou odpověď na přenesené alergenní molekuly nebo matčiny IgE. Již tehdy je imunitní systém plodu schopen rozhodovat o rozvinutí alergenní reaktivity či indukci tolerance na určitý potravinový alergen po narození. Dochází ke zjištění, že plod není imunologicky naivní, tak jak se předpokládalo.

Další cestou, kterou je možná senzibilizace je prostřednictvím mateřského mléka, jehož obsahem jsou biologicky aktivní látky matky.

Matka ovlivňuje rozvoj potravinové alergie dítěte i svojí stravou během těhotenství. Mezi nejběžnější přenesené alergeny patří alergen slepičího vejce a alergen kravského mléka.

## 9 Zdroje

- 1) IGEA, J. M. The history of the idea of allergy. *European journal of allergy and clinical immunology*. Spain, 2013, **68**. [online] dostupné z: <http://www.eaaci.org/documents/The-history-of-the-idea-of-allergy.pdf> [cit.16.04.18]
- 2) BIDAT, Étienne a Christelle LOIGEROT. *Alergie u dětí*. Praha: Portál, 2005. Rádci pro rodiče a vychovatele. ISBN 80-7178-936-4. str.23
- 3) KREJSEK, Jan a Otakar KOPECKÝ. *Klinická imunologie*. Hradec Králové: Nucleus HK, 2004. ISBN 80-86225-50-X. str.649-664
- 4) MORRIS, DR. A. J. *Potravinové alergie*. Brusel: The UCB Institute of Allergy, 2006. [online] dostupné z: <http://www.alergie.cz/download.php?f=Potravinovoe-alergie.pdf>. [cit.14.04.18]
- 5) FERENČÍK, Miroslav, Jozef ROVENSKÝ a Vladimír MAŤHA. *Ilustrovaný imunologický slovník*. Praha: Galén, c2004. ISBN 80-7262-243-9. str.16
- 6) HOŘEJŠÍ, Václav a Jiřina BARTŮŇKOVÁ. *Základy imunologie*. 4. vyd. Praha: Triton, 2009. ISBN 978-80-7387-280-9.
- 7) SICHERER, Scott H. a Hugh A. SAMPSON. Food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. New York, 2010, (125), 116-25.
- 8) CIANFERONI, Antonella a Jonathan M. SPERGEL. Allergology International. *Food Allergy: Review, Classification and Diagnosis*. Philadelphia, USA, 2015. DOI: <https://doi.org/10.2332/allergolint.09-RAI-0138>.
- 9) PRESCOTT, Susan a Katrina A. ALLEN. Food allergy: Riding the second wave of the allergy epidemic. *Pediatric allergy and immunology*. Australia, 2011, **22**, 155-160. DOI: 10.1111/j.1399-3038.2011.01145.x.

- 10) BANNON, Gary A. What makes a food protein an allergen?. *Current Allergy and Asthma Reports*. st. Louis, USA, 2004, **4**, 44-46. ISSN 1529-7322.
- 11) LITZMAN, Jiří, Pavel KUKLÍNEK a Ondřej RYBNÍČEK. *Alergologie a klinická imunologie*. Brno: Vydavatelství IDVPZ, 2001. ISBN 80-7013-345-7. str.44-46
- 12) LEHRER, SAMUEL B., ROSALIA AYUSO a GERALD REESE. *Current Understanding of Food Allergens*. New Orleans, Louisiana, USA: Tulane University School of Medicine, 2002, 69-85. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb04133.x>.
- 13) YOUNGSHIN, Han, Lin JING a Ludmilla BARDINA. What Characteristics Confer Proteins the Ability to Induce Allergic Responses? IgE Epitope Mapping and Comparison of the Structure of Soybean 2S Albumins and Ara h 2. *Molecules*. 2016, **21**(5), 622.
- 14) VERNEROVÁ, Eva. Alergie a astma, současný stav poznání a léčby. *Medicína pro praxi* [online]. Ústav imunologie, 2. LF UK a FN v Motole, Praha, 2012, **9**(4), 156–162. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules21050622> [cit. 7.6.2018]
- 15) WORBS, Tim a Ulrike BODE. Oral tolerance originates in the intestinal immune system and relies on antigen carriage by dendritic cells. *The Journal of Experimental Medicine*. Germany, 2006, 519-527. [online] dostupné z: [www.jem.org/cgi/doi/10.1084/jem.20052016](http://www.jem.org/cgi/doi/10.1084/jem.20052016) [cit. 23.06.18]
- 16) WEINER, Howard a Francisco QUINTANA. Oral tolerance. *Immunological Reviews*. Boston, USA, 2011.
- 17) NOVÁK, Jiří. Vzniku alergie brání imunitní tolerance, vyžadující časný kontakt s alergenem. *Alergie*. Praha, 2014. [online] dostupné z: <http://www.alergieimunita.cz/2012/03/11/imunitni-tolerance/> [cit. 17.04.18]



- 18) PONCE, M a SC DIESNER. Markers of tolerance development to food allergens. *European journal of Allergy and clinical immunology*. Canada, 2016, **71**, 1393–1404. DOI: DOI:10.1111/all.12953.
- 19) BAILEY, M. a K. HAVERSON. The development of the mucosal immune system pre- and post-weaning: balancing regulatory and effector function. UK, 2005, **64**, 451–457. DOI: 10.1079/PNS2005452.
- 20) HOLT, P. G. a C. A. JONES. Allergy. *The development of the immune system during pregnancy and early life*. Australia: Division of Cell Biology, 2000, **55**(8), 688-697. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2000.00118.x>. ISSN 0105-4538.
- 21) ACHATZ, George. News medical life sciences. *New data reveals the evolution of Immunoglobulin E*. Salzburg, 2009.  
[online] dostupné z: <https://www.news-medical.net/news/20090915/New-data-reveals-the-evolution-of-Immunoglobulin-E.aspx>. [cit. 10.03.18]
- 22) The immune system and immunity in swine. Specific humoral immunity: Ig types and structure. *Immunology research Unit* [online]. 2017, [cit. 2018-06-22] Dostupné z: [https://www.pig333.com/articles/the-immune-system-and-immunity-in-swine-specific-humoral-immunity\\_12941/](https://www.pig333.com/articles/the-immune-system-and-immunity-in-swine-specific-humoral-immunity_12941/)
- 23) THOMAS. A. E. American Thoracic Society Journals: American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. *The Role of Immunoglobulin E in Allergy and Asthma*. Virginia: Division of Allergy and Immunology, University of Virginia, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1164/ajrccm.164.supplement\\_1.2103024](https://doi.org/10.1164/ajrccm.164.supplement_1.2103024).
- 24) AMARASEKERA, M. Asia Pac Allergy: Asia Pacific Association of Allergy, Asthma and Clinical Immunology. *Immunoglobulin E in health and disease*. Sri Lanka: Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of Kelaniya, 2011, **1**(1). DOI: doi: 10.5415/apallergy.2011.1.1.12.
- 25) YGBERG, Sofia a Anna NILSSON. Acta Paediatrica: Nurturing the child. *The developing immune system - from foetus to toddler*. Stockholm, Sweden: The

Institution for Woman and Child Health, Unit of Clinical Pediatrics, Karolinska Institutet, 2011, 111-218. DOI: 10.1111/j.1651-2227.2011.02494.x. ISSN 0803–5253.

- 26) SAKUMA, Yoshiko, Ryoko BABA, Kumi ARITA, Hiroyuki MORIMOTO a Mamoru FUJITA. Food allergens are transferred intact across the rat blood-placental barrier in vivo. *Medical Molecular Morphology*[online]. 2014, **47**(1), 14-20 [cit. 2018-06-01]. DOI: 10.1007/s00795-013-0029-9. ISSN 1860-1480. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00795-013-0029-9>
- 27) VERHOECKX, Kitty, Colette LARRE a Nuria CUBELLS-BAEZA. Applicability of epithelial models in protein permeability/transport studies and food allergy. *Drug Discovery Today: Disease Models*. 2016, 13-21. [online] dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2016.08.002> [cit. 23.06.18]
- 28) THON, Vojtěch. Intestinální mikroflóra v raném dětství – úloha při rozvoji infekčních a alergických chorob. *Pediatric pro praxi*. Brno: Ústav klinické imunologie a alergologie LF MU a FN u sv. Anny, 2011, **12**(4), 252–256.
- 29) SAMADI, Nazanin, Martina KLEMS a Eva UNTERSMAJR. The role of gastrointestinal permeability in food allergy. *Annals of Allergy, Asthma Immunology*. Vienna, Austria, 2018. DOI: 10.1016/j.anai.2018.05.010.
- 30) MACDONALD, Thomas a Giovanni MONTELEONE. Immunity, Inflammation, and Allergy in the Gut. *Science mag*. Washington, DC, 2012. DOI: 10.1126/science.1106442. ISSN 0036-8075.
- 31) BOYCE, Joshua, Fred FINKELMAN a William SHEARER. Molecular and cellular mechanisms of food allergy and food tolerance: Mechanisms of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*. Stanford, CA, 2016, , 984-997. [online] dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2016.02.004>. [cit. 23.06.18]

- 32) SAMPSON, Hugh A, Liam O MAHONY a Marshall PLAUT. Mechanisms of food allergy: Mechanisms of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*. New York, 2018, **141**(1), 11-19. DOI: doi: 10.1016/j.jaci.2017.11.005.
- 33) BØNNELYKKE, Klaus, Christian PIPPER a Hans BISGAARD. Sensitization does not develop in utero. *J Allergy Clin Immunol*. Denmark, 2008, **122**(3), 646-651. DOI: 10.1016/j.jaci.2007.12.1149.
- 34) PFEFFERLE, Petra, Serdar SEL, Gisela BÜCHELE a Markus EGE. Cord blood allergen-specific IgE is associated with reduced IFN-g production by cord blood cells: The Protection against Allergy—Study in Rural Environments (PASTURE) study. *J Allergy Clin Immunol*. Germany: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology, 2008, **122**(4), 711-716. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.06.035.
- 35) HOLLOWAY, Judith A. a Gillian H. S. VANCE. Pediatric allergy and immunology. *Early life exposure to dietary and inhalant allergens*. UK: Southampton General Hospital, 2002, **13**(15), 14-18. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1399-3038.13.s.15.5.x>.
- 36) HOLLOWAY, Judith A., C. A. JONES a J. O. WARNER. Does atopic disease start in foetal life?. *Allergy*. UK, 2000, **55**(1), 2-8. DOI: 10.1034/j.1398-9995.2000.00109.x. ISSN 0105-4538.
- 37) PASTOR-VARGAS, Carlos, Aroa S. MAROTO, Araceli DÍAZ-PERALES, et al. Detection of major food allergens in amniotic fluid: initial allergenic encounter during pregnancy. *Pediatric Allergy and Immunology* [online]. 2016, **27**(7), 716-720 [cit. 2018-03-19]. DOI: 10.1111/pai.12608. ISSN 09056157. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/pai.12608>
- 38) WARNER, John. The early life origins of asthma and related allergic disorders. *Archives of Disease in Childhood*. 2004, **89**(2), 97-102. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/adc.2002.013029>.

- 39) RIGATO, P.O., A.E. FUSARO, M.N. SATO a J.R. VICTOR. Immunotherapy. *Maternal immunization to modulate the development of allergic response and pathogen infections*. São Paulo, Brazil, 2009, (1). DOI: 10.2217/1750743X.1.1.141. ISSN 1750-7448.
- 40) COOK-MILLS, Joan. Maternal Influences over Offspring Allergic Responses. *Curr Allergy Asthma Rep*. New York, 2015, **15**(2). DOI: 10.1007/s11882-014-0501-1
- 41) GATFORD, Kathryn, Amy WOOLDRIDGE, Karen KIND, Robert BISCHOF a Vicki CLIFTON. Pre-birth origins of allergy and asthma. *Journal of Reproductive Immunology*. Australia, 2017, **123**, 88-93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2017.07.002>
- 42) MINARČÍKOVÁ, Ivana. *Diagnostika alergie*. Praha, 2018. [online] dostupné z: <http://www.lekarnickekapky.cz/leky/aktuality/diagnostika-alergie.html> [cit. 28.7.2018]
- 43) NIGGEMANN, Bodo a Kirsten BEYER. Diagnosis of Food Allergy in Children: Toward a Standardization of Food Challenge. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. Berlin, Germany, 2007, **45**, 399–404.
- 44) WANG, Julie a Hugh SAMPSON. Food allergy. *Journal of clinical medicine*. 2011, **121**(3), 827-835. DOI: 10.1172/JCI45434.
- 45) HONZOVÁ, Stanislava. Možnosti laboratorní diagnostiky alergie. *Interní medicína pro praxi*. Praha, 2009, **11**(4), 168-170.
- 46) CANONIKA, Giorgio, Ignacio ANSOTEGUI a Ruby PAWANKAR. A WAO - ARIA - GA<sup>2</sup>LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics. *World allergy organization journal*. Vienna, 2013, **6**(1), 17. DOI: 10.1186/1939-4551-6-17.