

SOUHRN V ČEŠTINĚ

Potravinová alergie je jedním z nejčastějších onemocnění a postihuje jak dětskou, tak dospělou populaci. Její výskyt neustále roste, v posledních dvaceti letech se zdvojnásobil. Ačkoliv pšenice patří mezi hlavní potravinové alergeny a je základní složkou většiny jídel, naše znalosti pšeničných proteinů způsobujících IgE hypersenzitivní reakci je nedostatečná. Diagnostika potravinové alergie na pšenici se vyznačuje vysokou sensitivitou, ale nízkou specificitou. Ta může být spojena s nedostatečnou čistotou používaných extraktů anebo absencí hlavních alergenů v těchto extraktech.

V prvním kroku jsme charakterizovali 19 potenciálních alergenů rozpoznávaných IgE protilátkami ze sér pacientů. Díky proteomickým metodám (1-DE, 2-DE, MALDI-TOF, QTOF a LCQ^{DECA} nLC-MS/MS iontová past) jsme identifikovali např. tyto IgE vázající molekuly: inhibitory α -amylázy, β -amyláza, profilin, serpin, β -D-glukan exohydroláza a 27K protein. Pro kvantifikaci IgE protilátek jsme vyvinuli metodu ELISA, ve které byl použit jak pšeničný extrakt, tak komerčně dostupné inhibitory α -amylázy.

V dalším kroku jsme vyvinuli metodu postupné izolace pšeničných alergenů z přírodních zdrojů, která využívá zařízení Rotofor a HPLC. Tímto přístupem bylo identifikováno 27 potenciálních alergenů, z nichž 7 bylo nově popsáno u potravinové alergie: endogenní inhibitor α -amylázy, inhibitor α -amylázy CMX1/CMX3, TLP, XIP, β -glucosidáza, chitináza třídy II a 26 kDa endochitináza. Pro testování biologické aktivity purifikovaných alergenů byl použit test aktivace bazofilů. Jako první jsme ukázali, že purifikované alergeny jako inhibitor α -amylázy 0.19, lipid transfer protein, TLP a wheatwin aktivují pacientské bazofily. Tímto se potvrdilo, že naše purifikované proteiny si zachovávají svou biologickou aktivitu.

Na myším modelu jsme také zkoumali vliv tepelného opracování vaječného ovalbuminu na jeho schopnost vyvolat odpověď imunitního systému.

Hlavním přínosem těchto prací je identifikace nejdůležitějších pšeničných alergenů schopných vyvolat IgE hypersenzitivní reakci. Vyvinuli jsme nové metody pro identifikaci a izolaci alergenů v jejich přírodní formě a to v množství, které je dostatečné jak pro biologické testy (*in vivo*, *in vitro*), tak pro fyzikálně-chemickou charakterizaci. Tato studie povede ke zpřesnění znalostí o alergenicitě pšeničných alergenů a ke zlepšení specificity diagnostických testů.