

UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta v Hradci Králové

**Analýza senzibilizace na molekulární komponenty stanovené
multiplexním systémem ImmunoCAP ISAC u pacientů
s atopickou dermatitidou**

Radka Vaňková

Autoreferát disertační práce
Doktorský studijní program Lékařská imunologie

Hradec Králové
2021

Disertační práce byla vypracována v rámci *prezenčního* studia doktorského studijního programu Lékařské imunologie na Ústavu klinické imunologie a alergologie Lékařské fakulty v Hradci Králové.

Autor: **Mgr. Radka Vaňková**
Ústav klinické imunologie a alergologie, Univerzita Karlova,
Lékařská fakulta v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Školitel: **doc. MUDr. Jarmila Čelakovská, Ph.D.**
Klinika nemocí kožních a pohlavních, Univerzita Karlova,
Lékařská fakulta v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Školitel konzultant: **prof. RNDr. Ctirad Andrýs, Ph.D.**
Ústav klinické imunologie a alergologie, Univerzita Karlova,
Lékařská fakulta v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Oponenti: **prof. MUDr. Ilja Stříž, CSc.**
Institut klinické a experimentální medicíny,
Pracoviště laboratorních metod, Praha

MUDr. Miroslav Nečas, Ph.D.
I. dermatovenerologická klinika,
Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

Obhajoba se bude konat před Komisí pro obhajoby OR Lékařská imunologie dne 20. 9. 2021 v zasedací místnosti Ústavu klinické imunologie a alergologie, budova č. 17, Fakultní nemocnice Hradec Králové od 13:00 hodin.

Tato práce vznikla za podpory programu PROGRES Q40/10 a projektu MŠMT: Vznik Core Facilities pro zlepšení kvality výzkumu spojeného s výukou na LFHK UK v HK, reg. č.: CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_017/0002515.

Studie byla schválena Etickou komisí Fakultní nemocnice a LF UK v Hradci Králové (číslo jednací: 201806 S04P; 201911 I01P).

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy, Šimkova 870, 500 03 Hradec Králové (tel. 495 816 134).

prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.

Předseda komise pro obhajoby disertačních prací
v doktorském studijním programu Lékařské imunologie
Garant studijního programu

OBSAH

Seznam použitých zkratk	4
1. Souhrn	5
2. Summary	6
3. Úvod do problematiky	7
4. Cíle disertační práce	9
5. Materiál a metodika	10
5.1 Soubor pacientů	10
5.2 Charakteristika souboru pacientů	10
5.3 Anamnestická data	11
5.4 Diagnostika bronchiálního astmatu a alergické rýmy	11
5.5 Zhodnocení závažnosti atopické dermatitidy	11
5.6 Odběr krevních vzorků	12
5.7 Vyšetření sérových specifických IgE protilátek metodou ImmunoCAP ISAC	12
5.8 Diagnostika potravinové alergie u pacientů s atopickou dermatitidou	13
5.9 Statistické hodnocení	13
6. Výsledky	15
6.1 Analýza senzibilizace na molekulární alergeny fungálního původu u pacientů s atopickou dermatitidou	15
6.2 Senzibilizace na molekulární komponenty u pacientů s mírnou, středně těžkou a těžkou formou atopické dermatitidy	15
6.3 Senzibilizace na molekulární komponenty u podskupiny pacientů s atopickou dermatitidou komplikovanou bronchiálním astmatem a alergickou rýmou	17
6.4 Zhodnocení výsledků sIgE (ImmunoCAP ISAC) pomocí klastrové analýzy	18
6.5 Hodnocení přítomnosti specifických IgE protilátek reagujících s alergeny vybraných složek potravy	19
7. Diskuse	21
8. Závěr	25
9. Použitá literatura	26
10. Přehled publikační činnosti autora	30

Seznam použitých zkratk

AB	bronchiální astma
AD	atopická dermatitida
ALEX	Allergy Explorer, multiplexní systém
AR	alergická rýma
CCD	zkříženě reagující cukerné determinanty
CRD	molekulární komponentová diagnostika
FA	potravinová alergie, food allergy
GA ² LEN	Global Allergy and Asthma European Network
GINA	Global Initiative for Asthma, Globální iniciativa pro astma
ISAC	Immuno Solid-Phase Allergen Chip, multiplexní systém
ISU-E	ISAC Standardized Units for specific IgE, standardizované jednotky pro specifické IgE protilátky stanovené metodou ISAC
NPC2	proteinová rodina Neumman-Pick typ 2
nsLTP	nespecifický lipid transfer protein
OAS	orální alergický syndrom
OET	otevřený expoziční test
PR-10 protein	Pathogenesis-Related 10 protein
SCORAD	Scoring Index of Atopic Dermatitis, index k hodnocení závažnosti atopické dermatitidy
sIgE	specifické IgE protilátky
SPT	kožní prick test

1. Souhrn

Úvod: Atopická dermatitida (AD) je chronické zánětlivé kožní onemocnění s akutními exacerbacemi a charakteristickými klinickými projevy. Základním pilířem diagnostiky AD je důkladná anamnéza, zhodnocení klinického stavu, doplněné o kožní, případně expoziční testy. Nedílnou součástí je vyšetření specifických IgE protilátek (sIgE) proti extraktivním nebo molekulárním komponentám alergenů. U respiračních forem alergického zánětu a při podezření na potravinovou alergii jsou recentně využívány biočipové multiplexní techniky. Tyto analýzy by mohly najít své uplatnění také při diagnostice kožních projevů alergického zánětu, jako je AD. Cílem této práce byla přesnější identifikace vyvolávajícího zdroje potravinové a inhalační alergie u pacientů s AD. Hodnotili jsme senzibilizační profily u pacientů s mírnou, středně těžkou a těžkou formou AD a u podskupiny pacientů s atopickou dermatitidou komplikovanou bronchiálním astmatem a alergickou rýmou. Dále jsme se zabývali senzibilizací na molekulární komponenty v kontextu potravinové alergie u pacientů s AD.

Metodika: Vzorky krevního séra pocházely od dospělých pacientů s AD. Hladiny sIgE protilátek byly stanoveny multiplexním systémem ImmunoCAP ISAC. Disertační práce komentuje publikované výsledky vědeckého týmu.

Výsledky: Nejčastěji byla u pacientů s AD zaznamenána senzibilizace na alergen pylu trav (rPhl p 1) a alergen břízy (rBet v 1). U pacientů s těžkou formou AD byl prokázán významně častější výskyt senzibilizace na alergeny bojínku (rPhl p 1), roztočů (rDer f 2, rDer p 2), plísní (rAlt a 6, rAsp f 6) a na zvířecí alergeny (rFel d 1, rFel d 4, rCan f 1, rCan f 5, rEqu c 1, nMus m 1). Výsledky klastrové analýzy odpovídají asociaci molekulárních komponent do proteinových rodin dle jejich biochemických charakteristik. Výsledky analýzy molekulárních komponent byly také posuzovány v souvislosti s klinickým přínosem pro diagnostiku potravinové alergie u pacientů s AD.

Závěr: Výsledky práce znázorňují detailní senzibilizační profil pacientů s atopickou dermatitidou a zároveň poukazují na důležitost epidermální bariéry, jejíž narušení vede ke zvýšenému prostupu alergenů do organismu. Přítomnost sIgE protilátek metodou ISAC doporučujeme vyšetřovat u dospělých jedinců s těžkou formou atopické dermatitidy, kdy zásadní roli v senzibilizaci mohou hrát především hlavní alergeny pylů trav, stromů, roztočů a zvířecí alergeny. V tomto směru doporučujeme zaměřit vyšetření sIgE protilátek v rámci klinických postupů a léčby pacientů s AD se zvláštním ohledem na riziko vzniku závažných reakcí.

2. Summary

Background: Atopic dermatitis (AD) is a chronic inflammatory skin disease with acute exacerbations and characteristic clinical manifestations. The diagnosis of AD is based on the medical history, evaluation of clinical condition, supplemented by skin or exposure tests. An integral part is also the examination of specific IgE antibodies against extract allergen or single molecular component. Biochip multiplexing techniques have recently been used for respiratory forms of allergic inflammation and when food allergy is suspected. However, these analyses could find application in the diagnosis of cutaneous manifestations of allergic inflammation, such as AD. The aim of this work was to more accurately identify the source of food and inhalant allergy in patients with AD. We evaluated sensitization profiles in patients with mild, moderate, and severe forms of AD and in a subset of patients with AD complicated by bronchial asthma and allergic rhinitis. We also addressed the sensitization to molecular components in the context of food allergy in patients with AD.

Methods: Blood serum samples were taken from adult patients with AD. Levels of specific IgE antibodies were determined by the ImmunoCAP ISAC multiplex system. The dissertation thesis summarises already published results of our scientific team.

Results: Sensitization to grass pollen allergen (rPhl p 1) and birch pollen allergen (rBet v 1) was most frequently reported in the patients with AD. Sensitization to following molecular components of grasses (rPhl p 1), house dust mites (rDer f 2, rDer p 2), moulds (rAlt a 6, rAsp f 6), and animals (rFel d 1, rFel d 4, rCan f 1, rCan f 5, rEqu c 1, nMus m 1) was significantly more frequent in patients with severe form of AD. Results of cluster analysis correspond to the molecular components into protein families grouped according to their biochemical structure. The results of the molecular component analysis were also tested in relation to the benefit for the clinical diagnosis of food allergy in patients with AD.

Conclusions: Results of our work represent the detailed sensitization profile of patients with atopic dermatitis and simultaneously point out the importance of the epidermal barrier, the disruption of which leads to the increased penetration of allergens into the body. Allergen specific IgE antibodies detected by the ISAC method is recommended to be determined in adults with severe atopic dermatitis, where the main allergens of grass pollen grains, trees, mites and animal allergens may play a crucial role in the sensitization. We recommend the adoption of the assessment of the presence of specific IgE against these components into the routine clinical procedures and treatment of patients with AD with the special respect to the patients with the high risk of development of severe adverse reactions after exposure to these allergens.

3. Úvod do problematiky

Atopická dermatitida je heterogenní chronické zánětlivé onemocnění kůže s akutními exacerbacemi charakteristické řadou klinických projevů s významným zapojením imunitních mechanismů (1,2).

Při určení diagnózy atopické dermatitidy (AD) vycházíme z důkladné rodinné a osobní anamnézy, z dermatologického vyšetření podle Hanifin-Rajkových kritérií (3) a z alergologického vyšetření, které úzce souvisí se stanovením senzibilizace. Na exacerbaci ekzémových projevů se mohou podílet různé alergeny. V kojeneckém a batolecím věku bývají za časté projevy atopické dermatitidy mediované IgE odpovědné především potravinové alergeny, zejména kravské mléko, vejce, pšenice a sója. S přibývajícím věkem se spektrum spouštěcích alergenů mění a význam potravin postupně klesá. U dospělých pacientů jsou častými spouštěči potravinové alergie stromové ořechy, semena, luštěniny, ryby, aditiva, zelenina a ovoce včetně potravin rostlinného původu ve spojitosti s pylovou senzibilizací (4,5).

V rámci alergologického vyšetření atopické dermatitidy se ambulantně provádějí kožní prick testy (SPT) k vyšetření reaktivity na vyvolávající alergen především v případě časných IgE mediovaných reakcí. Mezi běžně prováděná laboratorní vyšetření atopické dermatitidy patří stanovení specifických IgE protilátek (sIgE) proti inhalačním a potravinovým alergenům, které se již řadu let provádí pomocí extraktových alergenů z přírodních zdrojů. Tyto alergeny představují velmi komplexní směs alergenních i nealergenních bílkovin. Některé složky jsou druhově specifické, jiné zkříženě reagující, některé vyvolávají závažné klinické komplikace, jiné ne. Diagnostika založená na alergenových extraktech na tyto otázky není schopna odpovědět (6,7). Do diagnostického procesu může být také zařazena metoda s použitím atopických epikutánních testů (8). Zásadní přínos pro přesnější identifikaci vyvolávajícího zdroje potravinové a inhalační alergie zvláště při podezření na možnost zkřížené reaktivity a polysenzibilizace přinesl pokrok v biotechnologiích a ve výzkumu alergenů na molekulární úrovni. Pro vyšetření alergen specifických IgE protilátek proti molekulárně definovaným alergenům, tzv. komponentám se vžil termín molekulární komponentová diagnostika (CRD, Component Resolved Diagnostics) (9,10). Vyšetření se zaměřuje na stanovení alergen specifických IgE protilátek v séru proti rekombinantním nebo nativním (purifikovaným) molekulárním komponentám alergenů (11). V současnosti je k dispozici

mnoho desítek molekulárních komponent využitelných v *in-vitro* testech. U řady molekulárně definovaných alergenů je známo, že navozují závažné projevy alergických onemocnění. Nález zvýšené hladiny sIgE protilátek proti těmto alergenům umožňuje predikovat riziko závažných klinických projevů včetně anafylaxe. Ve skupině potravinových alergenů je možno odlišit reaktivitu termostabilní molekulární komponenty s obecně vyšším rizikem od termolabilních.

Molekulární komponenty jsou využívány jak v jednoparametrových, tak multiplexních analýzách. Multiplexová metoda je vhodná u nejasných nálezů a výsledků vyšetření, u neshod mezi výsledky získanými základními přístupy, pro možné zachycení neočekávaných alergenních specifit a také pro zhodnocení senzibilizačního profilu pacienta. Použitím této metody lze získat v jednom kroku podrobný profil pacienta vyjádřený pomocí molekulárně definovaných cílů, což při hodnocení vyžaduje na straně lékaře nemalou míru erudice a detailních znalostí o jednotlivých alergenech. Vyšetření pomocí multiplexních metod molekulární komponentové diagnostiky je běžně používané u respiračních forem alergického onemocnění, ale nikoli u pacientů s atopickou dermatitidou. Rozšíření zkušeností s multiplexovou CRD analýzou u této diagnózy je jedním z cílů naší práce.

V současné době jsou pro klinické využití dostupné dvě multiplexní metody. V oboru klinické imunologie je jedním z nejčastěji používaných multiplexních systémů ImmunoCAP ISAC od firmy Phadia, který je v klinické praxi dostupný od roku 2011 (12,13). Druhou multiplexní technikou je systém ALEX od firmy Macro-Array Diagnostics, který kromě stanovení sIgE proti molekulárním komponentám umožňuje simultánní stanovení sIgE proti extraktivním alergenům (14).

V rámci této práce jsme se na pracovišti Ústavu klinické imunologie a alergologie ve spolupráci s Klinikou nemocí kožních a pohlavních FN Hradec Králové zabývali analýzou senzibilizace na molekulárně definované alergeny u pacientů s atopickou dermatitidou pomocí metody ImmunoCAP ISAC[®] sIgE 112 (detailní analýza včetně vyhodnocení ve vztahu k potravinové alergii) a metodou ALEX^{2®}.

4. Cíle disertační práce

Tato práce se zabývá zhodnocením přínosu laboratorního stanovení specifických IgE protilátek pomocí multiplexního systému ImmunoCAP ISAC® sIgE 112 u dospívajících a dospělých pacientů s atopickou dermatitidou. Konkrétní cíle práce byly následující:

1. Analýza senzibilizace na inhalační a potravinové molekulární komponenty u pacientů s atopickou dermatitidou.
2. Zhodnocení senzibilizačního profilu u pacientů s mírnou, středně těžkou a těžkou formou atopické dermatitidy a u podskupiny pacientů s atopickou dermatitidou komplikovanou bronchiálním astmatem a alergickou rýmou.
3. Zhodnocení výsledků senzibilizace na inhalační a potravinové molekulární alergeny metodou klastrové analýzy.
4. Posouzení přítomnosti specifických IgE protilátek reagujících s alergeny vybraných složek potravy.

5. Materiál a metodika

5.1 Soubor pacientů

V období let 2018 až 2019 bylo na Klinice nemocí kožních a pohlavních, Fakultní nemocnice Hradec Králové, vyšetřeno 104 pacientů s atopickou dermatitidou. Diagnóza atopické dermatitidy byla stanovena dle Hanifin-Rajkových kritérií (3). Vylučovacími kritérii pro zařazení do studie byla dlouhodobá terapie cyklosporinem, metotrexátem, azathioprinem, systémovými kortikoidy, biologickou terapií, a dále těhotenství a kojení. Rovněž nemohli být zahrnuti pacienti s atopickou dermatitidou mající současně jiná systémová onemocnění a pacienti s onkologickým onemocněním.

U všech pacientů zařazených do studie bylo provedeno kompletní dermatologické a alergologické vyšetření a zároveň *in-vitro* stanovení sérových specifických IgE protilátek proti molekulárně definovaným alergenům (ImmunoCAP ISAC[®] sIgE 112). Sběr krevních vzorků probíhal prospektivně. Všichni pacienti byli informováni o účelu studie a svou dobrovolnou účast potvrdili podpisem informovaného souhlasu. Studie byla schválena Etickou komisí Fakultní nemocnice a LF UK v Hradci Králové (číslo jednací: 201806 S04P; 201911 I01P).

5.2 Charakteristika souboru pacientů

Výsledky testu ImmunoCAP ISAC byly postupně zpracovány v souboru 60, 81, 100 a 104 pacientů s atopickou dermatitidou a jejich charakteristika je uvedena v příslušných publikacích (15–18). Tyto soubory pacientů byly statisticky porovnány a bylo zjištěno, že zastoupení pacientů se významně neliší.

V každém souboru byli pacienti rozděleni dle indexu SCORAD do tří skupin na mírnou formu AD, středně těžkou formu AD a těžkou formu AD. Dále byli AD pacienti rozlišení na dvě skupiny dle přítomnosti bronchiálního astmatu nebo alergické rýmy. Pacienti, kteří trpěli oběma chorobami byli zařazení do obou skupin. Závažnost alergické rýmy či bronchiálního astmatu nebyla v rámci studie sledována. Základní popis vyšetřených souborů nemocných je v **Tabulka 1**.

Tabulka 1 Charakteristika souboru 100 pacientů s atopickou dermatitidou

Počet pacientů	100 pacientů (48 mužů, 52 žen)
Věk	průměrný věk 40,9 roku
Index SCORAD	průměrná hodnota 39,0 bodů (s. d. 13,1)
Pozitivní výsledky sIgE ve sledovaném souboru	93 pacientů (93,0 %)
Mírná forma AD	14 pacientů (14,0 %)
Středně těžká forma AD	58 pacientů (58,0 %)
Těžká forma AD	28 pacientů (28,0 %)
Počet pacientů s AB	55 pacientů (55,0 %)
Počet pacientů s AR	78 pacientů (78,0 %)

AD – atopická dermatitida, AB – bronchiální astma, AR – alergická rýma

5.3 Anamnestická data

Anamnestická data byla odebírána v dermatologické ambulanci při zařazení pacientů do studie formou cíleně zodpovězených dotazů. Zvláště bylo zjišťováno, jestli pacient pozoruje nežádoucí reakce po požití konkrétních potravin s upřesněním, o jaké obtíže se jedná. Nežádoucí reakce na potraviny jsou považovány za významný faktor zhoršující průběh atopické dermatitidy. Zároveň byly u všech pacientů odebrány anamnestické údaje ohledně výskytu alergické rýmy a bronchiálního astmatu.

5.4 Diagnostika bronchiálního astmatu a alergické rýmy

Diagnostika bronchiálního astmatu (AB) byla provedena dle doporučených postupů Globální iniciativy pro astma (GINA) (20) ve spolupráci s klinickými specialisty z Ústavu klinické imunologie a alergologie Fakultní nemocnice Hradec Králové.

Alergická rýma (AR) byla diagnostikována dle doporučení ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma) (21,22) rovněž v kooperaci s lékaři z Ústavu klinické imunologie a alergologie Fakultní nemocnice Hradec Králové.

5.5 Zhodnocení závažnosti atopické dermatitidy

Závažnost atopické dermatitidy byla hodnocena podle indexu SCORAD (23). Závažnost atopické dermatitidy byla hodnocena do 25 bodů jako mírná forma AD, nad 25 bodů do 50 bodů jako středně těžká forma AD a nad 50 bodů jako těžká forma AD. Toto vyšetření bylo provedeno každé dva měsíce v průběhu jednoho roku a byla vypočítána průměrná hodnota SCORAD (24).

5.6 Odběr krevních vzorků

Vzorky periferní krve byly odebrány z kubitální žíly od pacientů s atopickou dermatitidou do odběrových zkumavek s aktivátorem krevního srážení (BD Vacutainer[®], Becton Dickinson). Po koagulaci bylo sérum odděleno od krevních elementů centrifugací (10 min při 2500 g) a zamrazeno na -80 °C až do provedení analýzy. Před vlastní analýzou byly vzorky rozmrazeny při pokojové teplotě.

Při zavádění metody ImmunoCAP ISAC[®] sIgE 112 do klinické praxe byla srážlivá krev odebrána i od 15 zdravých dárců, kteří sloužili jako kontrolní skupina. Zastoupení mužů a žen bylo rovnoměrné. U všech testovaných dárců byly naměřeny hodnoty sIgE <0,3 ISU-E, vyjádřeny jako negativní.

5.7 Vyšetření sérových specifických IgE protilátek metodou ImmunoCAP ISAC

Hladina sérových sIgE protilátek byla u všech pacientů stanovena komerčně dostupnou diagnostickou soupravou ImmunoCAP ISAC[®] sIgE 112 (Thermo Fisher Scientific, Phadia AB, Uppsala, Švédsko). Jedná se o semi-kvantitativní multiplexovou metodu zaměřenou na stanovení sIgE protilátek proti molekulárně definovaným alergenům (12). Biočip obsahuje široké spektrum 112 molekulárních komponent (70 rekombinantních, 42 nativních) z více než 50 různých alergenových zdrojů, které patří mezi nejčastější spouštěče alergických reakcí (25,26). Jsou zde zastoupeny komponenty potravin rostlinného a živočišného původu, inhalační komponenty pylů (stromů, trav a plevelů), dále komponenty zvířat, roztočů, spor plísní, hmyzích jedů, parazitů a latexu. Zkříženě reagující cukerné determinanty (CCD) jsou zastoupeny v podobě komponenty nMUXF3, prostřednictvím které je testována přítomnost anti-CCD protilátek v patientských sérech. Výsledky analýzy jsou vyjadřovány v arbitrárních jednotkách zvaných standardizované jednotky ISAC pro specifické IgE (ISU-E). Měřicí rozsah metody je udáván od 0,3 do 100 ISU-E. Výsledky větší než 0,3 ISU-E jsou považovány za pozitivní. Naměřené hladiny sIgE lze vyjádřit čtyřmi semi-kvantitativními třídami: <0,3 ISU-E jako negativní, 0,3> 0,9 ISU-E odpovídá nízká pozitivitě, 0,9> 15 ISU-E střední pozitivitě a ≥ 15 ISU-E vysoké pozitivitě (27).

V rámci jedné soupravy bylo vyšetřeno 20 vzorků, resp. 19 pacientů a 1 kontrolní vzorek sIgE pro kalibraci. Analýza byla provedena dle doporučení výrobce (27).

5.8 Diagnostika potravinové alergie u pacientů s atopickou dermatitidou

Cílem diagnostického postupu potravinové alergie u pacientů s atopickou dermatitidou je identifikovat spouštěcí potraviny, případně její složku (molekulární komponentu), která se podílí na zhoršení AD či dalších klinických reakcích spojených s prozánětlivým účinkem potravinových alergenů (28,29). Obecně je postupováno dle doporučení vycházejících z návrhu Evropské akademie alergologie a klinické imunologie (EAACI a GA²LEN) (30).

V našem souboru AD pacientů jsme se v první řadě zaměřili na důkladné anamnestické údaje včetně posouzení rizikových potravin a kofaktorů ovlivňujících alergickou reakci (fyzická námaha, farmakologická anamnéza aj.). Při podezření na časné IgE mediované reakce po konzumaci dané potraviny byly v předchozích letech provedeny kožní prick testy s nativní potravinou, atopické epikutánní testy a laboratorní stanovení sérových sIgE protilátek proti extraktivním potravinovým alergenům (31–33). Stávající vyšetření byla v rámci této studie doplněna o multiplexní stanovení sIgE protilátek proti molekulárním komponentám (ImmunoCAP ISAC). V rámci doporučeného diagnostického postupu FA (30) jsme toto stanovení zařadili před diagnostickou eliminační dietu.

Na základě pozitivních výsledků sIgE protilátek proti potravinovým komponentám (ImmunoCAP ISAC) a anamnestických údajů (např. opakované obtíže při konzumaci dané potraviny) podstoupili pacienti eliminační dietu s vyloučením podezřelé potraviny ze stravy. Pacientům s mírnou formou AD byla doporučena eliminační dieta po dobu 14 dní. Pacienti se středně těžkou a těžkou formou AD podstoupili diagnostickou hypoalergenní dietu obvykle v délce 4–6 týdnů.

V případě, že u pacientů došlo ke zlepšení projevů atopické dermatitidy, byl proveden vlastní otevřený expoziční test (OET) s podezřelou potravinou (např. ryby a korýši, stromové ořechy, arašídy, jablko, broskev, celer), kterým byla potvrzena nebo vyloučena skutečná potravinová alergie na testovanou potraviny (30,34,35). U pacientů s opakovanou alergickou reakcí po požití potravin (dle anamnestických údajů) OET prováděn nebyl z důvodu nebezpečí vzniku závažnější alergické reakce.

5.9 Statistické hodnocení

Výsledky vyšetření sIgE proti 112 molekulárním komponentám (ImmunoCAP ISAC[®] sIgE 112) a klinické údaje s výsledky otevřeného expozičního testu byly zpracovány do tabulek. Získaná data byla statisticky zpracována ve spolupráci

s Ing. Josefem Bukačem a RNDr. Evou Čermákovou (Ústav lékařské biofyziky, LF UK v Hradci Králové) a prof. RNDr. Hanou Skalskou, CSc. (Katedra informatiky a kvantitativních metod, Univerzita Hradec Králové, Fakulta informatiky a managementu).

Pro zhodnocení vztahu mezi hladinou sIgE a závažností atopické dermatitidy a/nebo výskytem bronchiálního astmatu a/nebo výskytem alergické rýmy byl použit test nezávislosti chí-kvadrát. Hladina významnosti byla 5 %. Zároveň bylo ve sledovaném souboru hodnoceno, zda výskyt senzibilizace na molekulární komponenty souvisí se závažností atopické dermatitidy nebo s výskytem bronchiálního astmatu a alergické rýmy. Sledované parametry byly vloženy do kontingenčních tabulek a vyhodnoceny testem nezávislosti chí-kvadrát s hladinou významnosti 5 %. Dále bylo v těchto podskupinách pacientů hodnoceno pořadí molekulárních komponent, zdali patří do množiny alergenů s nejvyšší pravděpodobností pozitivního výsledku sIgE či nikoli. Naměřené výsledky sIgE byly zpracovány unikátní statistickou analýzou dle práce Worsleyho (36) založenou rovněž na testu nezávislosti chí-kvadrát s hladinou významnosti 5 %. Četnost senzibilizace na molekulární komponenty vlašského a lískového ořechu, jablka, broskve, celeru a arašídů byla graficky znázorněna pomocí Vennových diagramů. Data byla zpracována v softwaru Microsoft Excel 2007.

Výsledky sIgE protilátek stanovené ImmunoCAP ISAC byly zároveň zpracovány pomocí klastrové analýzy. Cílem klastrové analýzy je rozdělení souboru objektů (v našem případě 112 molekulárních komponent zastoupených na biočipu ISAC) do dvou a více klastrů tak, aby molekulární komponenty v rámci jednoho klastru byly podobné (blízké) a molekulární komponenty z různých klastrů byly odlišné (vzdálené). Tato analýza vytváří matematický model rozdělení dat do klastrů dle semi-kvantitativních hodnot sIgE. Pro výpočet byl použit statistický software NCSS 2019 Statistical Software (NCSS, LLC. Kaysville, Utah, USA). Naměřené hodnoty sIgE (ISU-E) byly převedeny do čtyř kategorií (0-3), tzn. 0 = <0,3 ISU-E; 1 = 0,3> 0,9 ISU-E; 2 = 0,9> 15 ISU-E; 3 = ≥ 15 ISU-E. Tato data byla zpracována metodou „Clustering by Medoid Partitioning“ a postupem „Kaufman-Rousseeuw“ s těmito parametry: objektivní funkce: silueta, typ vzdálenosti: euklidovský, typ stupnice: směrodatná odchylka, molekulární komponenty: ordinální proměnné (37).

Senzitivita testu ImmunoCAP ISAC byla hodnocena pro molekulární komponenty ryb a korýšů. Senzitivita byla vypočítána jako podíl pozitivních výsledků sIgE u pacientů s potvrzenou klinickou reakcí po požití ryb.

6. Výsledky

6.1 Analýza senzibilizace na molekulární alergeny fungálního původu u pacientů s atopickou dermatitidou

Za jeden z faktorů, který zhoršuje průběh atopické dermatitidy jsou považovány mikroorganismy. Nejčastěji je zmiňován negativní vliv bakterií *Staphylococcus aureus*. V poslední době však stále více studií zkoumá vliv fungálních alergenů (například r. *Alternaria*, *Cladosporium* a *Aspergillus* a další) na průběh tohoto onemocnění.

V souboru 60 pacientů s atopickou dermatitidou byla hodnocena senzibilizace na inhalační alergeny plísní rodu *Alternaria* (rAlt a 1, rAl a 6), *Cladosporium* (rCla h 8) a *Aspergillus* (rAsp f 1, rAsp f 3 a rAsp f 6). Senzibilizace na testované komponenty plísní byla zaznamenána u 58 % pacientů s atopickou dermatitidou. Při zhodnocení reakcí na jednotlivé komponenty plísní byla zjištěna významná závislost mezi senzibilizací na komponenty plísní a výskytem reakcí na některé potravinové a inhalační komponenty jako jsou arašídý, vlašské ořechy, lískové ořechy, jablka, kiwi, broskve, celer, treska, krevety, bojínek, platan, kryptomerie, pelyněk, myš, kočka a kůň (15).

6.2 Senzibilizace na molekulární komponenty u pacientů s mírnou, středně těžkou a těžkou formou atopické dermatitidy

V souboru 81 pacientů s atopickou dermatitidou byl potvrzen vztah mezi závažností atopické dermatitidy a hladinou sIgE protilátek proti molekulárním komponentám (p -hodnota <0,001). Z analýzy dle Worsleyho (36) vyplývá, že pořadí četnostní zastoupení molekulárních komponent dle závažnosti AD vzhledem k velikosti sledovaného souboru se statisticky významně nelišilo (16). V souboru s větším počtem pacientů (100 pacientů s AD) bylo zjištěno, že pořadí četnosti výskytu molekulárních komponent u mírné formy AD nebylo statisticky významné. Naopak u pacientů se středně těžkou a těžkou formou AD a u podskupiny pacientů s alergickou rýmou byla nalezena množina komponent s vyšší pravděpodobností pozitivního výsledku, avšak jejich přesné pořadí nebylo možné určit (17).

U pacientů s mírnou formou AD převažovala senzibilizace na pylové alergeny, především na hlavní alergen břízy rBet v 1, která patří do skupiny zkříženě reagujících Bet v 1 homologních proteinů (PR-10 protein). Stupeň zkřížené reaktivity s ostatními

alergeny ze skupiny PR-10 proteinů pylu stromů (rAln g 1, rCor a 1.0101) a potravin rostlinného původu (rCor a 1.0401, rPru p 1, rMal d 1, rGly m 4, rAra h 8) je vysoký, čemuž nasvědčuje jejich častý výskyt ve skupině. Vysoký stupeň zkřížené reaktivity s beta-expansiny z jiných trav (rPhl p 1) by mohl být vysvětlením časté senzibilizace na pyl trávy troskut (nCyn d 1). Početně méně často byla pozorována senzibilizace na hlavní alergeny pylu bojínku (rPhl p 1) v porovnání s těžšími formami AD (19).

Ve skupině se středně těžkou formou AD byla detekována nejvyšší četnost pozitivních reakcí na hlavní alergen bojínku (rPhl p 1) a zároveň na hlavní alergen břízy (rBet v 1). Vyšší byla také četnost senzibilizace na roztoče domácího prachu rDer f 2 a rDer p 2 z NPC2 rodiny (Niemann-Pick disease type C2), kteří dominují především u těžké formy AD. Podobně jako u mírné formy byla častá senzibilizace na Bet v 1 homologní proteiny pylu stromů a potravin rostlinného původu. Často zastoupenými byly také hlavní alergeny kočky (rFel d 1, uteroglobin) a psa (rCan f 1, lipokalin) (19).

U pacientů s těžkou formou AD byly s vysokou četností zastoupeny pozitivní sIgE reakce na komponenty bojínku, konkrétně na hlavní alergeny rPhl p 1, rPhl p 5 a na vedlejší alergeny rPhl p 2, nPhl p 4, rPhl p 6. Dále dominovala již zmíněná senzibilizace na hlavní alergeny roztočů domácího prachu rDer f 2 a rDer p 2, méně pak na hlavní alergeny nDer f 1 a nDer p 1 (cysteinové proteázy). Výrazná senzibilizace na komponentu trávy troskut nCyn d 1 (součástí vyšetření ISAC testu), je nejspíše i v tomto případě důsledkem vysoké zkřížené reaktivity s jinými beta-expansiny pylu trav. Troskut v Čechách prakticky vůbec neroste, pouze ojediněle na jižní Moravě, jde především o travu subtropických oblastí. Četné byly také senzibilizace na pyly stromů a potraviny rostlinného původu obsahující zkříženě reagující PR-10 proteiny. Značná byla také senzibilizace proti hlavním zvířecím alergenům kočky rFel d 1 (uteroglobin) a rFel d 4 (lipokalin), koně rEqu c 1 (lipokalin) a psa rCan f 1 (lipokalin). Z potravinových alergenů byla často detekována sIgE odpověď na vedlejší potravinový alergen krevet nPen m 2 (arginin kináza) (19).

V souboru 104 pacientů s AD byl při porovnání senzibilizačních profilů pacientů s mírnou, středně těžkou a těžkou formou AD viditelný trend k vyšší četnosti senzibilizace. Zároveň byl při porovnání četnosti výskytu pozitivních sIgE reakcí u pacientů s mírnou, středně těžkou a těžkou formou AD prokázán statisticky významný rozdíl (p -hodnota $<0,05$). Uvedené molekulární komponenty s vysokou četností výskytu byly potvrzeny významně časteji u pacientů s těžkou formou AD. Jedná se o hlavní inhalační alergeny

bojínku (rPhl p 1), roztočů (rDer f 2 a rDer p 2), kočky (rFel d 1, rFel d 4), psa (rCan f 1, rCan f 5), koně (rEqu c 1), myši (nMus m 1), celeru (rApi g 1) a také o vedlejší alergen plísni rodu *Alternaria* (rAlt v 6) a *Aspergillus* (rAsp f 6) (18).

6.3 Senzibilizace na molekulární komponenty u podskupiny pacientů s atopickou dermatitidou komplikovanou bronchiálním astmatem a alergickou rýmou

V souboru 81 pacientů s atopickou dermatitidou jsme hodnotili, zda četnost senzibilizace na molekulární komponenty souvisí s výskytem bronchiálního astmatu a/nebo alergické rýmy. Statisticky významný vztah byl potvrzen v hladinách sIgE protilátek (p -hodnota $<0,001$) mezi pacienty s bronchiálním astmatem a bez bronchiálního astmatu. Naopak významný rozdíl v hladině sIgE mezi pacienty s alergickou rýmou a bez alergické rýmy prokázán nebyl (p -hodnota = 0,099). Z analýzy dle Worsleyho (36) vyplývá, že pořadí četnostní zastoupení molekulárních komponent dle přítomnosti AB a/nebo AR vzhledem k velikosti sledovaného souboru se statisticky významně nelišilo. Významnou roli v alergickém pochodu by mohly mít následující komponenty, které se významně častěji vyskytovaly současně u pacientů s těžkou formou atopické dermatitidy, bronchiálním astmatem a alergickou rýmou. Jedná se o zvířecí alergen rFel d 1 a rFel d 4 (kočka), rCan f 1 a rCan f 5 (pes), rEqu c 1 (kůň) a rAlt a 6 (*Alternaria*) (16).

V souboru 104 pacientů s AD jsme následně hodnotili, zdali jsou patrné rozdíly ve frekvenci senzibilizace na molekulární alergen v podskupinách pacientů s atopickou dermatitidou komplikovanou bronchiálním astmatem a alergickou rýmou.

Bronchiální astma bylo diagnostikováno u 55,8 % pacientů ze 104 pacientů s AD. Následující molekulární komponenty byly významně častěji pozorovány u pacientů s AB (p -hodnota $<0,05$). Nejvyšší četnost pozitivních reakcí měl bojínek rPhl p 2 (expansin). Nižší frekvence senzibilizace byla na olivovník rOle e 9 (glukanáza), plíseň r. *Alternaria* rAlt a 6 (enoláza) a alergen vosy rVes v 5 (antigen 5). Je zajímavé, že míra senzibilizace na bojínek rPhl p 7 a břízu rBet v 4 z rodiny polkalcinů nevykazovala u pacientů s AB žádné pozitivní výsledky sIgE. Frekvence senzibilizací na cukerné složky CCD (MUXF3) byla častěji pozorována v podskupině pacientů s AB (18).

Alergická rýma byla diagnostikována u 76,0 % pacientů ze 104 pacientů s AD. Následující molekulární komponenty byly významně častěji pozorovány u pacientů s AR (p -hodnota $<0,05$). Vysoká frekvence senzibilizace byla pozorována na Bet v 1 homologní proteiny pylu stromů (rBet v 1, rCor a 1,0101) a potravin rostlinného původu (rMal d 1,

rPru p 1, rApi g 1). Vysoká četnost pozitivních reakcí byla detekována také na alergeny pylu trav nCyn d 1 (beta-expansin), rPhl p 5 (trávy třídy 5) a rPhl p 6 (trávy třídy 6), dále na roztoče domácího prachu rDer f 2 (NPC2 rodina) a zvířecí lipokaliny, jako je rCan f 1 (pes), rFel d 4 (kočka), rEqu c 1 (kůň), nMus m 1 (myš). Míra senzibilizace na kiwi nAct d 1 (cysteinová proteáza) byla méně častá (18).

6.4 Zhodnocení výsledků sIgE (ImmunoCAP ISAC) pomocí klastrové analýzy

Ve skupině 100 pacientů s atopickou dermatitidou byly výsledky stanovení sIgE proti 112 molekulárním komponentám (ImmunoCAP ISAC) statisticky zpracovány pomocí klastrové analýzy (37). Posuzovali jsme, zda je senzibilizace na molekulární komponenty asociována s klasifikací alergenů do příslušných proteinových rodin na základě jejich molekulárních a biochemických vlastností. Klastrová analýza zahrnuje různé metody a algoritmy pro seskupování podobných objektů do příslušných kategorií. Pro klasifikaci objektů (objekty = molekulární komponenty) do příslušných klastrů jsme využili algoritmu, kdy je každý objekt charakterizován hodnotou tzv. siluety, která vyjadřuje vzdálenost jednoho objektu od ostatních. Na základě matematické interpretace hodnot siluet dle „Kaufmana a Rousseeuw“ a zohlednění chemických a biologických charakteristik jednotlivých molekulárních komponent byla vybrána analýza s počtem 10 klastrů.

Dle výsledků analýzy mají v souboru AD pacientů jedinečné postavení komponenty bojínku rPhl p 1 (beta-expansin) a nPhl p 4 (Berberine bridge enzyme), břízy rBet v 1 (PR-10 protein) a spory plísně rodu *Alternaria* rAlt a 1. Tyto komponenty byly zaznamenány samostatně a nevyskytovaly se v dalších klastrech. Uspořádání dalších molekulárních komponent do příslušných klastrů potvrzuje úzkou chemickou a biologickou podobnost (homologii) v rámci proteinových rodin. Do samostatného klastru byly například zařazeny molekulární komponenty potravin rostlinného původu, které vykazují vysokou homologii v rámci Bet v 1 homologních proteinů. Samostatný klastr byl také identifikován pro komponenty bojínku. Zároveň byly nalezeny klastry s molekulárními komponentami patřícími do proteinových rodin, jako jsou cysteinové proteázy a rodina NPC2, lipokalinů, uteroglobinů a tropomyosinů (38).

6.5 Hodnocení přítomnosti specifických IgE protilátek reagujících s alergeny vybraných složek potravy

Alergie na ryby a korýše u pacientů s atopickou dermatitidou

Ve skupině 100 pacientů s AD byla potravinová alergie na ryby diagnostikována u 13 % pacientů a u 6 % pacientů byla přítomna alergie na korýše. Exacerbaci kožních lézí popisovali 4 % pacientů s alergií na ryby a 2 % pacientů s alergií na korýše. Senzitivita byla vyhodnocena pro komponentu ryb rGad c 1 (46,2 %) a pro komponenty koryšů nPen m 1 (33,3 %) a nPen m 2 (50,0 %). U pacientů s alergií na ryby a zároveň na korýše byl zaznamenán signifikantně vyšší výskyt senzibilizace na plísně rodu *Alternaria* (rAlt a 6) a *Aspergillus* (rAsp f 6). U pacientů s alergií na ryby byl potvrzen vyšší výskyt senzibilizace na komponenty roztočů (nDer f 1, rDer f 2, nDer p 1, rDer p 2, rLep d 2, rBlo t 5) a plísní (rAlt a 6, rAsp f 1, rAsp f 6). U pacientů s alergií na korýše byl patrný vyšší výskyt senzibilizace na alergeny plísní (rAlt a 6, rAsp f 6, rCla h 8) a švába (rBla g 1, nBla g 5). Významnou asociaci mezi alergií na korýše a senzibilizací na tropomyosin roztočů rDer p 10 jsme u pacientů s atopickou dermatitidou neprokázali. Při diagnostice pacientů s alergickou reakcí na ryby či korýše je důležité brát v úvahu, že tyto reakce mohou být způsobeny konzumací kontaminovaného jídla parazitickým helmintem *Anisakis simplex* (sled'ový červ). Významnou asociaci s tímto helmintem a alergií na ryby a korýše jsme však neprokázali (39).

Alergie na vlašské a lískové ořechy u pacientů s atopickou dermatitidou

Ve skupině 100 pacientů s AD byla potravinová alergie na lískový ořech potvrzena u 25 % pacientů s atopickou dermatitidou. Tito pacienti byli alergičtí především na rCor a 1.0401 z rodiny PR-10 proteinů, méně na rCor a 8 (nsLTP) a zásobní protein nCor a 9 (11S globulin). Potravinová alergie na vlašský ořech byla potvrzena u 14 % pacientů s atopickou dermatitidou. Alergie na zásobní proteiny nJug r 2 a rJug r 1 byla patrná u 8 % pacientů a na zkříženě reagující alergen nJug r 3 (nsLTP) u 6 % pacientů.

U pacientů s alergií na lískový ořech byly v případě positivity sIgE proti rCor a 1.0401 (PR-10 protein) zaznamenány mírné klinické obtíže v podobě orálního alergického syndromu, pruritu a zhoršení AD. Při pozitivitě sIgE proti rCor a 8 (nsLTP) byly také patrné projevy orálního alergického syndromu, pruritus, zhoršení AD a navíc zažívací obtíže.

U pacientů s alergií na vlašský ořech byly v případě positivity sIgE proti zásobním proteinům nJug r 2 (7S globulin) a rJug r 1 (2S albumin) patrné projevy pruritu, zažívací obtíže a zhoršení AD. U pacientů s pozitivitou sIgE proti nJug r 3 (nsLTP) byly popisovány projevy orálního alergického syndromu, pruritu a zhoršení AD (40).

Alergie na arašidy u pacientů s atopickou dermatitidou

Ve skupině 100 pacientů s AD byla potravinová alergie na arašidy potvrzena u 27 % pacientů s atopickou dermatitidou. U většiny pacientů byly klinické obtíže spojovány s alergenem rAra h 8 ze skupiny PR-10 proteinů, u menší části pacientů byly zaznamenány klinické obtíže vyvolané rAra h 9 z rodiny nsLTP a zásobními proteiny arašidu rAra h 1, rAra h 2, rAra h 3 a nAra h 6. Byl potvrzen výrazně vyšší výskyt senzibilizace na komponenty pylu stromů (rAln g 1, rBet v 1) a komponenty pylu bojínku (rPhl p 1, rPhl p 2, nPhl p 4, rPhl p 5, rPhl p 6, rPhl p 7) u pacientů s klinickou reakcí po požití arašidu (41).

Alergie na jablko, broskev a celer u pacientů s atopickou dermatitidou

Ve skupině 100 pacientů s AD byla potravinová alergie na jablko prokázána u 15,9 %, na broskev u 15,1 % a na celer u 5,3 % pacientů s atopickou dermatitidou. U jedinců, kteří byli senzibilizováni alergenem rBet v 1, byla přítomna potravinová alergie na jablko, broskev a celer u 42,2 % pacientů a senzibilizace na komponenty jablka, broskve a celeru byla prokázána u 48,4 % pacientů. Většina pacientů s klinickou reakcí na jablko, broskev nebo celer trpěla lokálními projevy alergického zánětu ve formě orálního alergického syndromu. Pruritus popisovala více než polovina pacientů. Urtikarie a zažívací obtíže byly méně časté a pouze ve vzácných případech byly zaznamenány dechové obtíže (42).

7. Diskuse

Atopická dermatitida je chronické zánětlivé kožní onemocnění s charakteristickými klinickými projevy a významným zapojením imunitních mechanismů. U vnímavých jedinců vede kontakt s alergenními stimuly k rozvoji imunopatologické reakce I. typu, která je mediovaná protilátkami třídy IgE. To je typickým projevem rozvíjejícího se alergického zánětu. Celková koncentrace IgE a zejména hladiny IgE protilátek specifických pro alergeny jsou významným diagnostickým nástrojem. Klíčové je nicméně zhodnocení klinického stavu a podrobná cílená anamnéza doplněná kožními, popř. expozičními testy (6,19). U většiny pacientů dostačuje k potvrzení alergické reakce vyšetření specifických IgE protilátek proti směsným, extraktivním alergenům, jenž je běžnou součástí diagnostického postupu při pátrání po spouštěcích alergenech. V posledních letech je v oblasti klinické alergologie stále více rozšířena tzv. komponentová diagnostika (CRD), díky níž lze přesněji identifikovat vyvolávající alergeny. Hlavní výhodou této diagnostiky je rozlišení zkřížené reaktivity od senzibilizace na převážně druhově specifické alergeny, které by mohly napomoci odhalit příčinný alergen. Molekulární komponenty jsou využívány jak v jednoparametrových, tak multiplexových analýzách.

Použitím multiplexové metody CRD analýzy lze v jednom kroku získat podrobný profil pacienta vyjádřený pomocí molekulárně definovaných cílů (na více než 170 komponent), což při hodnocení vyžaduje na straně lékaře nemalou míru erudice a detailních znalostí o jednotlivých molekulárních alergenech. Vyšetření molekulárních komponent pomocí multiplexních metod nachází v České republice uplatnění při diagnostice respiračních forem alergického zánětu a při podezření na potravinovou alergii. Doposud avšak multiplexová CRD analýza není běžnou součástí diagnostického postupu při vyšetřování pacientů s atopickou dermatitidou.

Výsledky naší studie jsou právě unikátní v tom, že jsme se zaměřili na detailní popis senzibilizačního profilu u dospělých pacientů s atopickou dermatitidou. Dále jsme se podrobně zabývali přínosem stanovení inhalačních a potravinových alergenů zvláště při podezření na možnost zkřížené reaktivity a polysenzibilizace.

Vědeckých prací zabývajících se průběhem atopické dermatitidy v souvislosti se senzibilizací na potravinové a inhalační molekulární komponenty není mnoho (43,44). Několik zahraničních studií prokázalo pomocí vyšetření molekulárních komponent vztah mezi senzibilizací na potravinové a inhalační alergeny ve vztahu k závažnosti atopické dermatitidy (43–46).

Tematicky nejbliže byla publikace polských autorů, kteří hodnotili senzibilizační profily 19 pacientů s AD. Hladinu sIgE stanovili rovněž metodou ISAC a tíži onemocnění hodnotili taktéž indexem SCORAD. V této studii dominovaly alergeny zvířat (58 %), pylů stromů (47 %) a trav (42 %). Téměř polovina pacientů (47 %) odpovídala na zkříženě reagující komponenty a 10 % pacientů vykazovalo pozitivitu na druhově specifické alergeny (46).

V naší studii byly ve skupině pacientů trpících mírnou formou AD zaznamenány četné reakce proti inhalačním alergenům pylů trav, stromů a s nimi zkříženě reagujících alergenů ze skupiny PR-10 proteinů. Dle očekávání byly spolu s alergenem břízy často detekovány také zkříženě reagující potravinové alergeny rostlinného původu z rodiny PR-10 proteinů (jablko, broskev, lískový ořech, arašíd, sója), které způsobují především lokální projevy alergické reakce a mohou vyvolat řadu tzv. „pollen-food“ syndromů (19). Výsledky senzibilizačního profilu pacientů trpících mírnou formou AD naznačují, že k senzibilizaci proti inhalačním alergenům dochází prostřednictvím dýchacích cest, případně po požití potravy rostlinného původu ze skupiny PR-10 proteinů.

Pacienti se středně těžkou a těžkou formou AD byli hojně senzibilizováni hlavními alergeny pylů trav, zároveň se zvyšovala četnost výskytu pozitivních reakcí proti alergenům roztočů domácího prachu a zvířecím alergenům. Molekulární komponenta rPhl p 1 je považována za iniciátor senzibilizačního procesu a za diagnostický marker identifikace pacientů se skutečnou alergií na pyl bojínku lučního (47). Důvodem časté senzibilizace na nCyn d 1 může být vysoká zkřížená reaktivita s beta-expansiny z jiných trav především s hlavním alergenem bojínku rPhl p 1, který se nejčastěji vyskytoval u pacientů s těžkou formou AD.

Výsledky porovnání výskytu molekulárních komponent u mírné, středně těžké a těžké formy AD naznačují, že senzibilizace na roztoče by mohla být klíčová pro rozvoj polysenzibilizace u těžkých forem AD. Roztoči mají schopnost narušovat slizniční bariéru, což může vést k senzibilizaci inhalačními alergeny (např. pyly, zvířata, plísňe) jinou cestou než respirační. Mnohé enzymy roztočů mají destrukční účinek na epitel dýchacích cest (rozrušují mezibuněčné spoje), čímž alergenům usnadňují hlubší průnik do organismu (48).

Výsledky senzibilizačního profilu pacientů s atopickou dermatitidou jsme porovnali se závěry skupiny plzeňských autorů, kteří analýzu senzibilizace provedli na výrazně větším souboru pacientů, avšak s převahou alergiků s respiračními projevy alergického zánětu. Pacienti s atopickou dermatitidou zaujímali přibližně třetinu sledovaného souboru. Naše výsledky jsou ve shodě s jejich hypotézou, že většina senzibilizací v našich geografických podmínkách je vyvolána právě pylovými alergeny trav (rPhl p 1) a stromů r. *Betulaceae* (rBet v 1) (49).

Z našich výsledků dále vyplývá, že stanovení sIgE protilátek multiplexním systémem ISAC by mohlo přispět k objasnění alergických vazeb u dospělých pacientů s komplikovanou těžkou formou atopické dermatitidy.

Vyšetření molekulárních komponent se zároveň zdá být slibným nástrojem pro diagnostiku potravinových alergií, která umožňuje identifikovat senzibilizační profil a zároveň odhadnout riziko imunologické odpovědi na daný alergen. Diagnostická přesnost těchto laboratorních testů se však v různých studiích liší, a tudíž jejich klinická užitečnost není zcela jasná. V přehledovém článku se skupina britských autorů zaměřila na diagnostickou přesnost komponentové diagnostiky potravinových alergií (50). Práce shrnuje výsledky jedenácti studií zabývajících se laboratorním vyšetřením senzibilizace na kravské mléko, vejce, ořechy, arašídý a koryše. Hladiny specifických IgE protilátek proti molekulárním komponentám byly analyzovány různými metodami ImmunoCAP (Phadia) a ISAC (Phadia). Potravinová alergie byla u většiny respondentů (> 80 %) potvrzena dvojitě slepým placebem kontrolovaným potravinovým testem. Z přehledové studie vyplývá, že některé komponenty mají potenciál diagnostikovat alergie na vaječný bílek (nGal d 1), arašídý (nAra h 6), lískové ořechy (rCor a 14) a kravské mléko (nBos d 4). Avšak v současné době není dostatek metodologicky spolehlivých důkazů, aby bylo možné vyvodit konečné závěry. Výsledky ISAC metody poskytují komplexní obraz senzibilizace pacienta, ale dle literárních zdrojů je při interpretaci výsledků nutné zohlednit riziko nižší senzitivity některých potravinových molekulárně definovaných alergenů (46–49).

V naší práci jsme se zabývali zhodnocením senzibilizace na molekulární komponenty v kontextu potravinové alergie u pacientů s atopickou dermatitidou. U dospělých pacientů jsou častými spouštěči potravinové alergie stromové ořechy, luštěniny, ryby, zelenina a ovoce včetně potravin rostlinného původu ve spojitosti s pylovou senzibilizací (5).

V našich geografických podmínkách jsou reakce na jablko (rMal d 1) a broskev (rPru p 1) typickými alergeny, které vykazují zkříženou reaktivitu s hlavním alergenem břízy a manifestují se v podobě mírných obtíží v podobě OAS. Vysoká četnost senzibilizace na komponentu lískového ořechu rCor a 1.0401 poukazuje na významnou roli expozice pylu břízy u dospělých pacientů alergických na stromové ořechy. Při zaměření se na potravinovou alergii na arašídny jsme ve sledovaném souboru pacientů s AD zaznamenali poměrně neobvykle vysoký počet pozitivních reakcí na alergeny arašídny, které byly mediované převážně Bet v 1 homologními proteiny (rAra h 8).

Výsledky našeho pozorování mohou být do určité míry ovlivněny skutečností, že značná část pacientů trpí atopickou dermatitidou kombinovanou alergickou rinitidou.

8. Závěr

Výsledky práce popisují detailní senzibilizační profil pacientů s atopickou dermatitidou a zároveň poukazují na důležitost epidermální bariéry, jejíž narušení vede ke zvýšenému prostupu alergenů do organismu.

Vyšetření specifických IgE protilátek multiplexní metodou ISAC by mohlo být přínosné u dospělých jedinců trpících těžkou formou atopické dermatitidy, kdy zásadní roli v senzibilizaci mohou hrát především hlavní alergeny pylů trav, stromů, roztočů, kočky, psa, koně a spory plísní. Dominující postavení roztočů by mohlo být klíčové pro rozvoj polysenzibilizace u těžkých forem AD. Současná data se však neshodují v tom, zda alergeny roztočů mají hlavní význam cestou přímého kontaktu s kůží pacienta nebo přes adhezi v dýchacích cestách. Je však zřejmé, že u pacientů s AD a alergií na roztoče hraje zásadní roli porucha kožní bariérové funkce.

Naopak u mírné formy AD se zdá přínosné se v klinické praxi spíše zaměřit na to, zda ekzémové projevy nesouvisí s alergií na hlavní alergeny pylu trav (bojínek) a stromů (bříza s bohatou zkříženou reaktivitou s potravinami rostlinného původu v rámci Bet v 1 homologie).

Významnou roli v alergickém pochodu by mohly mít komponenty, které se významně častěji vyskytovaly současně u pacientů s těžkou formou atopické dermatitidy, bronchiálním astmatem a alergickou rýmou. Jedná se o alergeny zvířat a plísní rodu *Alternaria*.

Na základě analýzy přítomnosti sIgE protilátek reagujících s alergeny vybraných složek potravin (stromové ořechy, ryby, koryši, arašídy, jablka, celeru a broskve) jsme získali informace, které by mohly zpřesnit specifickou léčbu a být přínosné z hlediska režimových a eliminačních opatření.

9. Použitá literatura

1. Johansson S, Hourihane J, Bousquet J, et al. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*. 2001;56(9):813–24.
2. Mu Z, Zhao Y, Liu X, Chang C, Zhang J. Molecular Biology of Atopic Dermatitis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2014;47(2):193–218.
3. Hanifin JM, Rajla G. Diagnostic features of atopic dermatitis. Vol. 92, *Acta Dermatovener (Stockholm)*. 1980. p. 44–7.
4. Fuchs M. Potravinová alergie a intolerance. 1st ed. Mladá Fronta; 2016. 448 p.
5. Bělohávková S, Kopelentová E, Šetinová I, Víšek P, Novobilská J, Gvozdiaková T, et al. Registr potravinových alergií DAFALL – první výsledky. *Alergie*. 2015;2:80–9.
6. Krejsek J, Andrys C, Krčmová I. Imunologie člověka. In Hradec Králové: Garamon; 2016. p. 213–22.
7. Mothes-Luksch N, Jordakieva G, Hinterhölzl L, Jensen AN, Hallmann PK, Kundi M, et al. Allergy diagnosis from symptoms to molecules, or from molecules to symptoms: A comparative clinical study. *World Allergy Organ J*. 2018;22(1):1–11.
8. Nečas M. Atopy patch testing with airborne allergens. *Acta dermatovenerologica Alpina, Pannonica, Adriat*. 2013;22(2):39–42.
9. van Hage M, Hamsten C, Valenta R. ImmunoCAP assays: Pros and cons in allergology. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;140(4):974–7.
10. Valenta R, Twaroch T, Swoboda I. Component-resolved diagnosis to optimize allergen-specific immunotherapy in the Mediterranean area. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2007;17 Suppl 1:36–40.
11. Choi J, Roh J, Lee J. Clinical Availability of Component-Resolved Diagnosis Using Microarray Technology in Atopic Dermatitis. *Ann Dermatol*. 2014;26(4):437–46.
12. Melioli G, Bonifazi F, Bonini S, Maggi E, Mussap M, Passalacqua G, et al. The ImmunoCAP ISAC molecular allergology approach in adult multi-sensitized Italian patients with respiratory symptoms. *Clin Biochem*. 2011;44(12):1005–11.
13. Dodig S, Čepelak I. The potential of component-resolved diagnosis in laboratory diagnostics of allergy. *Biochem medica*. 2018;28(2):1–9.
14. Francesca B, Mirella DR, Enrico S, Paola M, Mariaelisabetta C, Ignazio B, et al. Evaluation of a new multiplex assay for allergy diagnosis. *Clin Chim Acta*. 2019;493:73–8.
15. Čelakovská J, Bukač J, Vaňková R, Krcmova I, Krejsek J, Andrys C. Sensitisation to molecular allergens of *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus* in atopic dermatitis patients. *Food Agric Immunol*. 2019;30(1):1079–111.
16. Čelakovská J, Bukač J, Vaňková R, Krcmova I, Krejsek J, Andrys C. Sensitisation to molecular components in patients with atopic dermatitis, relation to asthma bronchiale and allergic rhinitis. *Food Agric Immunol*. 2020;31(1):600–29.
17. Čelakovská J, Bukač J, Vaňková R, Krcmova I, Krejsek J, Andrys C. ISAC multiplex testing – results of examination in 100 patients suffering from atopic

- dermatitis. *Food Agric Immunol.* 2020;31(1):1014–35.
18. Vaňková R, Čelakovská J, Bukač J, Krčmová I, Krejsek J, Andrýs C. Sensitization to Molecular Components in 104 Atopic Dermatitis Patients in Relation to Subgroups of Patients Suffering from Bronchial Asthma and Allergic Rhinitis. *Acta Medica (Hradec Kral Czech Republic).* 2020;63(4):164–75.
 19. Vaňková R, Čelakovská J, Bukač J, Krčmová I, Krejsek J, Andrýs C. Využití multiplexového systému ImmunoCAP ISAC k určení senzibilizace na molekulární komponenty související se závažností atopické dermatitidy. *Česko-Slovenská Dermatologie.* 2020;95(5):166–79.
 20. Teřl M, Čáp P, Dvořáková R, Kašák V, Kočí T, Novotná B, et al. Doporučený postup diagnostiky a léčby bronchiálního astmatu. 1. vydání. Vizner K, editor. Nakladatelství GEUM, s.r.o.; 2015. 1–60 p.
 21. Seberova E, Bachert C, Fokkens W, Haahtela T, Hellings PW, Klimek L, et al. ARIA 2019 : Doporučení péče o pacienty s alergickou rýmou v České republice. *Alergie Suppl.* 2020;1:5–18.
 22. Brožek JL, Bousquet J, Agache I, Agarwal A, Bachert C, Bosnic-Anticevich S, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines—2016 revision. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;140(4):950–8.
 23. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD Index (Consensus report of the European Task Force on Atopic Dermatitis). *Dermatology.* 1993;186:23–31.
 24. Oranje AP, Glazenburg EJ, Wolkerstorfer A, De Waard-Van Der Spek FB. Practical issues on interpretation of scoring atopic dermatitis: The SCORAD index, objective SCORAD and the three-item severity score. *Br J Dermatol.* 2007;157(4):645–8.
 25. Martínez-Aranguren R, Lizaso MT, Goikoetxea MJ, García BE, Cabrera-Freitag P, Trellez O, et al. Is the determination of specific IgE against components using ISAC 112 a reproducible technique? *PLoS One.* 2014;9(2):1–7.
 26. Jakob T, Forstenlechner P, Matricardi P, Kleine-Tebbe J. Molecular allergy diagnostics using multiplex assays : methodological and practical considerations for use in research and clinical routine. *Allergy J Int.* 2015;24:320–32.
 27. ThermoFisher SCIENTIFIC. ImmunoCAP ISAC® sIgE 112. 2017. p. 1–16.
 28. Bělohávková S, Kopelentová E, Šetinová I, Liška M, Fuchs M. Doporučené postupy pro provádění expozičních testů s potravinami. *Alergie Suppl.* 2018;1:1–43.
 29. Šetinová I. Potravinová alergie a intolerance. *Vnitr Lek.* 2020;66(6):340–4.
 30. Werfel T, Ballmer-Weber B, Eigenmann PA, Niggemann B, Rancé F, Turjanmaa K, et al. Eczematous reactions to food in atopic eczema: Position paper of the EAACI and GA2LEN. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2007;62(7):723–8.
 31. Čelakovská J, Ettlerová K, Ettler K, Bukač J. Egg Allergy in Adolescent and Adult Patient Suffering from Atopic Dermatitis – Association with Concomitant Allergic Diseases. *Acta Medica (Hradec Kral Czech Republic).* 2015;58(1):9–14.
 32. Čelakovská J, Ettlerová K, Ettler K, Vaněčková J, Bukač J. Význam diagnostické hypoalergenní diety u pacientů s atopickým ekzémem. *Česko-Slovenská Dermatologie.* 2011;86(3):138–43.
 33. Čelakovská J, Ettlerová K, Ettler K, Vaněčková J, Bukač J. Evaluation of food

- allergy to wheat, cow milk, egg, soy and peanuts in patients suffering from atopic dermatitis. *Food Agric Immunol.* 2015;26(1):26–37.
34. Matricardi PM, Hoffmann HJ, Valenta R, Hilger C, Hofmaier S, Aalberse RC, et al. EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016;27(23):1–250.
 35. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Beyer K, Bindslev-Jensen C, et al. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines: Diagnosis and management of food allergy. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2014;69(8):1008–25.
 36. Worsley JK. The Power of Likelihood Ratio and Cumulative Sum Tests for a Change in a Binomial Probability. *Biometrika.* 1983;70(2):455–64.
 37. Medoid Partitioning [Internet]. NCSST Statistical Software. 2019. p. 1–13. Available from: NCSST.com
 38. Čelakovská J, Bukač J, Vaňková R, Cermakova E, Krcmova I, Krejsek J, et al. Cluster analysis of molecular components in 100 patients suffering from atopic dermatitis according to the ISAC Multiplex testing. *Food Agric Immunol.* 2020;31(1):810–31.
 39. Čelakovská J, Bukač J, Vaňková R, Krejsek J, Andrýs C, Krcmova I. Food allergy to shrimps and fish in patients suffering from atopic dermatitis, the results of ISAC Multiplex examination. *Food Agric Immunol.* 2020;31(1):1061–78.
 40. Čelakovská J, Bukač J, Vaňková R, Salavec M, Krejsek J, Andrýs C. Allergy to walnuts and hazelnuts in atopic dermatitis patients and analysis of sensitization to molecular components. *Food Agric Immunol.* 2021;32(1):105–20.
 41. Čelakovská J, Bukač J, Vaňková R, Krejsek J, Andrýs C. Peanuts allergy in atopic dermatitis patients, analysis of sensitization to molecular components. *Food Agric Immunol.* 2021;32(1):221–36.
 42. Čelakovská J, Bukač J, Vaňková R, Krejsek J, Andrýs C. Food allergy to apple, peach and celery in atopic dermatitis patients, analysis of sensitization to molecular components. *Food Agric Immunol.* 2021;32(1):184–203.
 43. Ott H, Baron JM, Heise R, Ocklenburg C, Stanzel S, Merk HF, et al. Clinical usefulness of microarray-based IgE detection in children with suspected food allergy. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2008;63(11):1521–8.
 44. Röckmann H, Van Geel MJ, Knulst AC, Huiskes J, Bruijnzeel-Koomen CAFM, De Bruin-Weller MS. Food allergen sensitization pattern in adults in relation to severity of atopic dermatitis. *Clin Transl Allergy.* 2014;4(1):1–9.
 45. Ott H, Fölster-Holst R, Merk HF, Baron JM. Allergen microarrays: A novel tool for high-resolution IgE profiling in adults with atopic dermatitis. *Eur J Dermatology.* 2010;20(1):54–61.
 46. Wojciechowska M, Żbikowska-Gotz M, Marek-Józefowicz L, Przybyszewski M, Gocki J, Bartuzi Z. Allergic phenotypes in adult patients with atopic dermatitis, determined with the ISAC test (ImmunoCAP ISAC). *Postep Dermatologii i Alergol.* 2018;35(4):351–9.
 47. Hatzler L, Panetta V, Lau S, Wagner P, Bergmann RL, Illi S, et al. Molecular spreading and predictive value of preclinical IgE response to *Phleum pratense* in

- children with hay fever. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(4):894–901.
48. Calderón MA, Linneberg A, Kleine-Tebbe J, De Blay F, Hernandez Fernandez de Rojas D, Virchow JC, et al. Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Jul;136(1):38–48.
 49. Panzner P, Vachová M, Vítovcová P, Brodská P, Vlas T. A comprehensive analysis of middle-european molecular sensitization profiles to pollen allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 2014;164(1):74–82.
 50. Flores Kim J, McCleary N, Nwaru BI, Stoddart A, Sheikh A. Diagnostic accuracy, risk assessment, and cost-effectiveness of component-resolved diagnostics for food allergy: A systematic review. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2018;73(8):1609–21.

10. Přehled publikační činnosti autora

Původní vědecké práce se vztahem k tématu doktorského studia publikované v impaktovaném časopise

Čelakovská J, Bukač J, **Vaňková R**, Krčmová I, Krejsek J, Andrýs C. Sensitisation to molecular allergens of *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus* in atopic dermatitis patients. *Food Agric Immunol.* 2019;30(1):1097-1111, DOI: 10.1080/09540105.2019.1660624, **IF = 2.398**.

Čelakovská J, Bukač J, **Vaňková R**, Krcmova I, Krejsek J, Andrýs C. Sensitisation to molecular components in patients with atopic dermatitis, relation to asthma bronchiale and allergic rhinitis. *Food Agric Immunol.* 2020;31(1):600–629, DOI: 10.1080/09540105.2020.1747406, **IF = 2.398 (2018)**.

Čelakovská J, Bukač J, **Vaňková R**, Krcmova I, Krejsek J, Andrýs C. ISAC multiplex testing – results of examination in 100 patients suffering from atopic dermatitis. *Food Agric Immunol.* 2020;31(1):1014–35, DOI: 10.1080/09540105.2020.1799947, **IF = 2.398 (2018)**.

Čelakovská J, Bukač J, **Vaňková R**, Krejsek J, Andrýs C. The relation between the sensitization to molecular components of inhalant allergens and food reactions in patients suffering from atopic dermatitis. *Food Agric Immunol.* 2021;32(1):33–53, DOI: 10.1080/09540105.2020.1865281, **IF = 2.398 (2018)**.

Čelakovská J, Bukač J, **Vaňková R**, Krejsek J, Andrýs C. Correction to: The relation between the sensitization to molecular components of inhalant allergens and food reactions in patients suffering from atopic dermatitis. *Food Agric Immunol.* 2021;32(1):121–5. DOI: 10.1080/09540105.2021.1890916, **IF = 2.398 (2018)**.

Čelakovská J, Bukač J, **Vaňková R**, Krejsek J, Andrýs C. Peanuts allergy in atopic dermatitis patients, analysis of sensitization to molecular components. *Food Agric Immunol.* 2021;32(1):221–36, DOI: 10.1080/09540105.2021.1911958, **IF = 2.398 (2018)**.

Čelakovská J, Bukač J, **Vaňková R**, Krejsek J, Andrýs C. Food allergy to apple, peach and celery in atopic dermatitis patients, analysis of sensitisation to molecular components. *Food Agric Immunol.* 2021;32(1):184–203, DOI: 10.1080/09540105.2021.1911957, **IF = 2.398 (2018)**.

Čelakovská J, Bukač J, **Vaňková R**, Cermakova E, Krcmova I, Krejsek J, Andrýs C. Cluster analysis of molecular components in 100 patients suffering from atopic dermatitis according to the ISAC Multiplex testing. *Food Agric Immunol.* 2020;31(1):827–848, DOI: 10.1080/09540105.2020.1776224, **IF = 2.398 (2018)**.

Čelakovská J, Bukač J, **Vaňková R**, Krejsek J, Andrýs C, Krcmova I. Food allergy to shrimps and fish in patients suffering from atopic dermatitis, the results of ISAC Multiplex examination. *Food Agric Immunol.* 2020;31(1):1061–78, DOI: 10.1080/09540105.2020.1826911, **IF = 2.398 (2018)**.

Čelakovská J, Bukač J, **Vaňková R**, Salavec M, Krejsek J, Andrýs C. Allergy to walnuts and hazelnuts in atopic dermatitis patients and analysis of sensitization to molecular components. *Food Agric Immunol.* 2021;32(1):105–20, DOI: 10.1080/09540105.2021.1874883, **IF = 2.398 (2018)**.

Celakovska J, **Vankova R**, Bukac J, Cermakova E, Andrys C, Krejsek J. Atopic Dermatitis and Sensitisation to Molecular Components of Alternaria, Cladosporium, Penicillium, Aspergillus, and Malassezia Results of Allergy Explorer ALEX 2. *J Fungi.* 2021;7(183): 1–15, DOI: 10.3390/jof7030183, **IF = 4.621**.

Čelakovská J, Bukač J, Cermákova E, **Vaňková R**, Skalská H, Krejsek J, et al. Analysis of Results of Specific IgE in 100 Atopic Dermatitis Patients with the Use of Multiplex Examination ALEX2—Allergy Explorer. *Int J Mol Sci.* 2021;22(10):1–32, DOI: 10.3390/ijms22105286, **IF = 4.556**.

Čelakovská J, Bukač J, Vaneckova J, Krcmova I, Komorousová M, Cetkovská P, **Vankova R**, Krejsek J. Food Hypersensitivity Reactions to Seafish in Atopic Dermatitis Patients Older 14 Years of Age - The Evaluation of Association with Other Allergic Diseases and Parameters. *Indian J Dermatol.* 2020;65(2):97–104, DOI: 10.4103/ijd.IJD_403_18, **IF = 1.523.**

Původní vědecké práce se vztahem k tématu doktorského studia publikované v recenzovaném neimpaktovaném časopise

Vaňková R, Čelakovská J, Bukač J, Krčmová I, Krejsek J, Andrýs C. Využití multiplexového systému ImmunoCAP ISAC k určení senzibilizace na molekulární komponenty související se závažností atopické dermatitidy. *Česko-Slovenská Dermatologie.* 2020;95(5):166–79.

Vaňková R, Čelakovská J, Bukač J, Krčmová I, Krejsek J, Andrýs C. Sensitization to Molecular Components in 104 Atopic Dermatitis Patients in Relation to Subgroups of Patients Suffering from Bronchial Asthma and Allergic Rhinitis. *Acta Medica (Hradec Kral Czech Republic).* 2020;63(4):164–75, DOI: 10.14712/18059694.2020.59.

Ostatní práce se vztahem k tématu doktorského studia publikované v recenzovaném neimpaktovaném časopise

Vaňková R, Čelakovská J, Krejsek J, Krčmová I, Andrýs C. Molekulárně definované alergeny a jejich využití v diagnostice alergického zánětu (atopické dermatitidy). *Čes-slov Derm.* 2020;95(4):127–140.

Původní vědecká práce bez vztahu k tématu doktorského studia publikovaná v impaktovaném časopise

Svadlakova T, Hubatka F, Knotigova PT, Kulich P, Masek J, Kotoucek J, Macak J, Motola M, Kalbac M, Kolackova M, **Vankova R**, Vicherkova P, Malkova A, Simeckova P, Volkov Y, Prina-mello A, Kratochvilova I, Fiala Z, Raska M, Krejsek J, Turanek J. Proinflammatory effect of carbon-based nanomaterials: In vitro study on stimulation of inflammasome NLRP3 via destabilisation of lysosomes. *Nanomaterials*. 2020;10(3):1–18, DOI: 10.3390/nano10030418, **IF = 4.324**.

Přednášky na odborných setkáních

Vaňková R, Čelakovská J, Krejsek J, Krčmová I, Andrýs C. Zhodnocení senzitivity a specificity multiplexního stanovení (ImmunoCAP ISAC) sIgE proti potravinovým molekulárně definovaným alergenům u pacientů s atopickou dermatitidou (přednáška). XXXVII. Sjezd ČSAKI/SSAKI a XVI. Kongres ČIS/SIS on-line, Praha, 8.-9.10.2020.