

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

Adéla Rázková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Specifická alergenová imunoterapie
Bakalářská práce

2023

Adéla Rázková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Adéla Rázková**
Osobní číslo: **C20259**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Specifická alergenová imunoterapie**
Téma práce anglicky: **Specific Allergen Immunotherapy**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

Vypracujte rešerši z odborné literatury zaměřenou na:

- reakce imunitního systému při alergiích
- včasné a správné stanovení typu alergie a určení vyvolávajícího alergenu
- směsné alergenní extrakty
- molekulárně definované alergeny (komponenty)
- specifická alergenová imunoterapie

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **23. prosince 2022**

Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2023

Prohlašuji:

Práci s názvem Specifická alergenová imunoterapie jsem 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., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, 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. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 29. 6. 2023

Adéla Rázková

Ráda bych poděkovala mé vedoucí práce Mgr. Marcele Slovákové Ph.D. za ochotu, vstřícnost při konzultacích a za její užitečné rady. Mé velké díky putuje za mou rodinou, která vše prožívala semnou.

ANOTACE

Práce je zaměřena na léčbu alergií alergenovou imunoterapií, její princip a průběh léčby. Dále je vysvětleno jak imunitní systém člověka reaguje na různé druhy alergenu. Jsou uvedeny způsoby podání alergenu do organismu i různé typy vakcín, včetně rekombinantních alergenů, pro specifickou alergenovou imunoterapii.

KLÍČOVÁ SLOVA

Alergenová imunoterapie, alergie, atopie, protilátka, imunoglobulin

TITLE

Specific allergy immunotherapy

ANNOTATION

The work is focused on the treatment of allergies by allergen immunotherapy, its principle and the course of treatment. It is also explained how the human immune system reacts to different types of allergen. And what types of allergen vaccines can be prepared for immunotherapy with different types of allergen administration.

KEYWORDS

Allergy immunotherapy, allergy, atopy, antibody, immunoglobuline

OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ	10
SEZNAM TABULEK	10
SEZNAM ZKRATEK	11
ÚVOD	12
1. Atopie	13
1.1. Reakce imunitního systému na alergen	15
1.2. Složky imunitního systému účastníci se reakce na alergen	17
1.2.1. Žírné buňky (mastocyty), bazofilní granulocyty	17
1.2.2. Eozinofilní granulocyty	18
1.2.3. Imunoglobuliny	19
1.2.4. Specifický IgE	19
1.2.5. Lymfocyty Th1 a Th2	21
1.3. Průduškové astma	22
1.4. Alergická rýma	23
1.5. Atopický ekzém	23
1.6. Konvenční antialergická medikace	24
2. Alergeny	25
2.1. Vzdušné alergeny	25
2.2. Roztoči	26
2.3. Plísně	27
2.4. Zvířecí alergeny	27
2.5. Léky	27
2.6. Potravinové alergeny	28
2.7. Alergeny včely medonosné	29
2.8. Alergeny vosy obecné	29
3. Specifická alergenová imunoterapie	30
3.1. Způsob podání alergenu a možná rizika	31
3.1.1. Subkutánní	31
3.1.2. Sublingvální	32
3.1.3. Orální	32
3.1.4. Intralymfatické	33
3.1.5. Epikutánní	34

3.2.	Imunoterapie jako prevence	35
3.3.	Mechanismus imunoterapie a účinek na buňky	35
3.4.	Imunoterapie u alergie na kravské mléko.....	37
3.5.	Imunoterapie u alergické rýmy a astmatu	38
4.	Historický vývoj zdrojů alergenů	39
5.	Rekombinantní alergeny a rizika jeho použití.....	41
5.1.	Rekombinantní alergenové proteiny	42
5.2.	Rekombinantní alergeny s nativní strukturou.....	42
5.3.	Rekombinantní alergenové hybridy.....	42
5.4.	Rekombinantní hypoalergeny	42
5.5.	Deriváty alergenu.....	43
5.6.	Rekombinantní alergenové oligomery.....	43
5.7.	Rekombinantní alergenové mozaiky.....	44
5.8.	Rekombinantní alergenové fragmenty	44
	ZÁVĚR	45
	ZDROJE.....	46

SEZNAM OBRÁZKŮ

OBR. 1 PRICK TEST - 1 BŘÍZA, 2 TRÁVY, 3 ROZTOČI Č.1, 4 ROZTOČI Č.2, 5 PELYNĚK, 6 PLÍSEŇ ALTERNARIA, 7 PLÍSEŇ CLADOSPORIUM, 8 KOČKA, 9 PES, 10 AMBRÓZIE, 11 POZITIVNÍ KONTROLA Č.1, 12 POZITIVNÍ KONTROLA Č.2.....	14
OBR. 2 ZÁKLADNÍ STRUKTURA IMUNOGLOBULINU.....	20
OBR. 3 CELKOVÁ STRUKTURA A GLYKOSYLACE (A) SCHÉMA STRUKTURY IGG (B) SCHÉMA STRUKTURY IGE (C) IGG CY2 DOMÉNA OBSAHUJE KOMPLEXNÍ SACHARID PŘIPOJENÝ K ASN297 (D) IGE DOMÉNA CE3 OBSAHUJE SACHARID S VYSOKÝM OBSAHEM MANOSY KOVALENTNĚ PŘIPOJENÝ K ASN394	20
OBR. 4 ČASOVÁ OSA VÝVOJE ZDROJE ALERGENU	40

SEZNAM TABULEK

TABULKA 1 PŘEHLED DOSTUPNÝCH PŘÍPRAVKŮ PRO LÉČBU SIT NA NAŠEM TRHU	31
--	----

SEZNAM ZKRATEK

APC	Antigen prezentující buňka
Breg	B regulační lymfocyt
cDNA	Komplementární deoxyribonukleová kyselina
CD14	Glykoprotein, diferenciační skupina 14
DC	Dendritické buňky
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
ECP	Eozinofilní kationický protein
EDNT	Neurotoxin odvozený od eozinofilů
EPO	Eozinofilní peroxidáza
Fc-receptor	Receptor pro imunoglobulin
FcεRI	Vysoko afinitní IgE receptor
HLA	Hlavní histokompatibilitní komplex
IgE	Imunoglobulin E
IgG	Imunoglobulin G
IgM	Imunoglobulin M
IL	Interleukin
ILIT	Intralymfatická imunoterapie
IS	Imunitní systém
IUIS	Mezinárodní unie imunologických společností
MBP	Hlavní základní bílkovina
mRNA	Messengerová ribonukleová kyselina
PRP	Protein související s patogenezí
PRR	Receptor pro rozpoznávání vzorů

RhD	Rhesus factor
RNA	Ribonukleová kyselina
SCIT	Subkutánní imunoterapie
SIT	Specifická alergenová imunoterapie
SLIT	Sublingvální imunoterapie
TGF- β	Transformující růstový faktor β
Th1, Th2 lymfocyt	Pomocný T-lymfocyt 1 a 2
TLR	Toll-like receptor
Treg	T regulační lymfocyt
TSLP	Thymický stromální lymfopoetin
WHO	Světová zdravotnická organizace

ÚVOD

Tato práce se zabývá léčbou alergií, přesněji specifickou alergenovou terapií. Toto téma jsem si vybrala z osobních důvodů, kvůli vlastním zkušenostem s léčbou alergie a budoucí léčbě alergenovou imunoterapií. Tudiž se práce bude zabývat mechanismy a průběhem alergické reakce, jejím stanovením a zhodnocením léčby.

Alergie je zprostředkovaná IgE protilátkami. Látky, které jsou v okolí běžné, ale alergici na ně imunopatologicky reagují, jsou nazývány alergeny. Alergen je proteinová složka antigenů vnějšího prostředí, který je schopný aktivovat imunitní systém a vyvolá alergický zánět u alergiků. Alergiků neboli lidí s přecitlivělostí je na světě okolo 22 %.

Při prvním styku alergika s alergenem dojde k rozpoznání a zapamatování alergenu, tato fáze se nazývá senzibilizace a dále se dělí na časnou a pozdní reakci. Při druhém kontaktu s alergenem už mluvíme o vlastní alergické reakci, kdy dochází k typickým symptomům alergie. K rutinní léčbě se používají antihistaminika, která potlačují symptomy jako jsou svědění, rýma, slzení a další. Pokud antihistaminika nepomáhají, lékař posoudí, zda je léčba imunoterapií možná.

Při léčbě bude pacient vystaven alergenem s různými způsoby podání. V principu jde o opakované a zvyšující se dávky čistého alergenu v různé formě, aby u pacienta došlo k dlouhodobému snížení imunitní reakce na daný alergen. Přírodní alergeny mohou často způsobit nežádoucí účinky, proto byly vyvinuty různé technologie pro přípravu bezpečných vakcín jako jsou hypoalergeny. Celková léčba je prováděna v časovém úseku 3-5 let.

Příprava čistých alergenů rekombinantní technologií je umožněna pomocí klonování alergenních proteinů. Dnes jsou vytvářeny rekombinantní alergeny, které se rovnají přírodním alergenům, ale nezpůsobují nežádoucí účinky. Takové alergeny jsou využívány k diagnostice nebo terapii při alergiích.

Cílem této práce je shrnout dosavadní způsoby léčby alergie specifickou alergenovou terapií a přiblížit formy léčby. Objasní některé pojmy a nové poznatky od světových akademiků.

1. Atopie

Alergie je hypersenzitivní reakce zařazená jako imunopatologická reakce 1. typu zprostředkovaná imunoglobulinem E (IgE) podmíněná reakcí imunitního systému (IS) [1]. Je to nepřiměřená reakce na látky, se kterými se setkávají lidé každý den, ale reagují na ně pouze alergici (lidé s přecitlivělostí), kterých je ve světové populaci přibližně 22% [1, 2]. Imunitní systém jedince má velice dobrou paměť zprostředkovanou lymfocyty, proto pokud se s alergenem setkává po několikáté, imunitní systém reaguje rychleji a účinněji tvorbou protilátek IgE. Při kontinuálním setkávání alergika s alergenem dochází k trvalé produkci IgE protilátek a vzniku alergického zánětu postižených tkání např. průduškové a nosní sliznice [1, 3].

Alergický zánět způsobují látky poškozující sliznice, zvyšující prostupnost cév a tím dochází k tvorbě hlenu, zarudnutí a otoku, jsou to např. alergeny pylů, roztočů, potravin a další alergeny. Zánět může probíhat i když ho jedinec necítí, říká se tomu minimální perzistující zánět, proto by alergici měli užívat pravidelně antihistaminika, inhalační kortikosteroidy a další léky [1]. Látky uvolňující se ze zánětu jsou bílkoviny (např. žírné buňky, eozinofily, cytokiny a další), které se mohou změřit v krevním séru, moči a výplachu z průdušek [3].

Pojem atopie může být vysvětlena jako dědičně podmíněná abnormální přecitlivělost časného typu na určitý alergen. Často se u alergiků objevují různá alergická onemocnění, většinou jde o tzv. atopický pochod. V dětství se začne vyskytovat atopický ekzém, následně alergická rhinitida s následným rozvojem průduškového astmatu [4].

Riziko vzniku alergie u dítěte, pokud je jeden rodič alergik přibližně 40 %, pokud jsou oba rodiče alergici zvyšuje se riziko projevu až na 80 % [4]. V České republice má třetina lidí geny pro alergické onemocnění, ale jen u čtvrtiny z nich se opravdu projeví [1]. K rozvoji alergie je potřeba mnoho genů, jedny z nich jsou geny pro HLA a TSLP. HLA genový komplex kóduje proteiny molekul hlavního histokompatibilního komplexu. HLA geny se podílejí na rozpoznávání vlastních antigenů a mohou tedy přispět k rozvoji nepřiměřené imunitní reakce proti tělu vlastním tkáním. Geny pro thymický stromální lymfopoetin (TSLP) podporují zrání a aktivaci dendritických buněk. Alergici mají zvýšenou expresi TSLP [3]. Alergie se může projevit v jakémkoliv věku s těžkými šokovými stavy, proto je důležité při prvních příznacích alergie navštívit alergologickou ambulanci a nechat se alergologem vyšetřit [1].

Specializovaný lékař neboli alergolog určí rodinnou anamnézu, zdali pacient má vlohy pro atopii. Pro rozvoj onemocnění je potřeba jak genetická vložka, tak i spouštěče které vyvolají klinickou manifestaci. Dále určí osobní anamnézu zahrnující informace o obtížích (počátek

obtíží, ve kterém prostředí se projevují, kontakt s alergeny a tak dále). Následuje fyzikální vyšetření aspekce a auskultace. Při laboratorním vyšetření se zaměřují na celkovou hladinu IgE protilátek, zastoupení eozinofilů v diferenciálním rozpočtu, jejich absolutní počet a jejich aktivita je stanovena pomocí testu eozinofilního kationického proteinu (ECP). Průkaz specificky alergických protilátek IgE se provádí zřídka, když např. pacient má ekzém a prick test nemůžeme použít. Dalším vyšetřením jsou prick testy, které jsou kožním základním rutinním vyšetřením [5]. Na předloktí se nanese kapky čistého alergenu v roztoku a pomocí malého hrotu se probodne kůže v místě kapky s alergenem. Po 15ti minutách se odečítá velikost pupenu a zarudnutí při pozitivní odpovědi, jako pozitivní se hodnotí pupen o velikosti 3 mm a více [1, 3]. Na obrázku (obr. 1) je vidět pozitivní odpověď na všechny alergeny. Dále se provádí vyšetření dýchacích cest spirometrie [5]. Pomocí biomarkerů jsou vybráni potenciálně reagující pacienti a jsou využívány ke sledování léčby. Subkutánní podání alergenu (SCIT) a sublingvální podání alergenu (SLIT) jsou vhodné jak pro celoroční, tak i pro sezónní alergeny. Po léčbě jsou sníženy lokální infiltrace bazofilů, eozinofilů, žírných buněk i jejich mediátorů [6].



Obr. 1 Prick test - 1 bříza, 2 trávy, 3 roztoči č.1, 4 roztoči č.2, 5 pelyněk, 6 plíseň *Alternaria*, 7 plíseň *Cladosporium*, 8 kočka, 9 pes, 10 ambrózie, 11 pozitivní kontrola č.1, 12 pozitivní kontrola č.2 [7]

1.1. Reakce imunitního systému na alergen

Imunopatologická reakce s účastí protilátek IgE (alergická reakce časného typu či atopie) je nejčastější typ alergie. Definuje se jako přehnaná reakce IS, dostaví se během několika minut po kontaktu s alergenem (složky pylových zrn, antigeny roztočů, zvířecí srst, potravinové antigeny a další) [8, 9]. Průběh alergické reakce se dělí na dvě fáze, první fází je senzibilizace a druhá fáze se nazývá vlastní alergická reakce neboli efektorová. Tato fáze se dále dělí na okamžitou a pozdní reakci [10]. Senzibilizace je období bez klinických potíží, kdy IS rozpozná danou látku jako alergen a zapamatuje si ji. Dochází tedy k prvnímu kontaktu s alergenem a vytváří se malé množství protilátek IgE a protizánětlivých cytokinů (TNF, Interleukin 33). IL-33 je důležitý facilitátor degranulace žírných buněk a zesiluje reakci časné fáze. Při senzibilizaci dochází k zapamatování alergenu zprostředkovanou buňkami specifické imunitní odpovědi [11].

Lymfocyty regulují imunitní systém, podílejí se na kontrole a inhibici nadměrných imunitních odpovědí proti vlastním antigenům a mají důležitou roli při autoimunitních onemocněních. Regulační T lymfocyty (Treg) při zvýšeném počtu snižují citlivost imunitního systému na antigeny, což umožní např. růst nádorů. Naopak při sníženém počtu Treg se zvyšuje síla imunitní odpovědi, což vede k chronickým zánětlivým onemocněním. [12] T lymfocyty regulují alergickou reakci. Podskupiny T lymfocytů mají různé role při procesu alergického zánětu. Cytokiny uvolněné z Th2 stimulují B lymfocyty, které se diferencují na plazmatické buňky produkující IgE protilátky [13].

Plazmatické buňky jsou vývojovým stádiem B lymfocytů. Regulační B lymfocyty (Breg) hrají důležitou roli při regulaci zánětu prostřednictvím IL-10. B lymfocyty mají vrozené antivirové funkce související s organizací lymfoidní tkáně a její remodelací během infekce [13]. Imunoglobuliny IgE se volně pohybují v plazmě nebo se vážou na receptory mastocytů, neutrofilů nebo eozinofilů a dojde k reakci typu Th1, ty způsobí tvorbu specifických T-lymfocytů [9]. Při alergické reakci časného typu se do krve dostává histamin, který je uvolněn žírnou buňkou nebo bílou krvinkou [8].

První krok alergického zánětu je řízen interakcemi mezi epiteliálními a dendritickými buňkami, které zahajují časné a pozdní odpovědi. Uvolnění IL-33 indukovaného nekroptózou a sekrecí TSLP zavede stimuly pro vývoj proalergických dendritických buněk fenotypu 2 [7]. Alergen nejdříve prochází epiteliálními buňkami v nosní sliznici, kde se setká s antigen prezentujícími buňkami (APC) a buňkami epitelu [11]. Specifické protilátky IgE se navážou na membránu

žirných buněk a bazofilů, které mají vysoce afinitní IgE receptor a tvoří tím senzibilizované žirné buňky a bazofily. Afinita znamená schopnost látky či částice shlukovat se s jinou látkou. Poté vylučují chemokiny, které podporují růst nezralých dendritických buněk [8]. Alergické rýmě může přispět dysfunkční epiteliální bariéra [11]. Stimulace histaminových receptorů na sensorických neuronech způsobí svědění a kýchání. Když dojde k internalizaci (osvojení) alergenu ze vzduchu, tak aktivované dendritické buňky migrují do lokálních lymfatických uzlin. Tyto buňky nespecifických mechanismů prezentují antigen a dojde k vyvolání polarizace CD4+ T lymfocytů na efektorové buňky [2, 6].

Druhá fáze nastává při opětovném setkání IS s alergenem. Alergen zesílňuje dva sousední komplexy IgE-FcεRI (FcεRI je vysokoafinitní IgE receptor) na senzibilizovaných žirných buňkách a uvolní prozánětlivé mediátory alergických odpovědí např. histamin, leukotrien, cytokiny, proteázy. Tyto látky jsou z velké části zodpovědné za hypersenzitivitu I. typu, dále způsobují typické symptomy alergie (vazodilatace a konstrikce dýchacích cest) [10]. Dojde k buněčné aktivaci, to znamená spojení vytvořených protilátek neboli imunoglobulinů, které jsou na povrchu žirných buněk a alergenu. Dlouhodobá expozice alergenu aktivuje T lymfocyty a spustí reakci pozdí fáze. Th2 lymfocyty produkují interleukiny (IL-4, IL-5, IL-13), které udržují hladinu alergen-specifických IgE a aktivují nadprodukcii hlenu a přestavbu tkání. IL-4 indukuje přeměnu IgE, má důležité zastoupení při aktivaci žirných buněk a výsledných protizánětlivých následcích [2, 14]. V pozdní efektorové fázi dochází k přestavbě epitelu a projevuje se typicky u alergiků rýmou. Dýchací cesty jsou zúžené a produkují větší množství hlenu, u pacientů trpících dermatitidou jsou projevy svědění a otoky způsobeny vazodilatací [10]. Imunopatologické reakce jsou rozděleny do 4 skupin podle Coombse a Gella, tato práce se bude zbývat pouze reakcí I. typu [15].

Histamin vyvolává typické projevy alergie např. svědění, zarudnutí kůže a vyrážku v případě lokálního vstupu alergenu do organismu, kdy se IS snaží vypudit ze sliznic parazity. Při systémovém vstupu může docházet k anafylaktickému šoku, jelikož dojde k proniknutí alergenů do krve jedince a způsobí hromadnou degranulaci bazofilů. Uvolněné mediátory zvýší permeabilitu cév a dojde k poklesu krevního tlaku (způsobí otok plic, ischémii mozku). Vliv na reakci má prostředí (exprese alergenu) i infekce. Opakované respirační infekce způsobí bronchiální hyperreaktivitu, která může ovlivnit reakci na neškodné vdechnuté antigeny. Naopak i absence intestinálních (střevních) parazitů v dětství by mohla ovlivnit vývoj slizničního IS a způsobit náchylnost k reakci IgE s neškodným antigenem [8, 9].

1.2. Složky imunitního systému účastnící se reakce na alergen

1.2.1. Žírné buňky (mastocyty), bazofilní granulocyty

Žírné buňky i bazofilní granulocyty jsou primární efektorové buňky alergií a reagují přímo na alergen. Uvolňují tři hlavní skupiny prozánětlivých mediátorů a produkty předem vytvořených granulí (např. histamin), které způsobují patologické poškození a příznaky alergie. Mastocyty i bazofily jsou nezbytné při vzniku alergie [2].

Žírné buňky se diferencují v kostní dřeni, podle struktury a lokalizace se rozlišují 2 druhy – pojivové a slizniční. Žírné buňky mají za hlavní cíl obranu proti parazitickým infekcím, regulaci imunitní odpovědi a komunikaci mezi nervovým systémem a IS, také přispívají k metabolismu pojivových tkání. Jsou jedny z prvních buněk, které jsou aktivovány při zánětu. Mají zodpovědnost za časný typ přecitlivělosti na neškodné antigeny při patologické reakci [8].

Jejich charakteristickým receptorem je vysoko afinitní Fc-receptor pro protilátky IgE. Po navázání IgE na receptor žírné buňky lze rozeznat povrchové molekuly parazitů. Po vazbě antigenu na povrch žírné buňky s navázanou protilátkou IgE dojde k agregaci několika molekul receptoru, tím dojde k iniciaci signálu, který vyvolá degranulaci žírné buňky. Uvolněný histamin poškozuje parazita a vyvolá fyziologickou reakci, tím dojde k vypuzení parazita [8]. Spolu s histaminem se uvolňují také sekreční produkty jako jsou tryptázy, chymázy a beta-hexosaminidázy [2]. Jsou to aktivační markery pro žírné buňky, narozdíl od histaminu, ten je aktivačním faktorem pro bazofily. Histamin působí na hladké svalstvo a napomáhá k mechanickému vypuzení parazita. Také polarizuje lidské dendritické buňky na efektorové buňky, které podporují Th2 a indukují adhezi a akumulaci eozinofilů [8]. Při degranulaci mastocyty sekretují několik cytokinů (IL-4, IL-5, IL-6), které působí jako silné prozánětlivé faktory a přispívají k patogenezi alergie. IL-4 rozhoduje, zda dojde k diferenciaci prekurzorů Th na Th2. IL-5 stimuluje eozinofily a IL-6 podporuje vznik imunoglobulinů plazmocyty [2].

Bazofilní granulocyty se diferencují z myeloidních prekurzorů v kostní dřeni. Na své membráně mají vysokoafinitní IgE receptor FcεRI, tento receptor je marker pro aktivaci bazofilů. Funkcí, granuly i receptory jsou si velmi podobní s žírnými buňkami, jsou jejich cirkulující formou, ale nejsou jejich předchůdci [8]. Granulocyty jsou zodpovědné za vznik anafylaktického šoku [2].

1.2.2. Eozinofilní granulocyty

Eozinofily obsahují jádro se dvěma či třemi laloky a velká specifická granula, ty obsahují heparin, peroxidázu a další enzymy. Eozinofily jsou fagocytární a cytotoxické, to znamená že mají schopnost ničit buňky. Jsou podobné mastocytům, ale oproti nim mají dva faktory, které je dělají jedinečným. Mají schopnost rekrutovat se do tkání (nejčastěji plíce a trávicí trakt) při zánětu nebo při přítomnosti parazitu pomocí chemokinu eotaxinu, který je produkován žírnými buňkami nebo epiteliálními buňkami. Druhým faktorem je, že granula obsahují toxické látky (hlavní základní bílkovinu MBP, ECP, neurotoxin odvozený od eozinofilů EDNT, eozinofilní peroxidáza EPO) [16]. Produkují cytokiny IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 [17]. Eozinofily jsou odvozeny od prekurzorů podobných neutrofilům, ale jejich produkci stimulují IL-3 a IL-5. Eozinofily uvolňují mediátory způsobující příznaky alergie. Pokud se cizorodá částice dostane do organismu B-lymfocyty uvolní protilátky, které se naváží na částici. Eozinofily pohltnou komplex alergen-protilátka v plicích nebo trávicím traktu a odstraní tyto částice z těla. Pokud jde o parazita, tak se eozinofily navážou na povrch parazita a uvolní látky, které parazita usmrtí [16].

Eozinofily se tvoří v kostní dřeni a jejich aktivace probíhá pomocí cytokinů nebo chemokinů. Již aktivované eozinofily uvolňují mediátory stejně jako žírné buňky a další tři speciální mediátory, prvním je peroxidáza (uvolní se na povrchu parazita a uvolní kyselinu chlornou), druhým je hlavní bazický protein (poškození vnějšího povrchu parazitů) a třetím je kationtový protein (poškození vnějšího povrchu parazitů, neurotoxin – poškození jednoduchého nervového systému). Aktivace neprobíhá jen při alergii, ale i jinými stimuly, např. aktivovaným komplementem při změně teploty. Bojují také proti parazitární infekci [16].

Eozinofily jsou fyziologicky přítomny v krvi (500 buněk v 1 ml krve), pokud dojde k reakci s IL-3 a IL-5 jejich počet se zvýší, poté se jedná o eozinofilii [18]. Eozinofilie se dělí na mírnou ($0,7-1,5 \cdot 10^9/l$), střední ($1,5-5,1 \cdot 10^9/l$) a vysokou ($>5 \cdot 10^9/l$). Mezi nejčastější příčiny patří atopie, alergická rýma, parazitární choroby (*Toxoplasma canis*), idiopatický hypereozinofilní syndrom, reakce na léky (antibiotika, antipsychotika, antituberkulotika) a další [19]. V průmyslových zemích je nejčastější příčinou mírné eozinofilie alergie. Počet eozinofilů je stanoven s ostatními leukocyty v krevním diferenciálu. Vyšetření se provádí při podezření na infekci, nádorové onemocnění kostní dřene, alergii nebo při preventivní kontrole [16, 18].

1.2.3. Imunoglobuliny

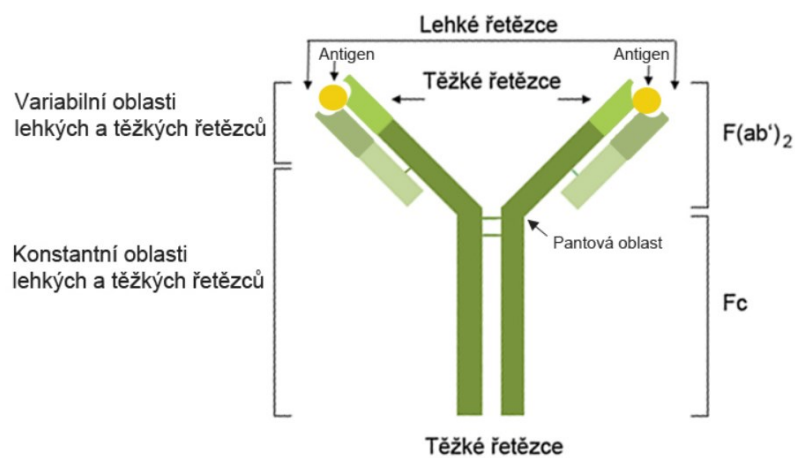
Imunoglobulin neboli protilátka je složitá bílkovina, která slouží k obraně proti cizorodým látkám, ty nazýváme antigeny. Protilátky jsou tvořeny v plazmocytech a tvoří přibližně 20% plazmatických proteinů. Může reagovat pouze s jedním antigenem za vzniku komplexu. Protilátka je monomerní molekula s tvarem ypsilon. Molekula se skládá ze dvou větších a těžších řetězců zvaných H řetězec a ze dvou menších a lehčích L řetězců, které jsou spojeny disulfidovými můstky. Jedna molekula imunoglobulinu se skládá ze stejných H řetězců a stejných L řetězců. Existuje 5 tříd H řetězců (α , γ , μ , σ , ϵ) a 2 třídy L řetězce (κ , λ) [16]. Řetězce jsou tvořeny z domén nebo z homologních oblastí, které jsou tvořeny z 110-120 aminokyselinových zbytků [20]. V L řetězci jsou přítomny 2 domény, variabilní oblast a konstantní oblast. V α , γ , σ řetězci jsou 4 domény. Molekula imunoglobulinu může podlehnout proteolytickému štěpení papainem a vzniknou dva hlavní typy fragmentů, Fab váže antigen a Fc fragment aktivuje komplement. Protilátky obsahují část, která je pro všechny stejná („nožička Y“, neboli Fc fragment) a specifickou část („ramena Y“, neboli Fab fragmenty). Fab a Fc fragmenty jsou spojeny pantovou oblastí, ta poskytuje flexibilitu molekuly. Aminokyselinová sekvence ve variabilní oblasti se nachází v místě, kde se váže antigen, proto je důležitá pro specifitu imunoglobulinu. Základní struktura je pro všech 5 tříd (IgG, IgE, IgM, IgD, IgA) imunoglobulinu stejná [16]. V průběhu života B lymfocytu se může exprese konstantní oblasti H řetězce změnit z IgM přes IgD na IgG, IgE a IgA, tento jev nazýváme izotypové přepnutí [21].

Imunoglobuliny se mohou využívat nejen jako obrana proti cizorodým látkám, ale například i jako imunoglobulinové léčivé přípravky. Využívají se terapeuticky jako substituční terapie, kde se využije imunomodulační aktivita, u osob s imunodeficiencí. Léčivé přípravky se používají již více než 70 let a jsou vyráběny z lidské plazmy [20].

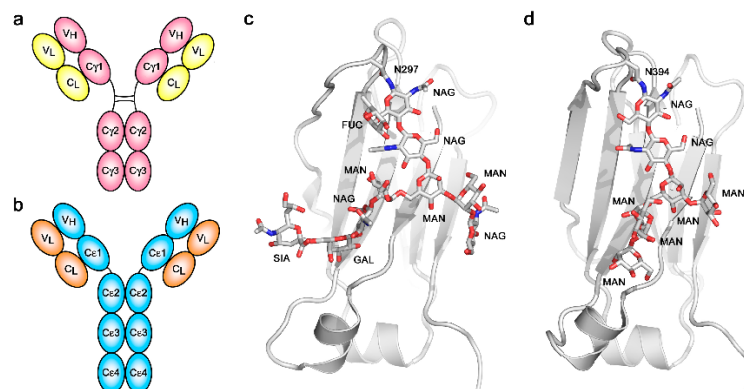
1.2.4. Specifický IgE

IgE byl pojmenovaný jako poslední z pěti imunoglobulinů v roce 1968, je spojovaný s projevy alergické reakce a zajišťuje obranu proti parazitům a zvířecím jedům. IgE se váže na dva hlavní receptory, Fc ϵ RI (vysokoafinitní receptor pro IgE) a Fc ϵ RII/CD23 (nízkoafinitní receptor, podobný lektinu a závislý na Ca⁺²). Fc ϵ RI je exprimován na tkáňových žírných buňkách, bazofilech, epitelu dýchacích cest, APC apod.. CD23 je exprimován na B a T lymfocytech, APC a epiteliálních buňkách dýchacích cest a střev. Komplex IgE-alergen je přenášen pomocí CD23 přes epitel střev a dýchacích cest, tím podporuje prezentaci potravinových alergenů IS. Při zesíťování receptorově vázaného specifického IgE na žírné buňce alergenem dojde

k spuštění signálu pro buněčnou degranulaci, uvolnění mediátorů zánětu a reakci přecitlivělosti. Afinita IgE k FcεRI je o dva řády vyšší než u IgG, proto je zapotřebí jen malé množství alergenu ke spuštění reakce [22]. Struktura dvou receptorových komplexů jako je IgE, má schopnost alosterické komunikace mezi receptorovými vazebnými místy. IgE se nemůže vázat na dva receptory najednou, jinak by trimerní CD23 zesiloval IgE navázaný na FcεRI na žírných buňkách, tím by došlo k aktivaci a zánětlivé odpovědi bez přítomnosti alergenu [16]. Celková struktura IgE se nejvíce liší od struktury IgG, např. chybějící pantová oblast v ε-řetězci, konstantní doména navíc v těžkém řetězci (Obr. 2), odlišná flexibilita a glykosylace a další (Obr. 3) [22].



Obr. 2 Základní struktura imunoglobulinu [23]



Obr. 3 Celková struktura a glykosylace (a) schéma struktury IgG (b) schéma struktury IgE (c) IgG Cγ2 doména obsahuje komplexní sacharid připojený k Asn297 (d) IgE doména Cε3 obsahuje sacharid s vysokým obsahem manosy kovalentně připojený k Asn394 [21]

1.2.5. Lymfocyty Th1 a Th2

T lymfocyty jsou pomocné buňky a odpovídají za buněčnou imunitu. Podskupina cytotoxických Tc lymfocytů zabíjejí buňky, které mají na povrchu antigen rozpoznány jako cizorodý. Pomocné T lymfocyty se dělí do fenotypů Th1, Th2, Th17 a Treg podle toho, jaké produkují cytokiny. Th17 jsou důležité při indukci poškození autoimunitní tkáně [24]. Th1 charakteristicky produkuje interferon γ , IL-12 a TNF- α . Tyto cytokiny vytváří protizánětlivou imunitní odpověď a zvyšují cytotoxickou aktivitu NK buněk, to může vést k autoimunitnímu onemocnění, např. autoimunitní zánět štítné žlázy. Th2 produkují IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 a IL-13. Th2 podporují protilátkovou imunitní odpověď, všechny třídy imunoglobulinů a stimulují eozinofily které produkují protilátky IgE [25]. Treg jsou regulační T lymfocyty, které řídí získanou imunitu. Hrají důležitou roli v patogenezi alergie během fáze senzibilizace. Dnes je zjištěna existence pěti podtypů Treg, které hrají odlišné role při řízení imunitního systému. Nedostatek Treg a Th1 buněk je spojeno s alergickým zánětem způsobeným Th2 imunitní odpovědí u pacientů s alergickou rýmou[26]. Pro správný chod IS organismu musí být vytvořena rovnováha mezi lymfocyty [25].

1.3. Průduškové astma

Průduškové astma (*Asthma bronchiale*) je chronický zánět dolních dýchacích cest a je způsoben remodelací průdušek spojeným s hyperreaktivitou, variabilní obstrukcí, smrštěním hladkých svalů v průduškách, otokem sliznice a tvorbou hlenu, která snižuje průchodnost průdušek [1, 3]. Zánět především postihuje průdušky a projevuje se jako např. hvízdavé dýchání, dušnost, kašel a tíže na hrudi. Podle imunopatogeneze lze rozdělit astma do 3 fenotypů. První a nejvíce rozšířené je atopické astma spojené s eozinofilním zánětem a Th2 imunitní odpovědí. Nejvíce se projevuje v dětském věku a dobře reaguje na léčbu. Atopické astma nese všechny znaky alergického zánětu [27]. Jeho spouštěče jsou inhalační alergeny, konkrétně roztoči, spory plísní, pyly a další [1]. Pro toto astma musí být genetická predispozice, přesně jsou to geny pro Toll-like receptory (TLR), koreceptor glykoproteinu skupiny 14 (CD14) a geny pro HLA II. třídy [3]. Druhý fenotyp je též spojený s eozinofilním zánětem, ale postrádá alergickou příčinu. Projevuje se často až v dospělém věku při autoimunitním onemocnění. Pro třetí fenotyp nejsou dominantní buňky eozinofily ale neutrofilní granulocyty. Mezi jeho rizikové faktory patří kouření a obezita [27].

Alergeny jsou fyziologicky tolerovány, to neplatí pro atopiky. Při kontaktu alergenu s povrchovými a cytoplazmatickými receptory pro rozpoznávání vzorů (PRR) může dojít k aktivaci epitelových buněk a narušení integrity epitelového rozhraní [27]. Pokud dojde k narušení epitelové bariéry, alergen může prostoupit do organismu, kde dendritické buňky pohltnou alergen, zpracuje ho a vystaví ho Th0 lymfocytům, které se diferencují na subset Th2 lymfocytů a alergického zánětu [3]. Po proniknutí alergenu do dýchacích cest dojde k vazbě alergenu na IgE protilátky obsazující receptory FcεRI. Při přemostění těchto receptorů dochází k rychlé aktivaci i degranulaci granulocytů a uvolnění mediátorů zánětu. Z krevního řečiště jsou přitahovány eozinofily a bazofily, které produkují prozánětlivé substance, tím vzniká alergický zánět. Cytokiny a zánětlivé mediátory spojené s reakcí Th2 lymfocytů působí na buňky a tkáň dýchacích cest, kde aktivují buňky hladké svaloviny a způsobí konstrikci bronchů a zvýšenou vaskularizaci stěny průdušek [27].

Při diagnostice astmatu se kontroluje funkce plic spirometrií metodou průtok-objem a také se zjišťuje reverzibilní obstrukce. Toho se dosáhne porovnáním hodnoty usilovného vteřinového výdechu s hodnotou pacienta v kontextu jeho hodnoty vitální kapacity plic. Cílem léčby je udržet astma i budoucí rizika pod kontrolou. Upřednostňuje se podávání léku inhalačně, kde se léčebné látky dělí na dvě skupiny, krátkodobé a dlouhodobé. Látky s rychlým nástupem účinku se používají pro úlevové léčby při výskytu potíží, používají se např. beta2-agonisté ve

Ventolinu. Dlouhodobé účinky se používají pro preventivní léčbu. Jsou to látky blokující alergickému zánětu v průduškách, např. inhalační kortikoidy [3].

1.4. Alergická rýma

Alergická rýma je nejčastějším alergickým onemocněním, který ztěžuje alergikům normální život [1]. Má za následek zhoršení spánku pacienta, problémy s učením a zhoršení pracovního výkonu. Postihuje až 40 % světové populace [6]. Neléčená rýma může přejít až ve vznik astmatu. Mezi nejčastější příznaky patří kýchání, svědění nosu, vodová rýma, může dojít i ke ztrátě čichu a zduření nosní sliznice což způsobí blokaci v dýchání nosem. Alergická rýma se dělí dle příznaků a délce jejich trvání na rýmu intermitentní (občasnou) a perzistující (trvalou) [1]. Nejčastější příčinou rýmy jsou pyly rostlin, doba trvání se odhaduje od jara do konce září, kdy končí pylová sezóna. Další příčinou jsou alergenů roztočů, plísní, zvířat a potravin. Dříve se alergická rýma dělila na sezónní a celoroční. Podávané antihistaminika a kortikosteroidy poskytují pouze dočasnou symptomatickou úlevu [1, 6].

1.5. Atopický ekzém

Atopický ekzém jinak řečeno atopická dermatitida je chronické zánětlivé postižení kůže a postihuje osoby s genem pro alergii v raném věku. Atopický ekzém má alergickou i nealergickou formu [1]. Alergická (extrinziční) forma je spojena s IgE senzibilizací a je přítomna u 80% pacientů. U dospělých převažují reakce na alergenů roztočů, pylů a zvířat, oproti dětem, které reagují na potravinové alergenů [3]. Největší problémy u pacientů jsou v dětství, poté se stav zlepšuje. Nejvíce postižená místa jsou loketní a podkolenní jamky, hřbet ruky, krk a oční víčka. Ekzémem často začíná tzv. alergický pochod [1, 27].

Porušená bariéra kůže usnadní vstup alergenů z vnějšího prostředí. V rozvoji ekzému má vliv funkční převaha Th2 lymfocytů, jejich vliv na syntézu imunoglobulinů přes IL-4, IL-6, IL-13. Rozvíjí se svědivý exantém a lichenifikace pokožky, zvyšuje se počet makrofágů a Langerhansových buněk s vázanými IgE protilátkami [27]. K průniku hnisavé bakteriální infekce dochází přes rozškrábané plochy kůže, tím se zesiluje zánětlivá reakce v kůži. Projevy ekzému jsou různorodé, od zarudlé pokožky s exokoriativními ložisky po mokvavé léze z bakteriální infekce. Staphylococcus aureus kolonizuje kůži u 90% pacientů s atopickým ekzémem, u zdravých lidí je to pouze 5%. Kůže bývá v ložisku suchá, zarudlá, hrubá a šupinatělá [3].

V diagnostice atopického ekzému se nemohou použít kožní testy, proto se používá stanovení specifického IgE. Pro léčbu jsou použity antihistaminika (i s tlumivými účinky na centrální nervovou soustavu) a kortikoidy [27]. Kortikoidy jsou používány ve formě mastí při akutních projevech dermatitidy. Forma léčby se volí dle stádia ekzému, na mokvající plochy se pokládají obklady a krémy, u chronické formy se používají masti. Pro pacienty s těžkým stádiem ekzému je vhodná biologická léčba protilátek proti receptoru pro IL-4, IL-13 [3].

1.6. Konvenční antialergická medikace

Profylaxe (vyhýbání se alergenů) a podání farmak jsou nejčastější způsoby léčby alergie. Z farmak můžeme použít antihistaminika, kortikoidy (inhibují syntézu histaminu a jsou protizánětlivé) nebo kromoglykát (dochází k inhibici degranulace ovlivněním vlastností membrány mastocytů) [8, 9]. Alergické příznaky lze účinně potlačit antihistaminiky, přesto někteří pacienti na ně nereagují [28]. Antihistaminika působí na principu blokády histaminových receptorů. Třetí generace antihistaminik s imunomodulačními účinky jako jsou desloratadin, levocetirizin a další, mají i preventivní účinky např. redukce prozánětlivých IL-4, IL-8, IL-13. Patří tak do symptomatických i do preventivních léčiv. Antihistaminika se mohou podávat jak systémově, tak i lokálně, a to ve formě očních kapek či nosních sprejů [5].

2. Alergeny

Alergen je antigen vnějšího prostředí schopný aktivovat imunitní systém a vyvolat alergický zánět. Zánět tvoří protilátky IgE, které reagují s alergeny a dochází k degranulaci efektorových buněk nesoucí receptory pro IgE. Alergen je většinou složen z proteinů, pro jeho zařazení do názvosloví musí být známá jeho primární, sekundární i terciální struktura, jeho glykosylace, obsah nukleotidů a lipidů, a být prokázána jejich alergenicitá s IgE v séru. Pokud jsou alergeny s definovaným složením, mohou být použity v diagnostice nebo léčbě alergií [27]. Každý zdroj potravy je potenciální alergenní směs bílkovinných molekul, které mohou mít odlišnou strukturu, funkci a biologické vlastnosti. Molekulární komponenty mají definované chemické složení a vyvolají IgE odpověď [29].

Alergeny jsou zařazeny do nomenklatury vytvořené Světovou zdravotnickou organizací WHO a Mezinárodní unií imunologické společnosti IUIS. Nomenklatura vychází z rodového jména zdroje alergenu. Název alergenu začíná velkým písmenem, třemi písmeny začátku rodového jména, následuje mezera a první písmeno druhového jména rostliny či živočicha ze kterého byl alergen izolován, končí se arabskou číslicí zobrazující pořadí, ve kterém byl alergen purifikován z jednoho zdroje. Například jeden z nejzávažnějších zdrojů alergenu je roztoč *Dermatophagoides pteronyssinus*, jeho název bude vypadat takto, *Der p 1* [27]. Dále mohou být členěny na hlavní a vedlejší (minoritní) alergeny. Mezi hlavní alergeny se řadí ty alergeny, proti kterým jsou nalézány z 90% u alergiků specifické protilátky IgE. Jsou to například roztoč *Dermatophagoides pteronyssinus* a *farinae*, dále alergeny hmyzu Blattella. Na vedlejší alergeny reaguje méně než 20 % alergiků, ale jsou odpovědné za zkřížené alergie. Podle novějších poznatků nejsou pojmy hlavní a vedlejší alergen pro přesnou alergologii užitečné. Jelikož existují alergeny, které mají vysokou frekvenci vazby IgE, ale nízký klinický dopad, a naopak alergeny s nízkou frekvencí vazby IgE a vysokým klinickým dopadem na pacienty. Proto by měli být hlavní a vedlejší alergeny nazývány jako molekuly vázající IgE s prokázanou alergenní aktivitou a molekuly vázající IgE [30].

Alergeny se rozdělují dle formy působení na organismus. Inhalační alergeny se dělí na alergeny zevního a vnitřního prostředí a alergeny sezónní nebo celoroční. Dále potravinové alergeny, alergeny v hmyzím jedu a lékové alergeny (musí se odlišit od nežádoucích účinků) [3].

2.1. Vzdušné alergeny

Alergie na pyl se stala během posledních čtyř desetiletí celosvětovým zdravotním problémem. Pylové alergeny jsou hlavním faktorem sezónní alergické rýmy a astmatu. Více než polovina

alergiků s celoroční alergickou rýmou je senzibilizována na pylové alergeny. Vysoká prevalence pylu a jejich velikost přispívá ke zkřížené reaktivitě pyl – potrava. K roku 2016 bylo známo 11 skupin alergenů travních pylů, které vyvolají specifickou IgE odpověď [31]. Pylová zrna uvolňují několik proteinů a glykoproteinů, z nichž jsou některé uvedeny jako alergeny. Ve světelném mikroskopu lze odlišit druhy pylu podle jejich specifického tvaru. V průběhu životnosti pylu se mění uvolňování alergenů [32]. Pyl semenných rostlin produkuje samčí gamety pro následnou reprodukci [31]. Jejich cílem je vyklíčit v samičích rozmnožovacích orgánech rostlin a uvolnit genetický materiál [1]. Pylová zrna mají mnoho vrstev, plazma je obklopena buněčnou stěnou, vnitřní tenkou buněčnou stěnou z celulózy a pektinu, vnější odolná stěna chrání pylové zrno před rozpadem. Alergenní peptidy způsobující alergické symptomy se uvolňují během rehydratace. U břízy (*Bet v1*, *Bet v2*) jsou komponenty uloženy v cytoplazmě v bezvodém stavu, při rehydrataci se komponenty za několik minut uvolní z otvorů na povrch pylu a dostávají se do ovzduší [31]. Alergie na pyly začíná často v raném věku dětí reaktivitou IgE na hlavní komponent *Phl p1*. Nejčastější alergické symptomy jsou rýma, astma, konjunktivitida, slzení a kýčání. Správnou identifikaci hlavního alergenu pro úspěšnou léčbu umožňuje molekulární diagnostika alergie. V Jižní Evropě je těžké rozlišit jednotlivé senzibilizace na pylové komponenty z důvodu překrývajícího se období opylování [33].

Mezi hlavní druhy rostlin, které mohou způsobit pylovou alergii patří např. dřeviny (bříza – *Bet v 1*, líska – *Cor a*, habr – *Car b*, olše – *Aln g*,...), trávy a obiloviny (jílek, psárka, žito, kostřava,...) a byliny (pelyněk, pampeliška, jitrocel, kopřiva, řepka,...). Pylová sezóna je rozdělena na tři období podle nejvíce přítomných pylů. První období je časně jarní období s největším výskytem pylu dřevin. Druhé období je druhá polovina jara až první polovina léta, kdy je nejvíce přítomen pyl trav a obilnin. Třetím obdobím je období vrcholného léta a časného podzimu, kdy převahuje pyl bylin [1].

2.2. Roztoči

Roztoči jsou drobní členovci s délkou těla asi 0,3 mm, proto jsou pro oko neviditelní [1]. Alergeny mají negativní vliv na kvalitu života alergika. Nejdůležitější zastoupení mají druhy *Dermatophagoides pteronyssinus* a *Dermatophagoides farinae*. Roztoči jsou běžní v prachu domácností po celém světě, kdy prach má velikost částic menší než 45 μm. Hlavní komponentou je *Der f1* cysteinová proteináza, která je spojována s astmatem, ekzémem a alergickou rýmou [34]. Proteináza je trávicí enzym ve střevech roztočů, následně jejich výměšky jsou rozptýleny ve vzduchu. Rychlost usazování je úměrná s aerodynamickým průměrem částic. Malé částice mohou proniknout hluboko do dýchacích cest. Roztoči se živí

lidským odpadem z těla, to vysvětluje jejich nejčastější výskyt v lůžkovinách a kobercích. *Der fl* má poločas rozpadu 10 let, proto alergici často perou lůžkoviny a snižují vlhkost v pokoji pod 50 %, aby snížily expozici alergenu roztoče [35]. Zhoršené příznaky alergie mohou nastat ráno nebo v období podzimu, kdy začíná topná sezóna [1].

2.3. Plísně

Nejvíce problémů dělají druhy vláknitých plísni, které produkují spory, což jsou rozmnožovací částičky přenášející se vzduchem [1]. Nejlepší prostředí pro tvorbu spor jsou vlhká místa. Vlhkost je jakákoli viditelná nebo měřitelná nadměrná vlhkost v budovách např. viditelná plíseň, zápach plísně a přímo měřitelná nadměrná vlhkost. Plísně se dělí na venkovní a domovní. Existuje souvislost mezi expozicí plísni v interiéru a rozvojem astmatu u dětí. Druhy vnitřních plísni jsou odlišeny pomocí jejich zbarvením, *Penicilium* a *Aspergillus* mají zelenou a černou barvu na rozdíl od červené barvy charakteristickou pro *Merulius*. V sezóně mohou být obtíže způsobeny vzdušnými venkovními plísněmi např. *Alternaria* a *Cladosporium*. Plísni se lze zbavit pravidelným větráním, odstraněním vlhkých míst v domě a použitím fungicidů [36].

2.4. Zvířecí alergeny

Zvířata jsou nositeli agresivních alergenů, které nejsou v srsti zvířat, ale jsou ve slinách, moči, peří, kožním mazu a krevním séru [1]. Nejvíce agresivní a nejčastější alergeny má kočka domácí *Felis domesticus*, nazýváme ho *Fel d 1* [35]. Alergen psa je *Can f1* a *Can f5*, který je detekovatelný pouze u samců jelikož je to protein exprimovaný v prostatě. Časná expozice dětí do 4 let se zvířaty je spojena s vyšším výskytem alergií. Alergeny přetrvávají v bytech i měsíce po tom, co kočka už v bytě není přítomna. Alergie na psy není rozlišena podle plemene ani podle délky srsti. Většinou dochází k alergizaci s vlastním zvířetem, ale alergii může vyvolat i alergen, kterým jsme nepřímo a nepravidelně vystavováni [36].

2.5. Léky

Nežádoucí léková reakce je škodlivá a nezamýšlená reakce na lék, který byl podán při prevenci nebo léčbě. Léková alergie se řadí mezi typy nepředvídatelných reakcí a tvoří 5 – 10 % nežádoucích účinků. Alergie ovlivňuje kvalitu života pacienta, může vést k opožděné léčbě nebo zvýšené nemocnosti [37]. Nejčastějšími zdroji alergie jsou penicilin, protitetanové a protizáškrtové sérum, inzulin, lokální anestetika atd. [1]. Časté projevy jsou horečka, malátnost, kopřivka, otok a vyrážka, která se šíří po těle až ke končetinám. Při podání intravenózně může dojít k anafylaxi a sérové nemoci. První teorie o schopnosti léku stimulovat imunitní odpověď

je tzv. hypotéza haptenu. Ta předpokládá vazbu léku na makromolekulu sérového proteinu nebo albuminu a následné zpracování buňkami APC, které ho prezentují T lymfocytům. Druhá teorie tzv. hypotéza farmakologické interakce popisuje vazbu léku na povrchový receptor nebo receptor T lymfocytů a dojde k modifikaci struktury, aby byl rozpoznán buňkami imunitního systému jako cizí a mohl stimulovat imunitní odpověď. Mezi faktory zvyšující rozvoj lékové alergie patří např. věk, pohlaví a infekce viry. Alergie se většinou vyskytuje u dospělých osob v mladém nebo středním věku [37].

2.6. Potravinové alergen

Potravinová alergie se dělí na toxické a netoxické reakce. Netoxické reakce mají téměř stejné příznaky jako toxické, ale není vyvolána alergenem. Nejsou imunitně zprostředkované a jsou mnohem častější než reakce toxické. Potravinová alergie může způsobit život ohrožující reakce a byla definována jako nepříznivý zdravotní účinek vyplývající ze specifické imunitní reakce, která se reprodukovatelně vyskytuje při expozici dané potraviny. Běžné formy nežádoucích reakcí na potraviny jsou charakterizovány vývojem IgE proti alergenům, mohou být doprovázeny zánětem zprostředkovaným T lymfocyty a eozinofily [38].

Alergie postihuje 3-8 % dětí a 1-3 % dospělých osob. Mezi nejběžnější potraviny vyvolávající imunitní odpověď patří mléko, vejce, arašidy, ořechy, ryby, pšenice, ovoce a zelenina. Z intolerance na mléko, vejce a pšenici často alergici vyrostou, získají toleranci [38]. Kravské mléko a vejce obsahuje molekulární komponenty živočišného původu způsobující systémové reakce [29]. Alergie na arašidy, ořechy a ryby přetrvávají celý život. Alergie na ovoce (jablka, hrušky, broskve, kiwi) a zeleninu (kořenová zelenina, rajčata) proběhne při doteku i jeho vdechnutí, jsou spojovány s alergií na pyl, přesněji se tu vyskytují komponenty břízy *Bet v 1*. To vede k okamžitým lokálním příznakům jako je svědění, otok rtů a jazyka [38]. Alergie na roztoče může být zkřížená s alergií na koryšce, a proto dochází k alergické reakci při konzumaci např. garnátů. Mořské plody a koryšci obsahují tropomyosin, ten je přítomen i v roztočích [27]. Vaření zničí IgE, ale nechá nedotčené peptidy, které jsou rozpoznány alergen specifickými T lymfocyty [38].

Potravinové orální alergen (arašidy, vejce, mléko) způsobují senzibilizaci prostřednictvím gastrointestinálního traktu. Zkřížené alergen pyl-potravina např. jablečný alergen *Mal d1* způsobují symptomy typické pro alergii. Alergie spojené s IgE se vyvinou již v raném věku dítěte. Kontakt může proběhnout přes dýchací trakt, gastrointestinální trakt nebo přes kůži a indukuje produkci IgE u atopiků. Opakovaný kontakt aktivuje sekundární imunitní odpověď.

Okamžitá alergická reakce se projeví po pár minutách po kontaktu s alergenem a vede k intenzivnímu život ohrožujícímu zánětu. Pozdní reakce se dostaví několik hodin od kontaktu kožními puchýřky [38].

2.7. Alergeny včely medonosné

V jedu včely medonosné (*Apis mellifera*) je zatím určeno 12 komponentů, přitom klinický význam mají jen 7 z nich. Nejvýznamnější a druhově specifická pro včelu je fosfolipáza A2 neboli *Api m 1* podle alergenové nomenklatury. Pacienti na tento alergen reagují z více než 70%. Další druhově specifický alergen je enzym kyselá fosfatáza neboli *Api m 3*. U pacientů probíhá reakce na tento alergen z 50%. Mellitin neboli *Api m 4*, je nejvíce zastoupený ve včelím jedu a je zodpovědný za bolest a zánět po bodnutí. Hyaluronidáza neboli *Api m 2*, patří mezi zkříženě reagující alergeny ve včelím jedu. Na tento alergen je senzitivní minimálně 50% pacientů. Při kombinaci druhově specifického alergenu fosfolipázy A2 (*Api m 1*) a částečně zkříženého alergenu hyaluronidázy (*Api m 2*) je dosaženo senzitivity nad 90% [39].

2.8. Alergeny vosy obecné

V jedu vosy obecné (*Vespula vulgaris*) je pět klinicky významných komponentů. Mezi nejvýznamnější druhově specifické patří fosfolipáza A1 (*Ves v 1*) a antigen 5 (*Ves v 5*), s kterým reaguje více než 80% pacientů. V tomto případě znamená druhově specifický alergen zkříženou reaktivitou s jinými druhy vos či sršňů. Hyaluronidáza (*Ves v 2*), vitellogenin (*Ves v 6*) a dipeptidylpeptidáza (*Ves v 3*) mají zkříženou reaktivitu s včelími alergeny. Při kombinaci druhově specifických antigenů fosfolipázy A1 (*Ves v 1*) a antigenu 5 (*Ves v 5*) dosahují hodnoty senzitivity téměř 100% [39].

3. Specifická alergenová imunoterapie

Specifická alergenová imunoterapie (SIT) je antigeně specifická forma léčby a je založena na terapeutickém podání alergenu [40]. Cílem léčby je změnit zavedenou imunitní odpověď. Opakované podání alergenu různými cestami trvá 3-5 let [28]. Terapeutický přínos SIT je ale individuální s ohledem na diagnózu pacienta, dobu trvání nemoci, druh kauzálního alergenu, celkový stav pacienta, mono / polyvalentnost alergie a kvalitu provedené léčby [41]. SIT postupně způsobí tkáňovou toleranci vůči alergenu a příznivě tak ovlivní alergický zánět [5]. Imunoterapie není účinná u všech pacientů a může způsobit nežádoucí vedlejší účinky [28].

Nežádoucí účinky se dělí na lokální a systémové. Nejčastější lokální nežádoucí účinky jsou edém, erytém, bolest v místě vpichu, svědění a otok. Lokální účinky se týkají přibližně 35-70 % pacientů v prvních 30 minutách po podání alergenu a jsou mírné a krátkodobé. Systémové nežádoucí reakce jako je např. kopřivka, slzení, rýma a anafylaktický šok se vyskytují u 1,5 % dětí a 2 % dospělých pacientů [42].

Pacienti nereagující na konvenční antialergickou medikaci mohou využít imunoterapie, ta navozuje trvalý klinický přínos [6]. Léčba zlepšuje symptomy a snižuje riziko vzniku závažnějších forem např. kdy by se z rýmy stalo astma. Imunoterapie je účinná pro pyly, jedy blanokřídlého hmyzu a další sezónní alergeny, ale u léčby na plísně jsou výsledky méně přesvědčivé [28]. Při závažné alergii na hmyzí jed je nutné zařadit imunoterapii do komplexu léčebných opatření. Imunoterapie je jediná preventivní a účinná léčba, její efektivita dosahuje až 95 % [41]. Cílem personalizované léčby je optimalizovaná léčba pro každého pacienta podle jeho situace [28]. Podpůrná léčba se skládá z klimatoterapie, správné výživy, otužování a popřípadě i akupunktury [5].

Pro výběr vhodného léčebného přípravku a jeho formy podání neexistuje jeden správný postup. Lékař se řídí výsledky z klinického i laboratorního vyšetření a zohledňuje socioekonomický status pacienta, jeho kvalitu spolupráce, věk i toleranci injekcí. U dětí se upřednostňuje sublingvální aplikace v kapkové formě před formou v tabletách. Studenti s polinózou upřednostňují předsezónní terapii před kontinuální celoroční. V tabulce (Tabulka 1) jsou sepsány možnosti léčby alergie spolu s formou aplikace alergenu. SIT může být prováděna spolu s podáváním antihistaminik, ty mohou zlepšit snášenlivost terapie. Antihistaminika blokující receptory mohou tlumit projevy intolerance, ale může dojít k vynechání dávky léku a vznikne riziko systémové reakce. Léčba vede ke zlepšení zdravotního stavu pacienta, k menší spotřebě antihistaminik, také předejde vzniku nových typů senzibilizace [43].

Název	Výrobce	Složení	Aplikace	Léčba	Očkování
Staloral 100	Stallergenes	pyly, roztoči, plísně, zvířata	sublinguální kapky	kontinuální celoroční	interval mezi očkováním a aplikací min. 1 týden
Staloral 300	Stallergenes	pyly, roztoči	sublinguální kapky	kontinuální celoroční	interval mezi očkováním a aplikací min. 1 týden
Oralair	Stallergenes	pyly 5 trav	sublinguální tabletky	předsezonní + sezonní	očkovat možno bez přerušení
Grazax	ALK Abelló	pyl bojínku	sublinguální tabletky	předsezonní + sezonní nebo celoroční	očkovat možno bez přerušení
Phostal	Stallergenes	pyly, roztoči, plísně, zvířata	subkutánní injekce	kontinuální celoroční	interval mezi očkováním a aplikací min. 1 týden
Alutard SQ	ALK Abelló	pyly, roztoči, plísně, zvířata, včelí jed, vosí jed	subkutánní injekce	kontinuální celoroční	interval mezi očkováním a aplikací min. 1 týden
Pollinex	Allergy Therapeutics	Tree: pyly břízy, olše, lísky Rye: pyly 13 trav	subkutánní injekce	předsezonní	zahájit 2 týdny po inaktivované a 4 týdny po živé vakcíně, 10 týdnů po BCG, během léčby neočkovat, po podání poslední dávky očkovat nejdříve za 2 týdny

Tabulka 1 Přehled dostupných přípravků pro léčbu SIT na našem trhu [43]

3.1. Způsob podání alergenu a možná rizika

Při podání alergenu je důležitá jeho koncentrace a forma, ve které je podán. Nejúčinnější způsob podání alergenu závisí na heterogenitě podskupiny APC a funkci v těle [44]. Pro zlepšení bezpečnosti a účinnosti SIT byly rovněž zkoumány různé cesty podávání SIT, jako je subkutánní, sublinguální, orální, intralymfatické a epikutánní [45].

3.1.1. Subkutánní

Subkutánní imunoterapie je dlouhodobá metoda pro léčbu atopického onemocnění. Doporučené alergeny pro SCIT jsou hypoalergeny, alergenové fragmenty, alergenní oligomery a další. Subkutánní podání alergenu je injekcí s nefrakcionovaným extraktem ve vodné formě [46]. Vodné přípravky jsou rychleji vstřebány a jsou velice účinné. Standardizace alergenu minimalizuje nežádoucí účinky při nevhodném dávkování, standardizace probíhá jako kvantifikace dominantního alergenu [44]. Nestandardizované extrakty např. pylový extrakt z japonského cedru, byly používány k léčbě od roku 1969 do roku 2000, kdy se extrakt standardizoval [47].

Pro léčbu pacientů by se měly používat pouze ověřené směsi se známým obsahem a množstvím složky, pokud by byly použity směsi nepříbuzných alergenů, došlo by ke snížení účinnosti léčby. Na začátku léčby (tzv. indukční fáze) se podávají malé množství extraktu alergenu a dávky se pomalu zvyšují, aby nedošlo k závažné nežádoucí reakci např. anafylaxe. Injekce SCIT jsou podávány jednou až dvakrát týdně na začátku léčby, která trvá tři až šest měsíců, poté se interval mezi injekcemi prodlužuje až do měsíčního intervalu [44]. Během 3 leté léčby bylo podáno 54 injekcí, kdy dávky extraktu alergenu trav byly zvyšovány týdně během 16ti týdnů, poté byly injekce podávány měsíčně. Celková doba léčby se pohybuje okolo tří až pěti let [48].

Pokud je léčena alergie na jed, zvyšování dávek je rychlejší. Tady se lze setkat s rychlou nebo ultrarychlou indukční fází, při rychlé je dokončena indukční fáze do pěti dnů, při ultrarychlé je to jeden den s intervalem injekcí jedna hodina. Injekce jsou podány s lékařským dohledem a připraveným adrenalinem. SCIT není kvůli vysokému riziku anafylaxe použit pro alergii na potraviny a latex. SCIT z pohledu bezpečnosti není dostupný pro potravinovou alergii z důvodu vysokého rizika anafylaxe. Lokální reakce se vyskytují u 25% pacientů, systémové reakce mají výskyt 1:500 injekcí. Úmrtí při imunoterapii jsou velice vzácná a způsobená nesprávným dávkováním či užíváním jiných léků. Největšímu riziku jsou vystaveni symptomatictí astmatici [44].

3.1.2. Sublingvální

Sublingvální podání alergenu spočívá v podání alergenu pod jazyk po dobu dvou minut, poté se alergen spolkne [44]. SLIT je široce používán, a to ve dvou formách podání alergenu, buď ve formě tablet v lyofilizované formulaci nebo ve formě kapek ve vodné formulaci extraktu [46]. SLIT je oproti SCIT bezpečnější, ale musejí se používat až 100 krát vyšší dávky alergenu [44]. SLIT má tak nižší imunologické účinky, jelikož vyžaduje vyšší dávky vyvolávajícího alergenu [47]. Oproti SCIT nemusí pacient často docházet do nemocnice na podání dávky alergenu, jelikož může být podáván alergen z domova a je tu možnost úpravy složení alergenu [46]. V roce 2014 byl schválen standardizovaný extrakt z pylu japonského cedru pro polinózu [47]. Jsou minimalizovány rizika vzniku systémových nežádoucích reakcí, ale lokální vedlejší účinky např. svědění v ústech a otoky se vyskytují často. Anafylaxe jsou vzácné u silných alergenů jako je latex. Celková léčba je stanovena na dobu minimálně dvou let a jsou prokázána významná symptomatická zlepšení [44]. Lék Staloral ve formě kapek byl uznán bezpečným a účinným proti travním pylům v koncentraci alergenu 300 IR/ml. V léčbě proti alergenům roztoče byl též shledán bezpečným a účinným i při léčbě astmatu, celoroční i sezónní rýmy. Staloral je předurčen k širokému použití díky jeho složení, flexibilnímu dávkování i použití ve všech věkových kategoriích [62].

3.1.3. Orální

Tato imunoterapie je metoda pro imunoreakci, protože orálně jsou podávány celkem velké množství alergenu a ve střevě jsou přítomny imunitní buňky, které zajišťují podmínky pro imunotoleranci k alergenům produkcí inhibičních cytokinů (IL-10, IL-35). Při normálních podmínkách opakovaná expozice nízkých dávek antigenu podporuje vývoj T-lymfocytů, naopak při vysoké expozici antigenu dojde k anergii T-lymfocytů [47]. Orální imunoterapie je využívána k léčbě potravinové alergie např. alergie na kravské mléko, arašídů, vejce. Dochází

k pravidelnému podávání malých ale postupně se zvyšujících množství alergenů. U tohoto podání jsou velmi časté mírné nežádoucí reakce např. svědění v ústech a krku. Standardizované extrakty jsou pouze pro arašidy [46].

Dříve byla orální imunoterapie používána pro léčbu alergické rýmy, ale v 80. letech 20. století se tato metoda přestala používat z důvodu nedostatečné klinické účinnosti. Také pro časté nežádoucí účinky v gastrointestinálním traktu, které mohli být způsobeny nesprávnou formulací alergenů [47].

3.1.4. Intralymfatické

Při podání intralymfaticky (ILIT) do sekundárních lymfoidních orgánů vykazuje IS větší imunogenicitu. Začátek imunitních reakcí je právě v těchto sekundárních orgánech. Při SCIT jsou do lymfoidních orgánů propuštěno malé množství antigenních epitopů. Proto mohou být vakcíny vpraveny do lymfoidních orgánů v nižší koncentraci i nižším počtu injekcí. Před injekcí je provedena aspirace, aby nedošlo k podání intravaskulárně. Také se pacientům měří maximální výdechový průtok. Ultrazvukové jehly jsou asepticky vpraveny na 30 sekund do povrchové tříselné lymfatické uzliny v třísle. Po injekcích je znovu změřen maximální výdechový průtok a pacient je 60 minut sledován. Lokální i systémové reakce se zaznamenávají lékaři a pacientem během 24 hodin po podání injekce [46]. Injekce zahrnují 3 alergeny, jsou to vnitřní, zvířecí a pylové alergeny. Injekce se podávají s intervalem 4 týdnů a pacient může absolvovat léčbu za 2 měsíce. Celková imunoterapie trvá přibližně tři roky [49].

Zvyšuje se počet studií o intralymfatické imunoterapii (ILIT), tento způsob podání alergenu je velice slibný, ale zatím je nedostatečný pro rutinní použití [49]. Při porovnání SCIT a ILIT ve studii se u SCIT během prvních 4 měsíců se vyskytlo 18 mírných reakcí např. kopřivka a zrudnutí, 2 závažné alergické reakce, kdy způsobené astma vyžadovalo hospitalizovat pacienta. ILIT byl ve studii zhodnocen jako bezpečnější, jelikož pouze 6 pacientů vykazovalo mírné nežádoucí reakce v místě vpichu. Během dalších 24 hodin byly reakce vyvolané pozdní terapií, ale žádná z těchto reakcí nevyžadovala léčbu a pacienti byli schopni léčbu dokončit. Po čtyřech měsících léčby ILIT bylo potřeba k vyvolání alergické reakce u pacienta desetkrát větší koncentrace pylu. Během první pylové sezóny po ILIT pacienti užívali méně antihistaminik oproti pacientům po léčbě SCIT, u pacientů došlo k rychlejšímu navození tolerance alergenu. Po léčbě nebyli známky způsobeného astmatu [48].

Imunizace je účinná proti travnímu pylu, včelímu jedu a kočičímu alergenu, je také účinná proti symptomům alergie a nosního zánětu u alergické rýmy. Potenciál ILIT byl analyzován u

senzibilizovaných myší pomocí anafylaxe [46]. Injekce hlavního alergenu včelího jedu nebo kočičího alergenu byla podána do lymfatických uzlin v třísele. A zvýšil tím specifické IgG a T-buněčnou odpověď, déle stimulovali produkci Th1, které zlepšují ochranu proti anafylaxi. Intralymfatická imunizace vyvolá desetkrát vyšší odpověď IgG s nižší koncentrací alergenu, proto můžeme snížit počet injekcí a zlepšit tak bezpečnost a účinnost [50].

3.1.5. Epikutánní

Epikutánní imunoterapie do vrstvy kůže epidermis využívá vysoké hustoty Langerhansových buněk prezentujících antigen, které se nacházející v nevascularizovaném prostředí, aby se snížilo riziko systémových nežádoucích reakcí. Tyto buňky pokrývají skoro 20 % povrchu kůže. Bylo prokázáno, že lokální dendritické buňky účinně indikují systémové IgG a IgM stejně jako slizniční IgA odpovědi. Imunizace přes epidermis vyvolá silné buněčné odpovědi CD8+ (cytotoxické T lymfocyty), imunizace byla také testována na léčbu rakoviny, Alzheimerovy choroby i na alergii zprostředkované přes IgE protilátky [51]. Vakcinace papainem snížila produkci Th2 přesněji IL-4, IL-5, IL-13 a amfiregulinu. Tyto látky přispívají k indukci fibrotických odpovědí dýchacích cest a cytokinů v průduškách [52].

První epikutánní vakcinace byla použita před více než 3 000 lety při imunizaci proti pravým neštovicím v Indii. Podávali se suché strupy neštovicových lézí na kůži zdravých jedinců. Imunizace snížila úmrtnost z 30 % na méně než 1 %. K druhému oživení této metody došlo na začátku 21. století, kdy byl velký zájem o bez jehlovou imunizaci [51].

Imunizaci provádíme jak alergenem, tak adjuvans, které podáváme ve vyměnitelné kožní náplastí. Samotná náplast na epidermis nevyvolá dostatečnou imunitní odpověď, proto se musí zvýšit permeabilita epidermis. Dříve byla používána jehla, aby narušila škrábáním kůži, tato metoda je nazývána skarifikace. Dnes se upřednostňuje metoda odstranění lepící páskou nebo abrazivní metody. Stahování pásky má imunostimulační účinky prostřednictvím aktivace keratinocytů, které vylučují prozánětlivé cytokiny např. IL-1, IL-6, IL-8. Cytokiny podporují zrání a migraci dendritických buněk do lymfatických uzlin. Jiná alternativní metoda používá ke zvýšení permeability hydrataci kůže použitím okluzivní náplastí, která je mířena na hromadění potu, po dobu 4-10 hodin [51].

V první fázi studie u pacientů léčenými náplastmi obsahující pylový extrakt došlo ke zmírnění příznaků senné rýmy a nebyly hlášeny systémové nežádoucí reakce, jedinými nežádoucími účinky u menšiny pacientů byli mírné lokální reakce. Druhá fáze studie zahrnovala pacienty alergické na travní pyl. Cílem druhé fáze bylo nalézt optimální léčebnou dávku alergenu. Třetí

fáze zkoumala imunologické změny během imunoterapie. Pacientům léčeným touto metodou imunoterapie se snížily symptomy senné rýmy i dávka užívaných antihistaminik [51].

Účinná a bezpečná imunoterapie by měla splňovat několik bodů. Za první by měly být alergeny podávány účinnou cestou, aby cílily na APC. Za druhé by adjuvancia měly být kvalitní a optimální pro imunoterapii. Za třetí se vakcinace alergenu nemůže podávat do vaskularizovaných míst, tím by se zvýšily rizika systémové nežádoucí reakce. Za čtvrté by imunoterapie měla být pro pacienta pohodlná, bezbolestná a dostupná i aplikace z domova. Epikutánní imunoterapie splňuje všechny 4 body, jelikož obsahuje vysoký počet silných APC, adjuvans je optimální, nepodává se do vaskularizovaných míst a je uzpůsobena pro bezbolestné podání z domova [51].

3.2. Imunoterapie jako prevence

Imunoterapie nemusí být použita pouze k léčbě alergií ale i k jejich prevenci, a v některých zdrojích je označena jako vakcinace. Referenční skupina osob léčená konvenční medikací vykazovala mírně snížený práh aktivace bazofilů [6]. Očkování by mělo splňovat určité požadavky. Za první musí být vakcína bezpečná, současné extrakty jsou na přírodní bázi a mohou tak zvýšit alergen specifický IgE. Pro vakcinaci by měly být použity vhodné hypoalergenní vakcíny. Za druhé je důležité vybrat časové okno pro očkování. Vakcinace by musela být provedena před propuknutím onemocnění, předpokládá se, že jedinci s atopickou genetikou jsou senzibilizováni v prvním roce života. Proto se diskutuje o vakcinaci těhotných žen. Zvířecí modely prokázaly přenos alergen specifických ochranných IgG protilátek přes placentu nebo mateřské mléko a můžou tak zabránit alergické senzibilizaci potomků. Za třetí musí být vybrán nejužitečnější panel alergenu neboli výběr alergenu který nejčastěji způsobuje alergické příznaky a závažné formy onemocnění. V současnosti je to předmětem zkoumání. Posledním bodem je nutnost definovat cílovou skupinu dětí u kterých by měla profylaktická léčba největší úspěch. Možností je léčba rizikových skupin (dětí s atopickým rodinným původem) [28].

3.3. Mechanismus imunoterapie a účinek na buňky

Po inhalaci alergenu epiteliální buňky rekrutují dendritické buňky (DC) a polarizují je na proalergický fenotyp DC2. Buňky přijmou alergen a migrují do lymfatických uzlin, kde alergen prezentují T lymfocytům a podpoří vývoj Th2. Th2 lymfocyty usnadní dozrání B lymfocytů a rekombinaci tzv. izotypové přepnutí („class-switch“), ta vede k produkci alergen specifického IgE. Molekula IgE se naváže na vysokoafinitní receptor na bazofilech či žírných buňkách a

dojde k senzibilizaci pacienta. Raná fáze reakce se následně spustí po styku alergenu se senzibilizovaným pacientem [6].

Druhý mechanismus imunoterapie se zakládá na potlačení vývoje fenotypu DC2 a podpoře diferenciaci naivních T lymfocytů na regulační fenotypy označované iTregs [6]. Tento fenotyp produkuje IL-10, transformující růstový faktor TGF- β a IFN- γ , které jsou nezbytnou součástí pro imunomodulační aktivity imunoterapie [63]. Tyto fenotypy potlačují Th2 odpověď a podporují diferenciaci Th1. Inhibice Th2 odpovědi regulačními fenotypy vede ke snížení lokální eozinofilie a brání vzniku IgE a plazmatických buněk. Imunoterapie též indukuje plazmatické buňky Bregs, a vznik nebo produkci IgG a IgA, které produkují blokuující protilátky soutěžící s IgE o vazbu na alergen. Vazbou zabráňují zesílení vysokoafinitních receptorů na žírných buňkách a bazofilech, také inhibují jejich degranulaci [6]. Ve tkáních se redukuje počty eozinofilů, žírných buněk a dalších buněk, které se účastní vzniku a přetrvávání alergického eozinofilního zánětu [41].

Pro monitorování imunoterapie se používají biomarkery i mikročipy, biomarkery se skládají z buněčných, humorálních a *in vivo* kompartmentů. Současné biomarkery zahrnují sIgE, sIgG4, chemokiny, biomarkery *in vivo* a další. Význam podtříd protilátek spočívá v jejich funkčních vlastnostech, distribuci v těle a jejich zapojení do různých imunitních procesů. V současnosti nejsou použity biomarkery pro sledování klinického přínosu na úrovni jednotlivců, k tomu jsou potřeba další studie a potvrzení vhodných biomarkerů pro sledování účinnosti imunoterapie. Poměr sIgE/tIgE (kvantitativně specifický IgE/semikvantitativní celkový IgE v lidském séru) se používá k predikci účinnosti léčby. Pokud dojde ke zvýšení sIgE 4 a jeho inhibiční aktivity v nosní sliznici dojde tím s největší pravděpodobností ke zlepšení alergické reakce. Pro posouzení celkové sérové inhibiční aktivity frakcí IgD, IgA a IgG se provádí IgE test vazby antigenu, tento test je složitý, proto se pro rutinní aplikace používá test ELIFAB (enzyme linked immunosorbent facilitated antigen binding) [6].

Mikročipy neboli microarray obsahující alergeny usnadňují analýzu imunitní odpovědi pacienta a díky nim lze posoudit úspěšnost léčby. Imunochemický princip v mikročipech zahrnuje použití protilátek nebo antigenů k detekci přítomnosti specifických analytů např. protilátky v biologickém vzorku. Tzv. alergenové mikročipy obsahují velký počet alergenů, více než 100 složek, které poskytují profil reaktivity pacienta. Mikročipy usnadňují analýzu imunitní odpovědi pacienta, který se léčí imunoterapií. Také umožní identifikovat mezery v ochraně IgG a odlišit klinicky relevantní odpovědi po očkování od těch nedostatečných. Lze posoudit, zda

vakcinace alergenem úspěšně indukovala IgG na složky alergenu nebo došlo k terapeutickému selhání. Pro další posouzení či předpovědění úspěšnosti imunoterapie se používají testy aktivace bazofilů, tyto testy by mohli být využity místo testů *in vivo* [28].

Léčba imunoterapií upřednostňuje tlumení činnosti Th2, jelikož jsou důležitou součástí při zprostředkování alergického zánětu. Při léčbě jsou zvýšené počty Th1 lymfocytů, chemokinů a IFN- γ . Počet Th2 a jeho cytokinů lze snížit systémově i lokálně konvenčními přístupy imunoterapie. Z výsledků studie subkutánní imunoterapie z roku 2020 vyplynulo, že při léčbě SCIT na pyl byl snížen počet Th2 buněk po šestnácti týdnech, tím došlo k symptomatické úlevě. Počet Th2 přetrval přes celou pylovou sezónu. Studie u dětí alergických na pyl prokázaly trvalý klinický přínos po tří leté léčbě. Při léčbě dojde i ke snížení patogenních podskupin Th2 s reaktivní pamětí např. IL-5+, IL-13+, CD27+ a další. Tyto podskupiny jsou ve skupině nereagujících na léčbu a zůstávají zvýšené, tudíž jsou potencionálními markery pro monitorování léčby. T lymfocyty mají i předpovědní potenciál, před SCIT léčbou alergie na *Dermatophagoides pteronyssinus* byli pacienti testováni. Pacienti, kteří měli vysoce reaktivní stav, nízkou hodnotu Th1, vysokou hodnotu Th2 a vyšší koncentraci IL-5, IL-9 a IL-13 reagovali na léčbu velice dobře [6].

Při imunoterapii jsou jediným producentem alergen specifického IgG4 IL-10 a Breg lymfocyty. Tato podskupina má schopnost vyvolat toleranci prostřednictvím T lymfocytů, tak i vyvolat inhibiční procesy spojené s IgG. I B lymfocyty mají schopnost předpovídat úspěšnost léčby. Zvýšený poměr Breg/Th17 souvisel s indukcí tolerance po třech letech léčby SCIT [6].

3.4. Imunoterapie u alergie na kravské mléko

Pro dosažení tolerance na kravské mléko se používá alergenová imunoterapie. Princip je stejný jako u imunoterapie na pyl, dlouhodobé podávání alergenu se zvyšující se dávkou. Konkrétně v této léčbě se začíná s dávkou mléka v mikrogramech, pokračuje se přes miligramy po gramy mléka orální, epikutánní nebo sublingvální cestou podání alergenu [53]. Přecitlivělost na komponenty kravského mléka se může využít pro vyšetření specifického IgE proti molekulárně definovaným alergenům [29]. Cílem je vyvolání desenzibilizace při opakované expozici alergenního proteinu. Testováno bylo intaktní kravské mléko, tak i částečně hydrolyzované mléko. Při léčbě se často vyskytují lokální vedlejší účinky. Jedním z problémů při této léčbě je, že klinická tolerance přetrvává pouze při imunoterapii, po ukončení léčby klinická tolerance mizí [53].

Ve věkové kategorii 1-20 let bylo použito částečně hydrolyzované mléko, po šestnácti týdnech bylo prokázáno mírné snížení specifických IgE a žádné zvýšené koncentrace IgG4 ani změny degranulace bazofilů. Oproti tomu skupina dvouletých dětí měla výrazně sníženou kožní reaktivitu na mléko a mírně zvýšenou koncentraci specifických IgE. Tudíž přínos imunoterapie lze prokázat pouze u pacientů v mladém věku, kde je významný spontánní výskyt tolerance [53].

3.5. Imunoterapie u alergické rýmy a astmatu

Léčba alergické rýmy má dlouhodobou tradici a je velice dobře prostudována. Léčba je zahájena u pacientů s rýmou způsobenou pyly trav, dřevin, roztočů a pokud se u nich vyskytují klinicky relevantní symptomy např. perzistující alergická rinitida s konjunktivitidou. Alergie také musí být prokázána pozitivním kožním testem nebo pozitivitou specifických protilátek IgE. Pokud pacient trpí monosenzibilizací, tak je léčen na pyly rostlin s dlouhou dobou květu. Pokud pacient trpí polysenzibilizací, tak se nejprve zjistí dominantní alergen způsobující příčinu potíží. V tomto případě bude pacientovi podána vhodná alergenová směs nebo podstoupí aplikaci více vakcín s alergeny [41].

Děti, které podstoupily imunoterapii, vykazovaly snížení rizik vzniku astmatu. Alergická rýma je zprostředkována žírnými buňkami a bazofily nezávisle na antigenu. Imunoterapie snižuje infiltraci efektorových buněk, tím dochází k poklesu histaminu a tryptázy v nosní sliznici pacienta [6]. Po jednom roce léčby se dle studie výrazně snížila citlivost bazofilů na alergen, tato citlivost zůstala podobná i po dalším roce léčby. Po prvních třech týdnech léčby se pokles citlivosti bazofilů dá srovnávat s dlouhodobou klinickou účinností [41].

Léčba astmatu imunoterapií je vhodná pouze pro pacienty s alergickým typem astmatu, který je zprostředkovaný protilátkami IgE a pokud existuje souvislost mezi expozicí alergenů a vznikem potíží. Léčba může být úspěšná, pokud astma je intermitentní nebo jeho forma je lehká, a tudíž je pod kontrolou. U pacientů s nestabilním astmatem může dojít k destabilizaci stavu. Astmatik v průběhu léčby a před každou injekcí s alergenem musí být kontrolován monitoringem plic [41].

4. Historický vývoj zdrojů alergenů

V roce 1911 byly provedeny klinické studie alergenové imunoterapie [54]. Ve stejném roce Leonard Noon dokázal, že opakované injekce extraktu travního pylu snížily citlivost spojivek na pyly trav [55]. K léčbě senné rýmy byly použity alergeny extrahované čistou vodou z travních pylů. Tyto extrahované alergeny ale vykazovaly vysoký počet nežádoucích účinků během desenzibilizace alergenem [54]. Pro zlepšení kvality vakcíny a snížení nežádoucích účinků se extrakt alergenu standardizuje. Vzniknou tak nekontaminované a dobře charakterizované extrakty o známém složení a účinnosti [56].

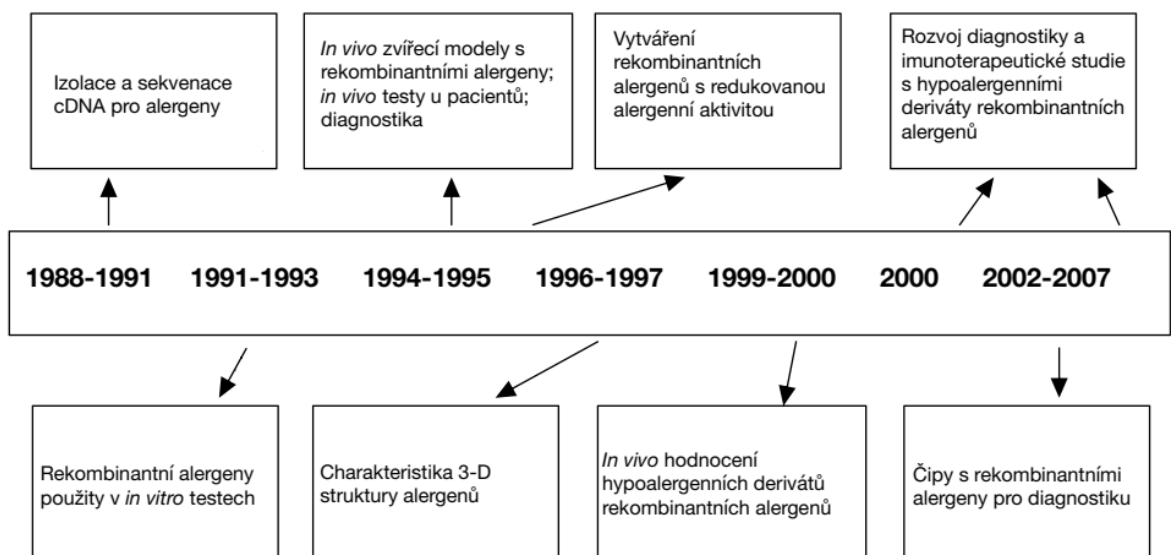
Dnes se používají extrakty standardizované na celkovou alergenní aktivitu a obsahující hlavní alergen [56]. Pro léčbu alergie na pyly břízy jsou používány vodné extrakty [57]. Jeden zdroj alergenu tvoří hlavní a vedlejší alergeny s různým klinickým významem [56]. Poměr hlavního a vedlejšího alergenu je ovlivněn výběrem a zpracováním pylu [57]. Obsahují mimo alergenů i spoustu proteinů, které alergeny nejsou. Složení extraktů je dáno kvalitou suroviny, způsobem extrakce a čištění. Směs rekombinantních alergenů se oproti alergenovým extraktům může připravit s vysokou kvalitou a přesným množstvím alergenu [56].

Alergenní peptidy mají strukturu epitopů pro T lymfocyty, ale nemají strukturu pro vazebné receptory IgE. Jsou cílené na T buněčný receptor, čímž mají snížit vedlejší účinky a zvýšit účinnost indukce imunitní tolerance. Tyto genetické modifikace vedou k hypoalergenicitě alergenních peptidů, proto mohou být použity místo přírodních alergenových extraktů [56].

Ve 40. letech 20. století se začaly používat depotní preparáty alergenových extraktů s příměsí adjuvans. Depotní preparáty se aplikovaly subkutánně a byly použity pro léčbu, narozdíl od alergenů extrahovaných vodou. Alergeny extrahované vodou byly pro jejich nežádoucí účinky používány jen v diagnostických testech. Adjuvancia jsou látky, které se používají jako příměs ve vakcínách, aby zvýšily účinnost imunoterapie a snížily rizika nežádoucích účinků. V 70. letech 20. století byly zavedeny při léčbě alergie alergoidy, které byly připraveny chemickou modifikací alergenních proteinů formaldehydem. Tyto modifikované molekuly mají menší alergenicitu a nežádoucí účinky, též mají stejnou míru imunogenicity. Při destrukci epitopů pro IgE v alergenů došlo ke snížení nežádoucích účinků [56].

První publikace o rekombinantních alergenech byly zveřejněny v Austrálii v roce 1988, kdy byla objevena sekvence komplementární DNA (cDNA), která kóduje hlavní alergen roztočů *Der p 1*. Následující rok 1989 Tscheppe a Breiteneder zveřejnily sekvence rostlinného alergenu břízy *Bet v 1* [54]. V roce 1998 Světová zdravotnická organizace WHO uznala sublingvální

imunoterapii jako bezpečnou alternativní cestu léčby imunoterapie. Na obrázku níže (Obr. 4) je vidět již pokročilý vývoj alergenů pro alergenovou imunoterapii. V roce 2008 byla intralymfatická imunoterapie uznána za efektivní léčbu. V následujícím roce 2009 byla za efektivní představena epikutánní imunoterapie na travní pyly. Dlouhodobá účinnost po třech letech léčby SLIT na travní pyly ve formě tablet byla uznána v roce 2012. V roce 2018 a 2019 byla zkoumána účinnost epikutánní a perorální imunoterapie na alergeny arašídů, ale jejich dlouhodobá tolerance není přesvědčivá. Proto je realističtější cíl dosáhnout snížení rizika vzniku anafylaxe při expozici alergenem, než dosáhnout dlouhodobé tolerance na alergen. V roce 2021 byla představena SLIT ve formě tablety na pyly břízy a japonského cedru. V budoucnu by mohla být imunoterapie personalizovaná dle citlivosti pacienta, to znamená na míru připravené vakcíny obsahující hlavní alergeny nebo hypoalergeny [55].



Obr. 4 Časová osa vývoje zdroje alergenu [58]

5. Rekombinantní alergeny a rizika jeho použití

Dnes jsou vytvářeny rekombinantní alergeny, které se mohou rovnat přírodním alergenům. Rekombinantní alergeny jsou alternativou k přirozeným alergenům, jelikož přirozený alergen můžeme izolovat ze zdroje pouze v malém množství. V diagnostice se využívají *in vivo* pro prick testy a *in vitro* pro stanovení specifických IgE [55]. Hlavní výhody rekombinantních alergenů spočívají v charakterizaci z hlediska fyzikálních, imunologických a chemických vlastností. Vakcíny tak mohou být formulovány s konzistentní vysokou farmaceutickou kvalitou, aby splnily přísnější specifikace, než kterých může dosáhnout extrakt z přírodních zdrojů. Rekombinantní alergeny lze definovat s ohledem na koncentraci a aktivitu každé jednotlivé složky. Alergeny neobsahují žádné nealergenní bílkoviny, které jsou přítomny v extraktu z přírodních zdrojů. Většina rekombinantních alergenů obsahuje několik alergenů, občas se vyskytují případy, kdy je přítomen pouze jeden dominantní alergen např. *Fel d1*, *Bet v1*. První produkty na trhu byly určeny pro alergie na pyly trav, břízy a roztočů [65].

Pokud je zjištěna molekulární struktura proteinu a jeho funkce v imunitním systému umožní to klonování alergenových proteinů pomocí rekombinantní technologie. Klonování deoxyribonukleové kyseliny (DNA) začíná reverzní transkripcí messengerové ribonukleové kyseliny (mRNA) kódující protein do řetězce cDNA [56]. K izolaci mRNA z celkové RNA se používají biotinylovaný oligo primer pro hybridizaci. Hybridy jsou navázány na částice, které jsou zachyceny magnetickým separačním stojanem. Částice jsou promyty a čistá mRNA se eluuje z pevné fáze přidáním deionizované vody. Izolovaná mRNA je ideální pro syntézu cDNA [66]. Po reverzní transkripci následuje přenos do plazmidu mikroorganismu (např. *Escherichia coli*, *Pichia pastoris*), tyto mikroorganismy produkují 10 až 100 kopií DNA [56]. Tyto systémy jsou nejvhodnější a nejefektivnější pro produkci rekombinantních alergenů. Systémy buněčných kultur savců mají vhodné posttranslační modifikace, ale jsou mnohonásobně dražší. Rostlinný produkční systém nabízí několik výhod, např. posttranslační úprava proteinů, nízké náklady a vyšší bezpečnost. Tyto systémy využívají rostlin jako biofaktory pro produkci rekombinantních alergenů [64]. Po transkripci je materiál analyzován a upraven, nejznámější technikou pro úpravu mRNA proteinů je mikrosekvenování proteinů. Ale u prvních rekombinantních alergenů se pretranslační interference před syntézou neprováděly, proto neměly stejnou alergenicitu jako přírodní alergeny [56].

Dostupnost vysoce kvalitních alergenů poskytuje příležitost k získání znalostí o zkřížené reaktivitě mezi alergeny. Tyto informace umožní lepší volbu strategie před zahájením léčby. Použití rekombinantní technologie poskytuje také prostředky ke genetickému inženýrství

variant alergenů, které mají sníženou reaktivitu IgE nebo zvýšenou imunogenicitu. Zvýšila by se tak bezpečnost imunoterapie i jeho snadnější podávání při vyšších dávkách alergenu [65].

5.1.Rekombinantní alergenové proteiny

Podobně jako peptidy i alergenové proteiny mají sníženou alergenní aktivitu a zvýšenou imunogenicitu. Tudiž mají snížené nežádoucí účinky v průběhu imunoterapie, ale stále mají stejnou imunogenní aktivitu vakcíny. V klinických studiích alergenové molekuly buď zachovávají strukturu přírodního „divokého“ alergenu nebo jsou modifikovány [56].

5.2.Rekombinantní alergeny s nativní strukturou

Směsi rekombinantních alergenů napodobují vlastnosti přírodních alergenů. Alergeny obsahují epitopy pro IgE a receptory T lymfocytů, které jsou obsaženy v přírodních alergenech. Směs travních alergenů s hlavním alergenem břízy *Bet v 1* po vakcinaci indukuje alergen specifické IgG protilátky, které blokují vazbu IgE na alergen. Imunizace také vytváří alergen specifické IgE protilátky, tudíž může docházet k senzibilizaci, pokud jsou použity pro primární očkování [59].

5.3.Rekombinantní alergenové hybridy

Alergenové hybridy neboli chimérické proteiny jsou tvořeny genetickými informacemi alespoň od 2 proteinů. Mohou tedy obsahovat kompletní nebo jen části původního proteinu. Tyto molekuly jsou vhodné pro výrobu vakcín pro zdroj alergenů, které obsahují důležité alergeny roztočů, pyl trav a hmyzího jedu. Hybridní molekuly snižují počet molekul potřebných k výrobě a zvyšují imunogenicitu. Různé společnosti vytvořily hybridní molekuly, které byly odvozeny od alergenu roztočů *Der p 1* a *Der p 2* např. vykazovaly nižší schopnost vyvolat reakci nebo měli vyšší proliferační reakci T buněk. V hybridu z alergenu *Der p 1* a *Der p 2* se cystein nahradil serinem, proto byly bezpečné pro použití k vakcinaci [54].

5.4.Rekombinantní hypoalergeny

Rekombinantní hypoalergeny během imunoterapie mají snížené nežádoucí účinky nebo je zcela postrádají. Ale mohou být pozorovány v pozdní fázi imunoterapie, kde vedlejší účinky vyplývají z aktivace alergen specifických T buněk, jelikož hypoalergeny mají sníženou schopnost vázat IgE nebo je nevážou vůbec [56]. Hypoalergeny ale mohou vyvolat v kůži hypersenzitivní reakci opožděného typu, která je závislá na T lymfocytech [60]. Na rozdíl od reakce 1. typu, která je zprostředkována protilátkami IgE a objevuje se několik minut až hodin po styku s alergenem. Od alergenů divokého typu se liší strukturou, která hypoalergenům

zajišťuje sníženou reaktivitu. V klinické studii, kde byly ve vakcíně použity rekombinantní hypoalergeny, bylo prokázáno že indikují alergen specifické IgG protilátky [56, 59]. Druhá generace hypoalergenů je založena na hypoalergenních i nealergenních peptidech o délce 20-40 AMK. Jsou odvozeny od místa, kde se váží IgE a alergen, toto místo je taktéž poskytováno jako imunogenní spojení s nealergenním proteinem. Pokud se naváží nealergenní peptidy na molekuly nosiče např. keyholelimpetový hemocyanin (při spojení s antigenem zvyšuje imunitní odpověď stimulací tvorby protilátek proti antigenu), tak vznikne vakcína, která po imunizaci vytváří alergen specifické IgG protilátky, co blokují vazbu IgE na alergen u pacienta a také blokují aktivaci bazofilů [61]. Je možné připravit rekombinantní hypoalergenní fragmenty jednotlivých alergenů, dimerů i trimerů hypoalergenních molekul [55].

5.5. Deriváty alergenu

Před vytvořením derivátu alergenu předchází zavádění mutací vazebného místa alergenu nebo strukturních změn do alergenu. Při mutaci vazebného místa alergenu IgE dochází ke snížení účinku IgE [54, 56]. Pro přípravu mutací je potřeba předpovědět konformační epitop, toho se dosáhne kombinací informací o 3D struktuře rekombinantních alergenů a údaji o zkřížené reaktivitě IgE. Mutace sekvence se používá pro změnu funkce nebo imunologických vlastností. Na místě řízená mutagenese vykazuje nízkou reaktivitu s IgE od pacientů alergických na pyl břízy [54].

Rozšíření purifikovaných rekombinantních alergenů je v rámci imunoterapie velké, ale extrakty z přírodních zdrojů se stále často používají např. při léčbě alergie na pyly břízy [54, 57]. Při fúzi hlavních alergenů jedu včely *Api m 1* a *Api m 2* dojde k transformaci DNA, aby se snížila alergenicita látky [56]. Přírodní extrakty alergenu mají rozdílný obsah alergenu, tudíž mohou postrádat důležitý alergen nebo být kontaminovaný. Přírodní alergeny mohou být pomocí genového inženýrství přeměněny na deriváty alergenů se sníženou reaktivitou a nežádoucími účinky tzv. hypoalergeny. Další modifikace se používají pro zničení epitopů závislých na konformaci B buněčných epitopů a zachování T buněčných epitopů, např. fragmentace molekul, bodové mutace a tvorba mozaik [54].

5.6. Rekombinantní alergenové oligomery

K oligomerizaci alergenu dochází při expresi 3 klonů cDNA, které jsou spojeny krátkými oligonukleotidovými spacery s čtecím rámcem v *Escherichia coli*. cDNA je vytvořena syntézou mRNA. Rekombinantní trimer obsahoval epitopy pro specifické IgE, IgG protilátky

a T lymfocyty. Vykazoval sníženou alergenní strukturu. K té došlo pomocí mikroagregace neboli nepříznivé interakce nábojů, které skryly epitopy potřebné pro zesílení IgE [54].

5.7. Rekombinantní alergenové mozaiky

Umělé rekombinantní proteiny vytvořené genovým inženýrstvím navržené ze sady peptidů v referenčním proteinu. Mozaikové alergeny jsou sestaveny z peptidů odvozených z alergenu divokého typu a produkují molekuly postrádající vazbu IgE v důsledku změny v 3D struktuře. Hlavní alergen trávy *Phl p 2* byl změněn na mozaiku opakovaným sestavováním svých peptidů v odlišném pořadí. Dva fragmenty respiračního alergenu kravské srsti *Bos d 2* a šest fragmentů hlavního alergenu roztoče *Lep d 2* vykazovali nízkou vazbu IgE, což dokazuje že *Lep d 2* nemá oproti *Bos d 2* dominantní lineární B buněčné epitopy [54].

5.8. Rekombinantní alergenové fragmenty

Poprvé byla popsána produkce fragmentu pro hlavní alergen břízy *Bet v 1*. IgE protilátková odpověď je cílena na konformační epitopy, narušením 3D struktury expresí fragmentů sníží nebo dokonce zruší reaktivitu alergenu k IgE. Hlavní alergen břízy *Bet v 1* se rozdělil na 2 fragmenty (aminokyselinové zbytky), které byly exprimovány v *Escherichia coli*. Oba fragmenty nevykazovaly žádnou IgE vazebnou aktivitu [54].

ZÁVĚR

Tato práce se zabývala mechanismem, průběhem a důvodem zahájení léčby specifickou alergenovou imunoterapií. V prvním mechanismu po inhalaci alergenu došlo k prezentování alergenu T lymfocyty a podpoře vývoje Th2 lymfocytů. Lymfocyty vedou k produkci specifického IgE, které se váží na receptor bazofilů. Druhý mechanismus podporuje vývoj iTreg i Breg lymfocytů, které produkují protilátky blokující vazbu na alergenu. Tím zabránily zesílení receptorů na bazofilech nebo žírných buňkách. Standartní průběh léčby alergenovou imunoterapií spočívá v aplikaci zvyšujících se dávek alergenu sublingvální, subkutánní, orální, intralymfatickou nebo epikutánní cestou. U menších dětí upřednostňujeme sublingvální cestu ve formě kapek, naopak pro velice účinnou léčbu používáme cestu intralymfatickou. Příčinou alergické reakce je imunopatologická reakce na alergen a v rozvoji alergie hraje roli genetická predispozice. Při prvním kontaktu alergenu s IS dojde k vytvoření malého množství IgE a cytokinů, tato fáze je nazývána senzibilizace. Při opakovaném kontaktu alergen zesiluje sousedící receptory a uvolní histamin způsobující symptomy alergie. Reakce pozdní fáze se spustí při dlouhodobé expozici alergenem. Diagnostikovat alergii lze pomocí prick testů, kdy se vpichuje alergen do kůže, nebo doplňujících testů jako celková hladina IgE či ECP. Konvenční antialergická medikace např. Desloratadin, se používá k potlačení typických symptomů alergie. Existuje mnoho druhů alergenů, od vzdušných přes domácí alergeny až po alergeny potravinové. Alergie může být rozvinuta do jiných alergických onemocnění, mluvíme tu o alergické rýmě, astmatu a ekzému. Je známo mnoho způsobů jak je alergen při imunoterapii podán. Nejstarší jsou přírodní extrakty, ty ale mohou vyvolat anafylaktický šok, proto jsou bezpečnější např. hypoalergeny, rekombinantní alergenové hybridy, deriváty alergenu a další. Rekombinantní alergeny jsou vytvořeny díky klonování DNA, reverzní transkripce a mikrosekvenování proteinů. Hypoalergeny mohou být použity i pro budoucí využití při preventivním očkování.

Specifická alergenová imunoterapie je již osvědčeným způsobem léčby alergie. Její počátky sahají hluboko do historie, a přesto její dokonalá verze je daleko v budoucnosti.

ZDROJE

1. ŠPIČÁK, Václav a Martin HRUBIŠKO. Alergie: čím více o ní budete vědět, tím méně vás bude trápit [online]. Praha: Institut UCB pro alergii, c2007 [cit. 2023-04-10]. ISBN 978-80-254-1105-6. Dostupné z: <http://www.alergie.cz/download.php?f=Alergie.pdf>
2. HE, Shao-heng, Hui-yun ZHANG, Xiao-ning ZENG, Dong CHEN a Ping-chang YANG. Mast cells and basophils are essential for allergies: mechanisms of allergic inflammation and a proposed procedure for diagnosis. *Acta Pharmacologica Sinica* [online]. 2013, 34(10), 1270-1283 [cit. 2023-06-08]. ISSN 1671-4083. Dostupné z: doi:10.1038/aps.2013.88
3. BARTŮŇKOVÁ, Jiřina a Petr PANZNER. *Klinická imunologie a alergologie: pro všeobecné praktické lékaře*. Praha: Raabe, [2019], 70-75, 81, 84, 87-104. Ediční řada pro všeobecné praktické lékaře. ISBN 978-80-7496-423-7.
4. Role dědičnosti při vzniku alergie. *Bez-alergie* [online]. 2020 [cit. 2023-04-13]. Dostupné z: <https://www.bez-alergie.cz/novinky/role-dedicnosti-pri-vzniku-alergie-55988>
5. ZULÁK, Martin a Jaromír BYSTRONĚ. Současné možnosti diagnostiky a léčby alergických onemocnění. *MEDICAL TRIBUNE* [online]. 2021 [cit. 2023-06-12]. Dostupné z: <https://www.tribune.cz/archiv/soucasne-moznosti-diagnostiky-a-lecby-alergickych-onemocneni/>
6. DRAZDAUSKAITĚ, Gabija, Janice A. LAYHADI a Mohamed H. SHAMJI. Mechanisms of Allergen Immunotherapy in Allergic Rhinitis. *Current Allergy and Asthma Reports* [online]. 2021, 21(1) [cit. 2023-06-12]. ISSN 1529-7322. Dostupné z: doi:10.1007/s11882-020-00977-7
7. Vlastní zdroj
8. HOŘEJŠÍ, Václav a Jiřina BARTŮŇKOVÁ. *Základy imunologie*. Vyd. 3. Praha: Triton, 2005, 41-43, 193-196. ISBN 80-725-4686-4.
9. OWEN, Judith A., Jenni PUNT a Sharon A. STRANFORD. *Kuby immunology*. Seventh edition. New York: W.H. Freeman and Company, [2013]. ISBN 978-14641-3784-6.
10. AHMAD, Suhana, Nor Azrini AZID, Jennifer C. BOER, JitKang LIM, Xin CHEN, Magdalena PLEBANSKI a Rohimah MOHAMUD. The Key Role of TNF-TNFR2 Interactions in the Modulation of Allergic Inflammation: A Review. *Frontiers in Immunology* [online]. 2018, 9 [cit. 2023-05-26]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2018.02572

11. DRAZDAUSKAITĖ, Gabija, Janice A. LAYHADI a Mohamed H. SHAMJI. Mechanisms of Allergen Immunotherapy in Allergic Rhinitis. *Current Allergy and Asthma Reports* [online]. 2021, 21(1) [cit. 2023-05-26]. ISSN 1529-7322. Dostupné z: doi:10.1007/s11882-020-00977-7
12. KALICKI, Bolesław, Sławomir LEWICKI, Wanda STANKIEWICZ, et al. Clinical immunology Examination of correlation between vitamin D3 (25-OHD3) concentration and percentage of regulatory T lymphocytes (FoxP3) in children with allergy symptoms. *Central European Journal of Immunology* [online]. 2013, 1, 70-75 [cit. 2023-06-21]. ISSN 1426-3912. Dostupné z: doi:10.5114/ceji.2013.34360
13. SKEVAKI, Chrysanthi a Harald RENZ. Advances in mechanisms of allergic disease in 2017. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. 2018, 142(6), 1730-1739 [cit. 2023-06-21]. ISSN 00916749. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaci.2018.09.027
14. PLATTS-MILLS, Thomas A. E. a Judith A. WOODFOLK. Allergens and their role in the allergic immune response. *Immunological Reviews* [online]. 2011, 242(1), 51-68 [cit. 2023-05-26]. ISSN 01052896. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-065X.2011.01021.x
15. RAJAN, T.V. The Gell–Coombs classification of hypersensitivity reactions: a re-interpretation. *Trends in Immunology* [online]. 2003, 24(7), 376-379 [cit. 2023-05-26]. ISSN 14714906. Dostupné z: doi:10.1016/S1471-4906(03)00142-X
16. HELBERT, Matthew. *Immunology for medical students*. Third edition. Philadelphia: ELSEVIER, c2017, 22, 35, 41, 59, 80, 165. ISBN 978-0702068010.
17. VLKOVÁ, Marcela. Alergické a autoimunitní choroby [online]. In: . 2020, s. 26 [cit. 2023-03-30]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/med/jaro2018/MBKI081p/um/15_Imunologie_magistri_Alergicke_a_autoimunitni_choroby_pro_studenty.pdf
18. KOMÍN, Ondřej. Eosinofily. In: *Medixa.org* [online]. 2012 [cit. 2023-03-30]. Dostupné z: <https://www.medixa.org/lecba/eosinofily>
19. DOUBEK, Michael, Yvona BRYCHTOVÁ, Jarmila KISSOVÁ, Miroslav TOMÍŠKA a Zdeněk ADAM. Diferenciální diagnostika eozinofilie. In: *Vnitřní lékařství* [online]. Brno, 2014 [cit. 2023-03-30]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/vnitri-lekarstvi/2014-suppl-2/diferencialni-diagnostika-eozinofilie-50219>
20. STRAŠÍK, Slavomír. Imunoglobuliny a jejich terapeutické použití. *Nemocniční lékařství* [online]. Praha, 2014, (10 (6), 233-237 [cit. 2023-03-31]. Dostupné z: <https://farmaciepropraxi.cz/pdfs/lek/2014/06/10.pdf>

21. RICHES, Pamela G. Structure and Function of Immunoglobulin Genes. *Journal of the Royal Society of Medicine* [online]. 1984, 77(3), 249-253 [cit. 2023-03-31]. ISSN 0141-0768. Dostupné z: doi:10.1177/014107688407700321
22. SUTTON, Brian, Anna DAVIES, Heather BAX a Sophia KARAGIANNIS. IgE Antibodies: From Structure to Function and Clinical Translation. In: *Antibodies* [online]. 2019 [cit. 2023-03-30]. ISBN 2073-4468. ISSN 2073-4468. Dostupné z: doi:10.3390/antib8010019
23. Struktura imunoglobulinu. In: *LAB Guide* [online]. c2022 [cit. 2023-04-04]. Dostupné z: <https://labguide.cz/reagencie/protilatky/>
24. WANG, Yimin, Jun ZHOU, Sheng FU, Cheng WANG a Bing ZHOU. A Study of Association Between Oral Lichen Planus and Immune Balance of Th1/Th2 Cells. *Inflammation* [online]. 2015, 38(5), 1874-1879 [cit. 2023-05-25]. ISSN 0360-3997. Dostupné z: doi:10.1007/s10753-015-0167-4
25. ABSOLONOVÁ, Karolína, Petr MATUCHA a Ivan ŠTERZL. Th1, Th2 a Th17 lymfocyty u autoimunitních tyreopatií. *Vnitřní lékařství* [online]. Praha, 2021, (67 (8), E23–E28 [cit. 2023-04-04]. Dostupné z: <https://casopisvnitrnilekarstvi.cz/pdfs/vnl/2021/08/15.pdf>
26. ZHANG, Huiyun, Hui KONG, Xiaoning ZENG, Lianyi GUO, Xiaoyun SUN a Shaoheng HE. Subsets of regulatory T cells and their roles in allergy. *Journal of Translational Medicine* [online]. 2014, 12(1) [cit. 2023-05-25]. ISSN 1479-5876. Dostupné z: doi:10.1186/1479-5876-12-125
27. KREJSEK, Jan, Ctirad ANDRÝS a Irena KRČMOVÁ. *Imunologie člověka*. Hradec Králové: Garamon, 2016, 214-216, 247-249. ISBN ISBN978-80-86472-74-4.
28. MARTH, Katharina, Margarete FOCKE-TEJKL, Christian LUPINEK, Rudolf VALENTA a Verena NIEDERBERGER. Allergen Peptides, Recombinant Allergens and Hypoallergens for Allergen-Specific Immunotherapy. *Current Treatment Options in Allergy* [online]. 2014, 1(1), 91-106 [cit. 2023-06-12]. ISSN 2196-3053. Dostupné z: doi:10.1007/s40521-013-0006-5
29. VAŇKOVÁ, R., J. ČELAKOVSKÁ, J. KREJSEK, I. KRČMOVÁ a C. ANDRÝS. Molekulárně definované alergeny a jejich využití v diagnostice alergického zánětu (atopické dermatitidy). *Česko-slovenská dermatologie* [online]. 2020, (4), 127-140 [cit. 2023-06-22]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/cesko-slovenska-dermatologie/2020-4-11/molekularne-definovane-alergeny-a-jejich-vyuziti-v-diagnostice-alergickeho-zanetu-atopicke-dermatitidy-124504>

30. CARABALLO, Luis, Rudolf VALENTA, Nathalie ACEVEDO a Josefina ZAKZUK. Are the Terms Major and Minor Allergens Useful for Precision Allergy?. *Frontiers in Immunology* [online]. 2021, 12 [cit. 2023-05-25]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2021.651500
31. CHEN, Miaolin, Jie XU, Deborah DEVIS, Jianxin SHI, Kang REN, Iain SEARLE a Dabing ZHANG. Origin and Functional Prediction of Pollen Allergens in Plants. *Plant Physiology* [online]. 2016, 172(1), 341-357 [cit. 2023-06-22]. ISSN 0032-0889. Dostupné z: doi:10.1104/pp.16.00625
32. BUTERS, Jeroen, Marje PRANK, Mikhail SOFIEV, et al. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. 2015, 136(1) [cit. 2023-06-22]. ISSN 00916749. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaci.2015.01.049
33. DOULADIRIS, Nikolaos, Victoria GARIB, Margit FOCKE-TEJKL, Rudolf VALENTA, Nikolaos G. PAPADOPOULOS a Birgit LINHART. Detection of genuine grass pollen sensitization in children by skin testing with a recombinant grass pollen hybrid. *Pediatric Allergy and Immunology* [online]. 2019, 30(1), 59-65 [cit. 2023-06-22]. ISSN 09056157. Dostupné z: doi:10.1111/pai.12991
34. MIYAJIMA, Kumiko, Yurika SUZUKI, Daisuke MIKI, Moeka ARAI, Takahiro ARAKAWA, Hiroji SHIMOMURA, Kiyoko SHIBA a Kohji MITSUBAYASHI. Direct analysis of airborne mite allergen (Der f1) in the residential atmosphere by chemifluorescent immunoassay using bioaerosol sampler. *Talanta* [online]. 2014, 123, 241-246 [cit. 2023-06-22]. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2013.11.033
35. MAYA-MANZANO, José María, Gudrun PUSCH, Cordula EBNER VON ESCHENBACH, et al. Effect of air filtration on house dust mite, cat and dog allergens and particulate matter in homes. *Clinical and Translational Allergy* [online]. 2022, 12(4) [cit. 2023-06-22]. ISSN 2045-7022. Dostupné z: doi:10.1002/ctt2.12137
36. KALAYCI, Omer, Michael MILIGKOS, César Fireth POZO BELTRÁN, et al. The role of environmental allergen control in the management of asthma. *World Allergy Organization Journal* [online]. 2022, 15(3) [cit. 2023-06-22]. ISSN 19394551. Dostupné z: doi:10.1016/j.waojou.2022.100634
37. WARRINGTON, Richard, Fanny SILVIU-DAN a Tiffany WONG. Drug allergy [online]. 2018, 14(S2) [cit. 2023-06-22]. ISSN 1710-1492. Dostupné z: doi:10.1186/s13223-018-0289-y

38. VALENTA, Rudolf, Heidrun HOCHWALLNER, Birgit LINHART a Sandra PAHR. Food Allergies: The Basics. *Gastroenterology* [online]. 2015, 148(6), 1120-1131.e4 [cit. 2023-06-22]. ISSN 00165085. Dostupné z: doi:10.1053/j.gastro.2015.02.006
39. ANDRÝS, Ctirad. Malý průvodce laboratorní diagnostikou alergického zánětu pomocí stanovení specifického IgE proti molekulárně definovaným alergenům (komponentám). *Ad informandum* [online]. Pardubice, 2017, (prosinec) [cit. 2023-04-05]. Dostupné z: https://www.interimun.cz/common/cms_files/Prosinec_2017.pdf
40. EDLMAYR, Johanna, Katarzyna NIESPODZIANA, Margarete FOCKE-TEJKL, Birgit LINHART a Rudolf VALENTA. Allergen-Specific Immunotherapy: Towards Combination Vaccines for Allergic and Infectious Diseases. *Vaccines against Allergies* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011, 2011-5-29, 121-140 [cit. 2023-06-12]. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. ISBN 978-3-642-20053-3. Dostupné z: doi:10.1007/82_2011_130
41. PETRŮ, Vít. Specifická alergenová imunoterapie u alergií a astmatu. *Medicína pro praxi* [online]. 2011, (8(10)), 407-409 [cit. 2023-06-12]. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2011/10/02.pdf>
42. BARTKOWIAK-EMERYK, Małgorzata a Andrzej EMERYK. Side effects during allergen immunotherapy. *Alergologia Polska - Polish Journal of Allergology* [online]. 2019, 6(2), 53-55 [cit. 2023-06-12]. ISSN 2353-3854. Dostupné z: doi:10.5114/pja.2019.86349
43. PETRŮ, Vít. Specifická alergenová imunoterapie u dětí. *Pediatric pro praxi* [online]. 2014, (15(1)), 22-24 [cit. 2023-06-12]. Dostupné z: <https://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2014/01/05.pdf>
44. ROLLAND, Jennifer M., Leanne M. GARDNER a Robyn E. O'HEHIR. Allergen-related approaches to immunotherapy [online]. 2009, 121(3), 273-284 [cit. 2023-05-11]. ISSN 01637258. Dostupné z: doi:10.1016/j.pharmthera.2008.11.007
45. JUTEL, Marek, Katarzyna SOLAREWICZ-MADEJEK a Sylwia SMOLINSKA. Recombinant allergens: Mission Possible?. In: *Frontiers in Immunology* [online]. 2014, s. 1534-1543 [cit. 2023-05-02]. ISSN 2164-5515. Dostupné z: doi:10.4161/hv.22064
46. KLIMOV, V. V., N. S. KOSHKAROVA, V. S. SVIRIDOVA a A. V. KLIMOV. Allergen-specific immunotherapy in allergic rhinitis. *Bulletin of Siberian Medicine* [online]. 2022, 21(2), 168-174 [cit. 2023-05-11]. ISSN 1819-3684. Dostupné z: doi:10.20538/1682-0363-2022-2-168-174

47. TAKAIWA, Fumio. Next-Generation Allergen-Specific Immunotherapy for Japanese Cedar Pollinosis Using Molecular Approaches. *ImmunoTargets and Therapy* [online]. 2021, 10, 213-224 [cit. 2023-05-11]. ISSN 2253-1556. Dostupné z: doi:10.2147/ITT.S276874
48. SENTI, Gabriela, Bettina M. PRINZ VAVRICKA, Iris ERDMANN, et al. Intralymphatic allergen administration renders specific immunotherapy faster and safer: A randomized controlled trial. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2008, 105(46), 17908-17912 [cit. 2023-05-11]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0803725105
49. HYLANDER, Terese, Leith LATIF, Ulla PETERSSON-WESTIN a Lars Olaf CARDELL. Intralymphatic allergen-specific immunotherapy: An effective and safe alternative treatment route for pollen-induced allergic rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. 2013, 131(2), 412-420 [cit. 2023-05-11]. ISSN 00916749. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaci.2012.10.056
50. MARTÍNEZ-GÓMEZ, Julia M., Pål JOHANSEN, Iris ERDMANN, Gabriela SENTI, Reto CRAMERI a Thomas M. KÜNDIG. Intralymphatic Injections as a New Administration Route for Allergen-Specific Immunotherapy. *International Archives of Allergy and Immunology* [online]. 2009, 150(1), 59-65 [cit. 2023-05-11]. ISSN 1018-2438. Dostupné z: doi:10.1159/000210381
51. SENTI, G., S. VON MOOS a T. M. KÜNDIG. Epicutaneous allergen administration: is this the future of allergen-specific immunotherapy?. *Allergy* [online]. 2011, 66(6), 798-809 [cit. 2023-05-11]. ISSN 01054538. Dostupné z: doi:10.1111/j.1398-9995.2011.02560.x
52. KUNIMINE, Shinya, Toshiro TAKAI, Seiji KAMIJO, et al. Epicutaneous vaccination with protease inhibitor-treated papain prevents papain-induced Th2-mediated airway inflammation without inducing Th17 in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. 2021, 546, 192-199 [cit. 2023-05-11]. ISSN 0006291X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbrc.2020.12.090
53. KNOL, JONG, ULFMAN a TIEMESSEN. Management of Cow's Milk Allergy from an Immunological Perspective: What Are the Options?. *Nutrients* [online]. 2019, 11(11) [cit. 2023-06-12]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu11112734
54. TSCHEPPE, Angelika a Heimo BREITENEDER. Recombinant Allergens in Structural Biology, Diagnosis, and Immunotherapy. In: *International Archives of*

- Allergy and Immunology [online]. 2017, s. 187-202 [cit. 2023-05-02]. ISSN 1018-2438. Dostupné z: doi:10.1159/000464104
55. DURHAM, Stephen R. a Mohamed H. SHAMJI. Allergen immunotherapy: past, present and future. *Nature Reviews Immunology* [online]. 2023, 23(5), 317-328 [cit. 2023-06-22]. ISSN 1474-1733. Dostupné z: doi:10.1038/s41577-022-00786-1
56. JUTEL, Marek, Katarzyna SOLAREWICZ-MADEJEK a Sylwia SMOLINSKA. Recombinant allergens: Mission Possible?. In: *Frontiers in Immunology* [online]. 2014, s. 1534-1543 [cit. 2023-05-02]. ISSN 2164-5515. Dostupné z: doi:10.4161/hv.22064
57. ZIMMER, Julia, Sandra SCHMIDT, Josefín KLOS, Sascha DÖRING, Daniel STRECKER, Stefan VIETHS a Susanne KAUL. The method makes the extract: Comparative analysis of birch pollen allergen extracts [online]. 2022, 52(6), 784-787 [cit. 2023-06-22]. ISSN 0954-7894. Dostupné z: doi:10.1111/cea.14096
58. Překresleno z originálu VALENTA, Rudolf a Dietrich KRAFT. *Current Opinion in Immunology* [online]. 2002, 14(6), 718-727 [cit. 2023-06-27]. ISSN 09527915. Dostupné z: doi:10.1016/S0952-7915(02)00402-8
59. TULAEVA, Inna, Bernhard KRATZER, Raffaella CAMPANA, et al. Preventive Allergen-Specific Vaccination Against Allergy: Mission Possible?. In: *Frontiers in Immunology* [online]. 2020, s. 860-864 [cit. 2023-05-02]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2020.01368
60. VALENTA, Rudolf, Katarzyna NIESPODZIANA, Margit FOCKE-TEJKL, Katharina MARTH, Hans HUBER, Angela NEUBAUER a Verena NIEDERBERGER. Recombinant allergens: What does the future hold?. In: *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. 2011, s. 860-864 [cit. 2023-05-02]. ISSN 00916749. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaci.2011.02.016
61. ZHERNOV, Yury, Mirela CURIN, Musa KHAITOV, Alexander KARAULOV a Rudolf VALENTA. Recombinant allergens for immunotherapy: state of the art. In: *Frontiers in Immunology* [online]. 2019, s. 402-414 [cit. 2023-05-02]. ISSN 1528-4050. Dostupné z: doi:10.1097/ACI.0000000000000536
62. BOŹEK, Andrzej. Staloral in modern allergen immunotherapy. *Alergologia Polska - Polish Journal of Allergology* [online]. 2018, 5(1), 67-72 [cit. 2023-06-25]. ISSN 2353-3854. Dostupné z: doi:10.5114/pja.2018.74453
63. PAVÓN-ROMERO, Gandhi F., Maria Itzel PARRA-VARGAS, Fernando RAMÍREZ-JIMÉNEZ, Esmeralda MELGOZA-RUIZ, Nancy H. SERRANO-PÉREZ

- a Luis M. TERAN. Allergen Immunotherapy: Current and Future Trends. *Cells* [online]. 2022, 11(2) [cit. 2023-06-27]. ISSN 2073-4409. Dostupné z: doi:10.3390/cells11020212
64. SINGH, Mohan a Prem BHALLA. Recombinant Expression Systems for Allergen Vaccines [online]. 2006, 5(1), 53-59 [cit. 2023-06-27]. ISSN 18715281. Dostupné z: doi:10.2174/187152806775269312
65. CROMWELL, Oliver, Dietrich HÄFNER a Andreas NANDY. Recombinant allergens for specific immunotherapy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. 2011, 127(4), 865-872 [cit. 2023-06-27]. ISSN 00916749. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaci.2011.01.047
66. Promega: PolyATtract® mRNA izolační systémy [online]. c2023 [cit. 2023-06-28]. Dostupné z: <https://worldwide.promega.com/products/nucleic-acid-extraction/rna/polyattract-mrna-isolation-systems/?catNum=Z5210>