

**Univerzita Karlova  
Lékařská fakulta v Plzni**

Doktorský studijní program

**Hygiena, preventivní lékařství a epidemiologie**

**Epidemiologie přecitlivělosti u pacientů s atopickým  
ekzémem a její klinický význam**

**Epidemiology of hypersensitivity in patients with  
atopic dermatitis and its clinical relevance**

**MUDr.Martin Liška**

Školitel: Doc.MUDr.Petr Panzner, CSc.

Plzeň, 2014

Obhajoba dne: .....

## Abstrakt

**Úvod:** Atopický ekzém (AE) je chronické zánětlivé onemocnění kůže, které často provází přecitlivělost na různé alergeny. Přestože dlouho převažoval názor, že hlavní roli v patogenezi AE sehrávají potravinové alergeny, postupně přibývá i důkazů o významu inhalačních alergenů. V posledních desetiletích byla rovněž intenzivně zkoumána klinická relevance zjištěné přecitlivělosti.

**Cíl práce:** Cílem naší práce bylo zjistit výskyt přecitlivělosti na inhalační alergeny u pacientů s AE a posoudit její klinickou relevanci pomocí různých standardů hodnocení.

**Metodika:** Vyšetřili jsme 71 pacientů (medián věku 5 let) s AE na přecitlivělost na pyl trav a břízy, *Dermatophagoides pteronyssinus* a *Dermatophagoides farinae* pomocí atopických epikutánních testů (APT), kožních prick testů (SPT) a vyšetření specifických IgE. Poté byla spočtena senzitivita a specifita testů na základě anamnézy exacerbací AE, změn klinického skóre AE (SCORAD) a změn počtu dnů s nutností užití topické protizánětlivé léčby (AITD) ve vztahu k expozici testovaným alergenům.

**Výsledky:** APT byly pozitivní u 45 pacientů, nejčastěji na *Der. farinae* ( $n = 37$ ). SPT a/nebo vyšetření specifických IgE byly pozitivní u 42 subjektů, nejčastěji na pyl trav a břízy ( $n = 29$ ). Senzitivita APT dosahovala při hodnocení podle anamnézy 33-56%, při hodnocení podle změn SCORAD 33% a u AITD 0-60%; specifita APT byla srovnatelná u všech tří standardů hodnocení (anamnéza, SCORAD, AITD) (48-67%). Senzitivita SPT/specif.IgE byla vyšší při hodnocení podle anamnézy (26-63%) než při použití zbylých dvou standardů hodnocení (0-67%); specifita SPT/specif.IgE byla rovněž nejvyšší při hodnocení podle anamnézy (69-91%) a nižší u SCORAD (59-87%) a AITD (65-80%).

**Závěr:** AE je velmi často spojen s přecitlivělostí na inhalační alergeny, nicméně její vliv na onemocnění je klinicky významný pouze u menší skupiny pacientů. Zatímco hodnocení klinické relevance podle anamnézy a změn SCORAD se jeví u pacientů s AE jako použitelný standard pro hodnocení klinické relevance zjištěné přecitlivělosti, hodnocení podle spotřeby topické protizánětlivé léčby (AITD) se zdá být pro tento účel nevhodné.

## Abstract

**Background:** Atopic dermatitis (AD) is a chronic inflammatory skin disease which is often accompanied by hypersensitivity to various allergens. While food allergens have been considered to play a major role in AD pathogenesis, there is also increasing evidence that aeroallergens are involved. The clinical relevance of detected hypersensitivity was also intensively investigated in last decades.

**Aims of the study:** Our aim was to find out the frequency of hypersensitivity to airborne allergens in AD patients and its clinical relevance using various evaluation standards.

**Methods:** We tested 71 patients (median age 5 years) with AD for hypersensitivity to grass and birch pollen, *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae* using atopy patch test (APT), skin prick test (SPT) and specific IgE measurement. The sensitivity (SE) and specificity (SP) of the tests were calculated on the basis of personal history of AD exacerbation, SCORAD changes and the number of days with need for topical anti-inflammatory treatment (AITD) in relation to exposure to the allergens being tested.

**Results:** APT was positive in 45 patients, mostly to *Der.farinae* ( $n = 37$ ). SPT and/or specific IgE were positive in 42 subjects, in most cases to grass and birch pollen ( $n = 29$ ). Sensitivity of APT reached 33-56% for history, 33% for SCORAD and 0-60% for AITD; specificity of APT was comparable for all three assessment standards (history, SCORAD, AITD) (48-67%). Sensitivity of SPT/specif.IgE was higher for history (26-63%) than for the other two standards of assessment (0-67%); specificity of SPT/specif.IgE was also highest for history (69-91%), and lower for SCORAD (59-87%) and AITD (65-80%).

**Conclusions:** AD is often associated with hypersensitivity to airborne allergens; its influence on AD, however, is clinically significant only in a minor group of patients. While personal history and SCORAD changes present themselves as possible standards in the evaluation of clinically relevant hypersensitivity in AD patients, the need for topical anti-inflammatory treatment (AITD) seems to be unsuitable for this purpose.

## **Prohlášení autora**

---

### **Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem doktorskou dizertační práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k tomu, aby byla tato práce uložena v knihovně Lékařské fakulty UK v Plzni a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svoji publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v informačním systému Univerzity Karlovy v Praze.

Plzeň, ..... 2014

## Obsah

Seznam použitých symbolů a zkratek.....	8
1 Úvod do problematiky .....	11
1.1 Definice atopického ekzému a atopie .....	11
1.2 Klinické projevy atopického ekzému .....	14
1.2.1 Charakteristická distribuce podle věku .....	14
1.2.2 Typické projevy atopického ekzému .....	15
1.3 Epidemiologie atopického ekzému.....	18
1.4 Epidemiologie dalších atopických onemocnění .....	24
1.5 Etiologie a patofyziologie atopického ekzému .....	26
1.5.1 Genetické faktory .....	26
1.5.2 Imunologické faktory .....	28
1.5.2.1 Nespecifický imunitní systém .....	28
1.5.2.2 Specifický imunitní systém .....	28
1.5.2.3 Keratinocyty.....	31
1.5.3 Úloha přecitlivělosti.....	32
1.5.3.1 IgE-zprostředkované reakce (reakce časná přecitlivělosti, reakce I.typu) .....	32
1.5.3.2 Specifickými T lymfocyty-prostředkované reakce přecitlivělosti (reakce pozdní přecitlivělosti, reakce IV.typu) .....	38
1.5.3.3 Histologické nálezy u atopického ekzému.....	40
1.5.3.4 Alergeny.....	41
1.5.4 Vliv nespecifických dráždivých podnětů.....	44
1.5.5 Porucha bariérová funkce kůže .....	44
1.5.5.1 Filaggrin .....	44
1.5.5.2 Porucha serinových proteáz .....	45
1.5.5.3 Tight junctions .....	45
1.5.5.4 Porucha metabolismu nenasycených mastných kyselin .....	46
1.5.6 Neurogenní faktory.....	46
1.6 Nemoci asociované s atopickým ekzémem.....	47
1.6.1 Další atopická onemocnění.....	47
1.6.1.1 Průduškové astma a alergická rýma .....	47
1.6.1.2 Potravinová alergie.....	47
1.6.1.3 Urtikárie.....	47

1.6.2	Vrozené poruchy kůže .....	47
1.6.2.1	Ichthyosis vulgaris.....	47
1.6.3	Imunodeficity.....	48
1.6.3.1	Nethertonův syndrom .....	48
1.6.3.2	Omennův syndrom .....	48
1.6.3.3	Wiskott-Aldrichův syndrom.....	48
1.6.3.4	HyperIgE syndrom .....	48
1.6.3.5	Ataxia teleangiectasia.....	48
1.7	Léčba atopického ekzému .....	48
2	Cíl práce .....	50
3	Popis řešení a výsledky výzkumu.....	51
3.1	Materiál a metodika .....	51
3.1.1	Studijní soubor.....	51
3.1.2	Popis studie .....	51
3.1.3	Metody .....	52
3.1.3.1	Atopické epikutánní testy (APT) .....	52
3.1.3.2	Kožní prick testy (SPT) .....	53
3.1.3.3	Vyšetření specifických IgE v séru .....	53
3.1.3.4	Anamnéza .....	53
3.1.3.5	SCORAD.....	53
3.1.3.6	AITD (Anti-Inflammatory Treatment Days) .....	53
4	Výsledky.....	55
5	Hodnocení a závěr .....	73
5.1	Diskuse.....	73
5.2	Závěr .....	76
6	Použitá literatura .....	78
7	Přílohy.....	92
	<i>Příloha 1</i> .....	92
	<i>Příloha 2</i> .....	94
	<i>Příloha 3</i> .....	95
	<i>Příloha 4</i> .....	96
	<i>Příloha 5</i> .....	97

## Seznam použitých symbolů a zkratk

AITD – počet dnů, kdy byli pacienti s atopickým ekzémem nuceni použít topickou protizánětlivou léčbu (*Anti-Inflammatory Treatment Days*)

AE – atopický ekzém

APC – antigen prezentující buňky (*Antigen Presenting Cells*)

APT – atopické epikutánní testy (*Atopy Patch Test*)

BAT – test aktivace bazofilů (*Basophil Activation Test*)

cAMP – cyklický adenosinmonofosfát

CD – systém označení povrchových molekul buněk (*Cluster of Differentiation*)

DBPCFC – dvojitě zaslepený placebem kontrolovaný provokační test s potravinami (*Double-Blind Placebo-Controlled Food Challenge*)

DC – dendritické buňky (*Dendritic Cells*)

ECP – eozinofilní kationický protein (*Eosinophil Cationic Protein*)

ELISA - *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*

ETFAD – Evropská pracovní skupina pro atopický ekzém (*European Task Force on Atopic Dermatitis*)

FcεRI – vysokoafinitní receptor pro IgE

*FLG* – gen pro filaggrin

GM-CSF - faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů (*Granulocyte-Macrophage-Colony Stimulating Factor*)

IDEC – zánětlivé epidermální dendritické buňky (*Inflammatory Dendritic Epidermal Cells*)

IFN - interferon

IgG – imunoglobulin G

IgE – imunoglobulin E

IL – interleukin

ISAAC – mezinárodní studie *The International Study of Asthma and Allergies in Childhood*

KLK7 – kalikrein 7

KS - kortikosteroidy

*LEKTI* – gen pro *Lymphoepithelial Kazal-Type-related Inhibitor*

MBP – hlavní bazický protein (*Major Basic Protein*)

MCP-4 - chemotaktický protein pro monocyty (*Monocyte Chemotactic Protein-4*)

mDC – myeloidní dendritické buňky (*myeloid Dendritic Cells*)

MHC – hlavní histokompatibilní komplex (*Major Histocompatibility Complex*)

MnSOD – mangan-superoxid dismutáza

NMF - přirozený zvlhčující faktor (*Natural Moisturizing Factor*)

*NOD1* – gen kódující oligomerizační doménu vážící nukleotid

pDC – plazmocytoidní dendritické buňky (*plasmocytoid Dendritic Cells*)

PPV – prediktivní hodnota pozitivního testu (*Positive Predictive Value*)

RANTES - chemokin označovaný jinak jako CCL5, který působí jako chemotaktický faktor pro T lymfocyty, eozinofily a bazofily a hraje významnou roli při povolávání leukocytů do místa zánětu (*Regulated on Activation, Normal T cell Expressed and Secreted*)

RAST - *RadioAllergoSorbent Test*

SCORAD – skórovací systém pro hodnocení atopického ekzému (*SCORing Atopic Dermatitis*)

SE - senzitivita

SEA - stafylokokový enterotoxin A

SEB - stafylokokový enterotoxin B

SP - specificita

*SPINK5* – gen kódující inhibitor serinové protézy, Kazal type-5

Specif.IgE – specifické IgE

SPT – kožní prick testy (*Skin Prick Test*)



TGF- $\beta$ 1 – transformující růstový faktor beta 1 (*Transforming Growth Factor beta*)

Th lymfocyt – pomocný T lymfocyt (*T helper cell*)

TLR – Toll-like receptor

*TLR2* – gen pro Toll-like receptor 2

TNF- $\alpha$  - faktor nekrotizující nádory (*Tumor-Necrosis Factor*)

Treg – regulační T lymfocyty

TSLP - brzlíkový stromální lymfopoetin (*Thymic Stromal LymphoPoietin*)

TSST-1 – toxin syndromu toxického šoku-1 (*Toxic Shock Syndrome Toxin*)

WAO – Světová alergologická organizace (*World Allergy Organization*)

# 1 Úvod do problematiky

## 1.1 Definice atopického ekzému a atopie

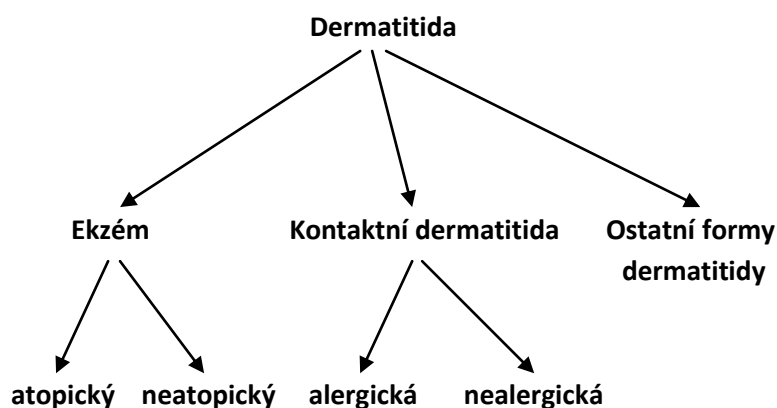
Jako atopický ekzém (AE) označujeme chronické a relabující zánětlivé onemocnění kůže s charakteristickou morfologií a distribucí projevů, které bývá často spojeno s atopií, má genetický základ a není infekční.

K typickým projevům AE patří svědění, erytém, papulace, vezikuly, mokvání, krustace a lichenifikace. V současnosti se pro onemocnění často užívá též označení atopická dermatitida, v minulosti to pak byly např. termíny jako neurodermitis nebo Besnierovo prurigo.

Podle poslední revize nomenklatury vydané výborem Světové alergologické organizace (WAO) [1] označujeme jako **atopii** genetickou predispozici jedince nebo rodiny vytvářet IgE protilátky v odpovědi na expozici běžným alergenům, obvykle bílkovinám. V důsledku toho se u těchto osob typicky vyvinou příznaky astmatu, rinokonjunktivitidy nebo ekzému. Tato IgE-zprostředkovaná senzibilizace by měla být přitom prokázána pomocí kožních prick testů nebo vyšetření specifických IgE protilátek. Ve výše uvedené nomenklatuře se rovněž řešila terminologie AE a jemu blízkých onemocnění. Nově navržené schéma (viz obrázek 1) je zastřešeno termínem **dermatitida**, označujícím jakýkoli lokální zánět kůže. Pod něj spadá skupina ekzému, tedy onemocnění charakterizovaných geneticky podmíněnou poruchou bariérové funkce kůže. Ekzém může být spojen s IgE-zprostředkovanou senzibilizací (atopický), anebo existovat bez ní (neatopický). Podobně kontaktní dermatitida může být spojena s T lymfocyty-zprostředkovanou senzibilizací na různé alergeny (alergická), či nikoli (nealergická). Mezi „ostatní formy dermatitidy“ patří různé klinické jednotky více (dyshidrotický ekzém, seboroická dermatitida) či méně (numulární a fotosenzitivní dermatitida) vzdálené AE.

Pro definici a stanovení diagnózy AE se stala milníkem diagnostická kritéria onemocnění, která definovali v r. 1980 Hanifin a Rajka vycházející z typických klinických příznaků AE, charakteristického průběhu onemocnění a průvodních patologií [2](viz tabulka 1).

**Obrázek 1 - Upravené názvosloví atopického ekzému a jemu blízkých onemocnění (upraveno podle [1])**



**Tabulka 1 - Diagnostická kritéria atopického ekzému podle Hanifina a Rajky (upraveno podle [2])**

<b>Hlavní znaky:</b> (musí být přítomny 3 nebo více)
1. Pruritus
2. Typická morfologie a distribuce projevů: lichenifikace nebo hyperlinearita ve flexurách u dospělých postižení obličeje nebo extenzorových ploch u kojenců a dětí
3. Chronická nebo chronicky relabující dermatitida
4. Osobní nebo rodinná anamnéza atopie (průduškové astma, alergická rýma, atopický ekzém)
<b>Plus 3 nebo více malých znaků:</b>
1. Xeróza
2. Ichtyóza/hyperlinearita dlaní/keratosis pilaris
3. Pozitivita kožního prick testu
4. Zvýšení sérového IgE
5. Nástup v časném věku
6. Sklon k opakovaným kožním infekcím (zjm. <i>Staph.aureus</i> a <i>Herpes simplex</i> )/ porucha buněčné imunity
7. Sklon k nespecifickým dermatidám rukou a nohou
8. Ekzém bradavek
9. Cheilitida
10. Opakované konjunktivitidy
11. Dennie-Morganův infraorbitální záhyb
12. Keratokonus
13. Přední subkapsulární katarakta
14. Periorbitální ztmavnutí pokožky
15. Zblednutí/zrudnutí obličeje

16. Pityriasis alba
17. Záhyby v přední části krku
18. Svědění při zpocení
19. Intolerance vlny a rozpuštědel tuků
20. Perifolikulární zvýraznění
21. Intolerance potravin
22. Současné ovlivnění faktory prostředí/emočními faktory
23. Bílý dermografismus/pozdní zblednutí

Tato kritéria se stala základem pro další, z nichž k nejnámějším patří Lillehammerská kritéria [3] (viz tabulka 2) nebo Williamsova kritéria [4].

**Tabulka 2 - Lillehammerská kritéria pro diagnostiku atopického ekzému (upraveno podle [3])**

<b>I. Infantilní fáze (věk &lt; 2 roky)</b>
<b>A. Klinická</b>
1. Ekzém obličeje a krku
2. Ekzém trupu
3. Ekzém horních nebo dolních končetinách (extenzorové nebo flexurální plochy)
4. Svědivé projevy včetně lichenifikace nebo impetiga
<b>B. Anamnestická</b>
5. Anamnéza relabujícího průběhu nebo sezónních výkyvů
6. Anamnéza suchosti kůže
7. Anamnéza svědění při zpocení nebo intolerance vlny
8. Anamnéza respiračního atopického onemocnění nebo pozitivní rodinná anamnéza atopie u příbuzných prvního stupně
<b>C. Laboratorní</b>
9. Zvýšení sérového IgE nebo pozitivita kožních prick testů
<b>D. Délka trvání</b>
10. Trvání déle než 6 týdnů
<b>II. Dětská fáze (věk 2-12 let)</b>
<b>A. Klinická</b>
1. Ekzém obličeje nebo krku
2. Ekzém na loktech nebo v podkolenních jamkách
3. Ekzém na zápěstích nebo kotnících
4. Ekzém rukou nebo nohou včetně dermatitis plantaris sicca
5. Pityriasis alba nebo reverzní ekzém nad (pod) lokty/koleny nebo dermatitida záchodového Prkénka
6. Svědivé projevy včetně lichenifikace nebo impetiga
<b>B. Anamnestické</b>
7. Anamnéza relabujícího průběhu nebo sezónních výkyvů
8. Anamnéza suchosti kůže
9. Anamnéza svědění při zpocení nebo intolerance vlny
10. Anamnéza respiračního atopického onemocnění nebo pozitivní rodinná anamnéza atopie u příbuzných prvního stupně

<b>C. Laboratorní</b>
11. Zvýšení sérového IgE nebo pozitivita kožních prick testů
<b>D. Délka trvání</b>
12. Trvání déle než 3 měsíce
<b>III. Dospělá fáze (věk &gt; 12 let)</b>
<b>A. Klinická</b>
1. Ekzém obličeje nebo krku 2. Ekzém na loktech nebo v podkolenních jamkách 3. Ekzém na zápěstích nebo kotnících 4. Ekzém rukou nebo nohou včetně dermatitis plantaris sicca 5. Pityriasis alba nebo numulární ekzém horních nebo dolních končetin nebo ekzém v horní části trupu včetně ekzému bradavek 6. Svědivé projevy včetně lichenifikace nebo impetiga
<b>B. Anamnestické</b>
7. Anamnéza relabujícího průběhu nebo sezónních výkyvů 8. Anamnéza suchosti kůže 9. Anamnéza svědění při zpotení nebo intolerance vlny 10. Anamnéza respiračního atopického onemocnění nebo pozitivní rodinná anamnéza atopie u příbuzných prvního stupně
<b>C. Laboratorní</b>
11. Zvýšení sérového IgE nebo pozitivita kožních prick testů
<b>D. Délka trvání</b>
12. Trvání déle než 3 měsíce

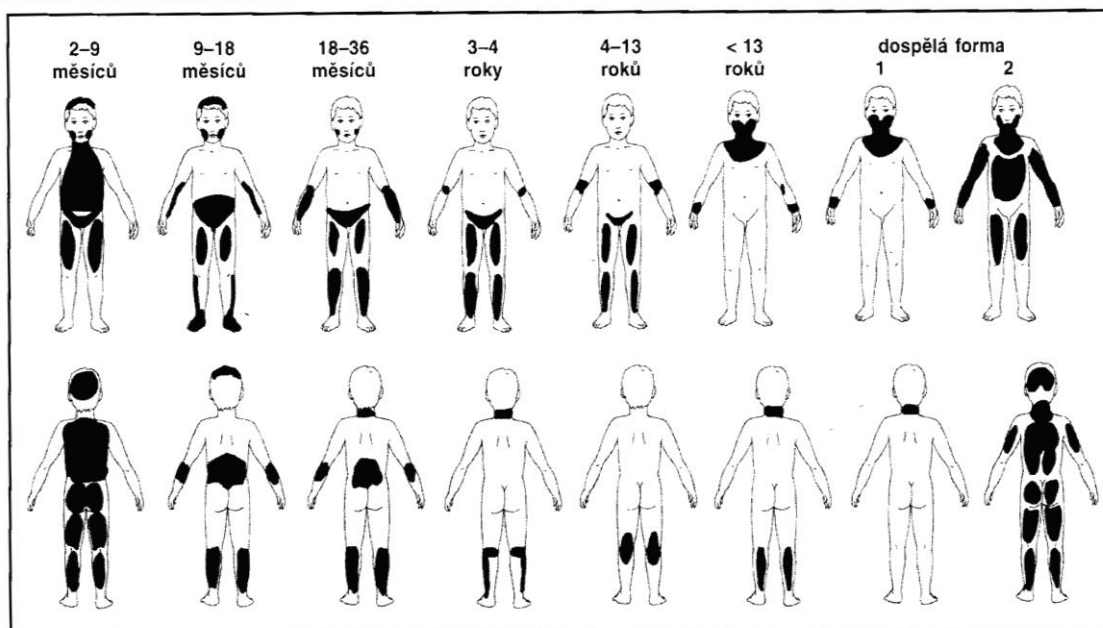
Diagnostická kritéria: viditelný ekzém v alespoň jedné z oblastí (A) a alespoň jedno pozitivní anamnestické nebo laboratorní kritérium (B,C) a jsou splněna alespoň tři z klinických, anamnestických nebo laboratorních kritérií (A,B,C). Navíc by jako čtvrté kritérium mělo kožní onemocnění vždy trvat v infantilní fázi alespoň 6 týdnů nebo alespoň 3 měsíce v dětské a dospělé fázi

## 1.2 Klinické projevy atopického ekzému

### 1.2.1 Charakteristická distribuce podle věku

Jedním z charakteristických rysů AE je typická distribuce projevů na těle, která se mění v závislosti na věku (viz obrázek 2). AE vzniká cca v 90% případů mezi narozením a šestým rokem věku.

**Obrázek 2 - Distribuce kožních projevů atopického ekzému v závislosti na věku (upraveno podle [5])**



Kojenecká (infantilní) forma začíná většinou mezi 2.- 6.měsícem života na tvářích a odtud se může rozšířit na celou hlavu, trup a končetiny. Jako první se objeví erytém, následovaný výsevem papulek a puchýřků, objevit se může i mokvání s tvorbou krust a šupin. Projevy úporně svědí, po škrábání vznikají exkoriace.

Dětská forma obvykle navazuje na formu kojeneckou. Projevy se přesunují do tzv. flexur, tedy míst ohybu kůže na končetinách, tedy loketních a podkolenních jamek a zápěstí. V místech výrazného chronického zánětu vzniká lichenifikace (viz dále).

Dospělá forma opět většinou navazuje na formu dětskou, ale někdy může být i prvním projevem. Místa postižení jsou obdobná jako u formy dětské, nejčastěji je postižen krk a obličej.

## 1.2.2 Typické projevy atopického ekzému

### Erytém

Erytém neboli difúzní červené zbarvení kůže je typickým projevem AE a je podmíněno zánětlivou hyperémií v rámci dermatitidy (viz obrázek 3).

**Obrázek 3 - Erytém jako projev atopického ekzému** (převzato se svolením autorů ze serveru <http://adserver.sante.univ-nantes.fr/>)



#### **Edém, papulace**

Zanícené plochy bývají v důsledku zánětlivého edému vyvýšené nad niveau kůže, případně se objeví výsev papulek (viz obrázek 4).

**Obrázek 4 - Papulace jako projev atopického ekzému** (převzato se svolením autorů ze serveru <http://adserver.sante.univ-nantes.fr/>)



### **Mokvání, krustace**

V místech výsevu puchýřků, někdy i bez nich, může docházet k sekreci tkáňového moku (mokvání) následovanému tvorbou krust (viz obrázek 5).

**Obrázek 5 - Mokvání s tvorbou krust jako projev atopického ekzému** (převzato se svolením autorů ze serveru <http://adserver.sante.univ-nantes.fr/>)



### **Exkoriace**

V důsledku intenzivního svědění je pacient nucen se škrábat. Takto vznikají exkoriace, které mohou být vstupní branou infekce a vzniku sekundární impetiginizace ekzému (viz obrázek 6).

**Obrázek 6 - Exkoriace jako projev atopického ekzému** (převzato se svolením autorů ze serveru <http://adserver.sante.univ-nantes.fr/>)





## Lichenifikace

V místech dlouhodobé iritace, zánětu a škrábání vzniká ztlustění a zhrubění kůže spojené se zvýrazněním kožního reliéfu, výraznou suchostí, event.hyperpigmentací - tzv.lichenifikace (viz obrázek 7).

**Obrázek 7 - Lichenifikace jako projev atopického ekzému** (převzato se svolením autorů ze serveru <http://adserver.sante.univ-nantes.fr/>)



## 1.3 Epidemiologie atopického ekzému

Epidemiologie je obor, zabývající se zkoumáním činitelů, které určují a ovlivňují četnost a rozšíření choroby v populaci. Při popisu epidemiologie AE musíme čelit několika specifickým problémům:

- AE se sice vyskytuje relativně často, ale jeho výskyt se v průběhu života mění: typický je nástup příznaků v kojeneckém věku a jejich následný ústup, nebo alespoň oslabení, v průběhu prvních let života u většiny případů; pouze část případů AE přechází do dospělosti.
- Různorodost morfologie a intenzity projevů AE může činit problémy při jeho diagnostice AE; lehčí případy mohou být rodiči, ale i lékařem opomenuty.
- Chronický průběh s různě dlouhými obdobími klidu, střídanými fázemi zhoršení; to významně snižuje přínos hodnocení výskytu AE v určitém časovém okamžiku.

- Průběh AE mívá často sezónní charakter; většina případů onemocnění se zlepšuje v létě, zatímco v přechodových obdobích (podzim, předjaří) se často zhoršuje, výskyt projevů tudíž výrazně kolísá v závislosti na ročním období.
- Budeme-li se snažit zjistit globální epidemiologické parametry AE, narazíme - kromě výše uvedených problémů - ještě na značnou rozmanitost studií, pokud jde o jejich metodologii, sběr dat, hodnocenou populaci a dokonce i diagnostická kritéria AE.

Jak jsem již naznačil, problém je už v tom, jak určit, kdo má nebo měl AE. Nejčastěji se užívají dotazníky vyplněné rodiči nebo samotnými pacienty, nicméně spolehlivost takových údajů může být nejistá. Proto dává část badatelů přednost informacím získaným přímo od lékařů, ovšem i zde může být výsledek nezanedbatelně ovlivněn erudicí hodnotícího lékaře. Další poměrně často využívanou možností jsou dotazníky zaměřující se na výskyt typických příznaků, např. flexurálního erytému.

Mezi základní epidemiologické ukazatele patří **prevalence**, tedy podíl počtu jedinců s onemocněním a počtu všech jedinců ve sledované populaci. Vztahujeme ji k určitému časovému okamžiku a vyjadřujeme nejčastěji v procentech. Vzhledem k výše uvedeným skutečnostem bude v případě AE spíše než prevalenci vztaženou k určitému časovému okamžiku (*point prevalence*) vhodnější použít prevalenci za delší období. Nejčastěji se užívá tzv. **celoživotní (lifetime) prevalence**, tedy výskyt příznaků onemocnění kdykoli v dosavadním období života, které uběhlo až do okamžiku hodnocení. Často se užívá i prevalence vztažená ke kratšímu časovému úseku, např. **12-month prevalence (roční prevalence)**, tedy výskyt onemocnění kdykoli v posledním roce.

Podobně jako u řady dalších onemocnění se četnost výskytu AE v různých zemích liší. Podle výsledků první fáze rozsáhlé mezinárodní studie ISAAC (*The International Study of Asthma and Allergies in Childhood*) z let 1994-1995, která pomocí dotazníků (viz tabulky 3 a 4) studovala více než 700 000 školních dětí dvou věkových skupin (6-7 let a 13-14 let), byla roční prevalence AE nejnižší v Albánii a Číně a nejvyšší ve vyspělých zemích západní a severní Evropy, severní Ameriky a Austrálie, ale také v Nigérii (rozpětí od méně než 1% po více než 16%) (viz graf 1) [6].

**Tabulka 3 - Dotazník o výskytu příznaků atopického ekzému z I.fáze studie ISAAC (6-7-leté děti) (upraveno podle [6])**

1. Vyskytla se někdy u Vašeho dítěte svědivá vyrážka, která se objevovala a mizela po dobu 6 měsíců?

Ano [ ] Ne [ ]

POKUD JSTE ODPOVĚDĚLI "Ne", PŘEJDĚTE PROSÍM K OTÁZCE 7.

2. Mělo Vaše dítě tuto svědivou vyrážku někdy v posledních 12 měsících? Ano [ ] Ne [ ]

POKUD JSTE ODPOVĚDĚLI "Ne", PŘEJDĚTE PROSÍM K OTÁZCE 7.

3. Objevila se výše zmíněná vyrážka někdy v těchto místech: záhyby kůže v loktech, pod koleny, nad klouby, pod hýžděmi nebo kolem krku, uší či očí? Ano [ ] Ne [ ]

4. V jakém věku dítěte se tato vyrážka poprvé objevila? Ve věku mladším než 2 roky [ ]

Ve 2–4 letech věku [ ] V 5 letech věku nebo později [ ]

5. Vymizela v průběhu posledních 12 měsíců tato vyrážka někdy zcela?

Ano [ ] Ne [ ]

6. Jak často (v průměru) nemohlo v posledních 12 měsících kvůli této svědivé vyrážce Vaše dítě usnout? Nikdy v posledních 12 měsících [ ] Méně než jednu noc týdně [ ] Jednu nebo více nocí týdně [ ]

7. Mělo Vaše dítě někdy ekzém? Ano [ ] Ne [ ]

**Tabulka 4 - Dotazník o výskytu příznaků atopického ekzému z I.fáze studie ISAAC (13-14-leté děti) (upraveno podle [6])**

1. Vyskytla se u Vás někdy svědivá vyrážka, která se objevovala a mizela po dobu 6 měsíců?

Ano [ ] Ne [ ]

POKUD JSTE ODPOVĚDĚLI "Ne", PŘEJDĚTE PROSÍM K OTÁZCE 6.

2. Měl/a jste tuto svědivou vyrážku někdy v posledních 12 měsících? Ano [ ] Ne [ ]

POKUD JSTE ODPOVĚDĚLI "Ne", PŘEJDĚTE PROSÍM K OTÁZCE 6.

3. Objevila se výše zmíněná vyrážka někdy v těchto místech: záhyby kůže v loktech, pod koleny, nad klouby, pod hýžděmi nebo kolem krku, uší či očí? Ano [ ] Ne [ ]

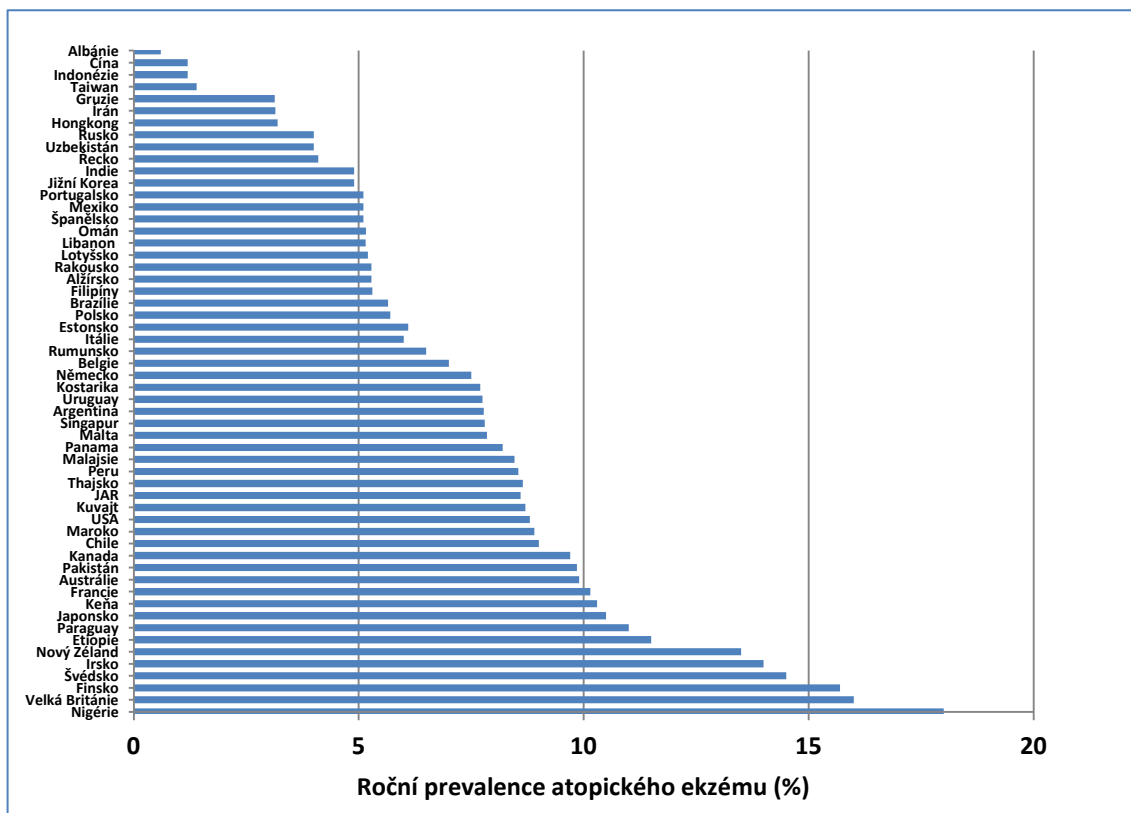
4. Vymizela v průběhu posledních 12 měsíců tato vyrážka někdy zcela?

Ano [ ] Ne [ ]

5. Jak často jste (v průměru) nemohl/a v posledních 12 měsících kvůli této svědivé vyrážce usnout? Nikdy v posledních 12 měsících [ ] Méně než jednu noc týdně [ ] Jednu nebo více nocí týdně [ ]

6. Měl/a jste někdy ekzém? Ano [ ] Ne [ ]

**Graf 1 - Roční prevalence atopického ekzému podle 1. fáze mezinárodní studie ISAAC (upraveno podle [6])**



Také v novějších pracích je patrná podobná variabilita, pokud jde o celoživotní prevalenci AE. Srovnatelnost dat je nicméně problematictější než v případě studie ISAAC, protože studované populace a metodika sběru dat se mezi jednotlivými studiemi liší.

Údaje z Afriky, zjištěné v prvním desetiletí 21. století pomocí dotazníků, ukazují nečekaně vysokou celoživotní prevalenci AE u 13-14-letých dětí v Maroku (20.9%) [7], Jihoafrické republice (16.5%) [8] nebo Keni (19.8%) [9].

Ve stejném období byla v Asii pomocí dotazníků zjištěna nízká celoživotní prevalence AE u 13-14-letých dětí v Číně (3%) [10], u 6-13-letých dětí v Turecku (6.5%) [11] a u 12-15-letých dětí v Koreji (9.3%) [12]. Vyšší byla celoživotní prevalence AE u dětí v Singapuru (6-7-letí) (12.5%) [13] nebo Japonsku (7-15-letí) (13.6%) [14].

Z r. 2000 pochází údaj o celoživotní prevalenci AE u 5-9-letých dětí v Oregonu (17.2%) [15], z r.1999 z Brazílie o celoživotní prevalenci u 6-7-letých dětí (15%) [16]. V obou případech byla použita dotazníková metoda.

Tradičně nejvíce údajů o prevalenci AE pochází, podobně jako u jiných atopických onemocnění, z Evropy. V 90. letech minulého století byla u školních dětí v Dánsku zjištěna incidence AE 19.6%, přičemž diagnóza byla stanovena lékařem [17]. Zajímavé jsou údaje srovnávací dotazníkové studie 5-6-letých dětí z Německa z 90. let 20. století: zatímco v západní polovině Německa byla sice prevalence AE vysoká (12.5%), ale v průběhu 6 let po sjednocení země zůstala stabilní (12.8%), ve východní polovině Německa došlo během této doby k jejímu výraznému nárůstu – z 9.6% na 23.4%! [18]. Při hledání příčin zmíněného nárůstu se uvažovalo o změnách životního stylu (tzv. westernizace), jako je třeba častější koupání, užívání kosmetických a dezinfekčních prostředků a další.

Nejvyšší celoživotní prevalence AE byla zjištěna dotazníkovou metodou na počátku 21. století u školních dětí ve skandinávských zemích (26.5%) [19] a Velké Británii (21%) [20], nižší pak v Itálii (17%) [21]. Lékařem diagnostikovaná celoživotní prevalence AE dosahovala v Rakousku 11% [22] a v Německu 13.6% [23]. V souladu s předchozími údaji byla celoživotní prevalence AE (rodiči hlášená, lékařem diagnostikovaná) nižší v postkomunistickém Polsku (8.1%) [24].

A konečně: nejvyšší celoživotní prevalence AE byla na začátku století zjištěna u australských školáků (6-7 let) (32.3%) [25].

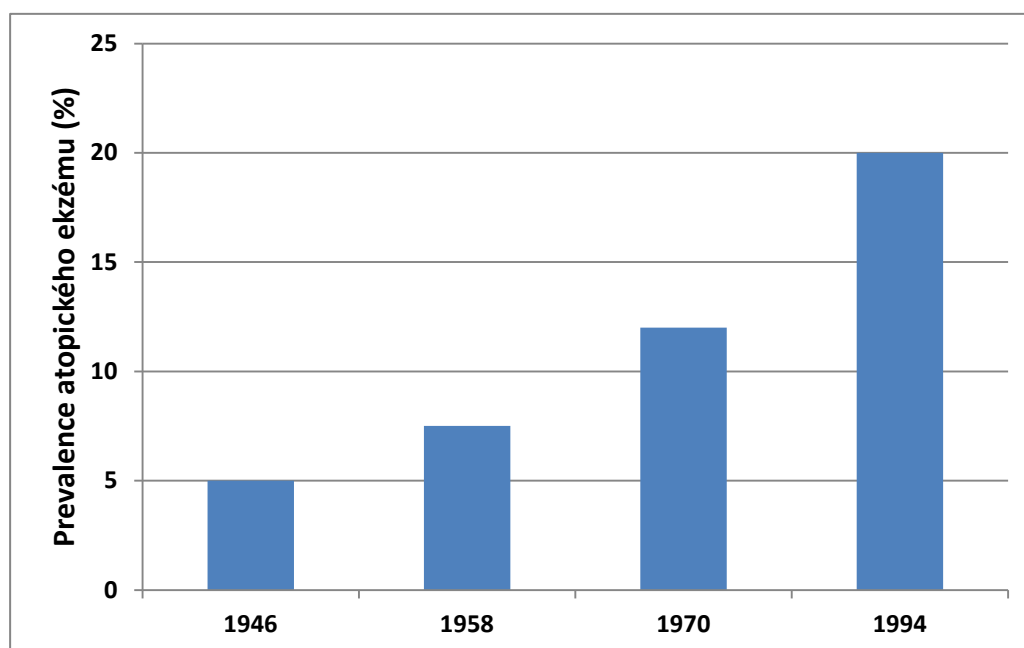
Zajímavé jsou studie zkoumající rozdíly v prevalenci AE ve stejné populaci žijící v různém prostředí. Děti pocházející z pacifických ostrovů Tokelau, jež se přestěhovaly na Nový Zéland, měly vyšší prevalenci AE než děti, které zůstaly na Tokelau [26]. Podobně děti asijských imigrantů, které se narodily v Austrálii, měly vyšší výskyt AE než děti imigrantů, které se narodily v Asii a teprve před nedávnem se přestěhovaly do Austrálie [27]. Tyto studie, stejně jako výše zmíněná německá studie v Německu [18], ukazují na významný vliv prostředí a životního stylu na prevalenci AE.

Vzhledem k nižšímu výskytu AE v dospělosti jsou epidemiologická data u této věkové skupiny chudší. V nejnovější americké studii byla u velkého souboru dospělých zjištěna celoživotní prevalence AE 10.2% [28]. V nové švédské studii velkého souboru dospělých byla dotazníkovou metodou zjištěna celoživotní prevalence AE 13.7%, ovšem pouze u 20.7% z těch, kdo měli v dětství AE, se v posledních 12 měsících objevily příznaky ekzému [29]. Při zkoumání zdravotních záznamů z místního zdravotního střediska v Norsku mělo příznaky AE 13% klientů ve věku do 20 let, ale pouhých 2% nad 20 let [30]. Podle britské studie měla AE ve věkové kategorii 16-40 let 2% pacientů, zatímco v kategorii nad 40 let pouhých 0.2% [31]. AE se tedy vyskytuje především v dětství a se stoupajícím věkem jeho prevalence klesá.

Většinu případů AE lze klasifikovat jako lehké (65-90%), pouze malá část (1-2%) z nich je hodnocena jako těžké [32]. Nebyly zjištěny jasné rozdíly výskytu AE mezi pohlavími.

Srovnání se staršími epidemiologickými daty je obtížné vzhledem ke zmíněným pokrokům v diagnostice AE, nicméně je patrné, že - podobně jako u ostatních atopických onemocnění - prevalence AE v posledních 50 letech narostla (viz graf 2) [33].

**Graf 2 - Vývoj prevalence atopického ekzému v posledních desetiletích 20. století (upraveno podle [33])**



## 1.4 Epidemiologie dalších atopických onemocnění

Epidemiologie atopických onemocnění v dětské populaci byla zkoumána v rámci studie ISAAC v letech 1994-2012 v téměř stovce zemí celého světa. Pomocí specializovaného dotazníku byl sledován výskyt nejčastějších atopických onemocnění (průduškového astmatu, alergické rýmy, atopického ekzému) u dětí dvou věkových skupin (6-7 a 13-14 let), trendy vývoje a faktory související se vznikem těchto onemocnění [6].

Podle výsledků třetí fáze studie postihuje alergická rinokonjunktivitida průměrně 8.5% dětí ve věku 6-7 let a 14.6% dětí ve věku 13-14 let. Ve stejném vzorku dětí činila průměrná prevalence současného astmatu ve věku 6-7 let 11.7% a ve věku 13-14 let 14.1%. Průměrná prevalence atopického ekzému ve věku 6-7 let byla 7.9% a ve věku 13-14 let 7.3%. Tyto výsledky pocházejí

z reprezentativního vzorku populace 1 059 053 dětí z 98 zemí celého světa [34-36].

Z třetí fáze ISAAC pocházejí údaje o rozpětí roční prevalence záchvatů hvízdání ve světě. Ta kolísala ve věku 6-7 let od 2.4% v Jodhpuru v Indii po 37.6% v Kostarice, ve věku 13-14 let od 0.8% v Tibetu po 32.6% ve Wellingtonu (Nový Zéland). V tomto případě tvořilo studovaný soubor 388 811 dětí ve věku 6-7 let a 798 685 dětí ve věku 13-14 let z 97 zemí. Srovnání fází I a III studie ISAAC prokázalo rovněž nárůst prevalence atopických onemocnění ve většině center [37].

Prevalenci kopřivky mapovala pomocí dotazníku rozsáhlá německá studie více než čtyř tisíc obyvatel Berlína [38]. Zjištěná celoživotní prevalence všech typů kopřivky činila 8.8% (95% CI 7.9-9.7%), celoživotní prevalence chronické kopřivky 1.8% (95% CI 1.4-2.3%) a roční prevalence kopřivky 0.8% (95% CI 0.6-1.1%). Pacienti, kteří v dotazníku potvrdili výskyt kopřivky, byli pozváni k provedení kožních prick testů. Alespoň jeden z testů byl pozitivní u 39.1% testovaných, nicméně tyto pozitivity měly vztah k jiným komorbiditám (alergická rinokonjunktivitida, orální alergický syndrom), a nikoli ke kopřivce, což bylo v případě potravin potvrzeno dvojitě zaslepenými placebem kontrolovanými provokačními testy. Tato skutečnost samozřejmě obecně nevylučuje alergickou etiologii onemocnění, avšak dobře odráží rozdíl mezi rozšířenými představami o původu onemocnění a skutečností.

Incidence anafylaxe v dospělé populaci se odhaduje na 30/100 000 [39]. Roční incidence anafylaxi v dětské populaci je podle některých názorů stejná jako u dospělých [40,41], zatímco jiní ji odhadují na 0.19/100 000 [42]. Prevalence život ohrožujících anafylaxi se odhaduje na 5-15/100 000 [43].

Vývoj atopických onemocnění odrážejí nejlépe asi výsledky prospektivní studie kohorty 1 749 dánských dětí sledovaných od narození [44]. Těm z nich, kterým byla v průběhu života diagnostikována alergie na bílkovinu kravského mléka, byla nasazena bezmléčná dieta a v dalším průběhu byly u nich opakovaně prováděny provokace kravským mlékem, aby se odhalilo případné vymizení alergie. Z kohorty bylo dále vybráno 276 dětí, u nichž byl sledován výskyt atopických onemocnění pomocí dotazníku, fyzikálního vyšetření a navíc byly opakovaně prováděny kožní prick testy a vyšetření specifických IgE pro zjištění senzibilizace na nejčastější inhalační alergeny. V časném období vývoje byla nejvyšší prevalence obstruktivních bronchitid (20%) a atopického ekzému (14%), která pak postupně klesala a namísto toho narostla ve věku 10 let prevalence průduškového astmatu (9%) a alergické rinokonjunktivitidy (9%). Roční prevalence alergie na bílkovinu



kravského mléka činila 2.2%, nicméně tato alergie vykazovala tendenci k ústupu: do 1 roku věku vymizela u 56% nemocných, do 2 let věku u 77% z nich, do 3 let u 87%, do 5 let u 92% a do 15 let u plných 97% dětí.

## 1.5 Etiologie a patofyziologie atopického ekzému

Na rozvoji projevů AE se podílí celá řada faktorů. V následujícím textu uvádím nejdůležitější z nich.

### 1.5.1 Genetické faktory

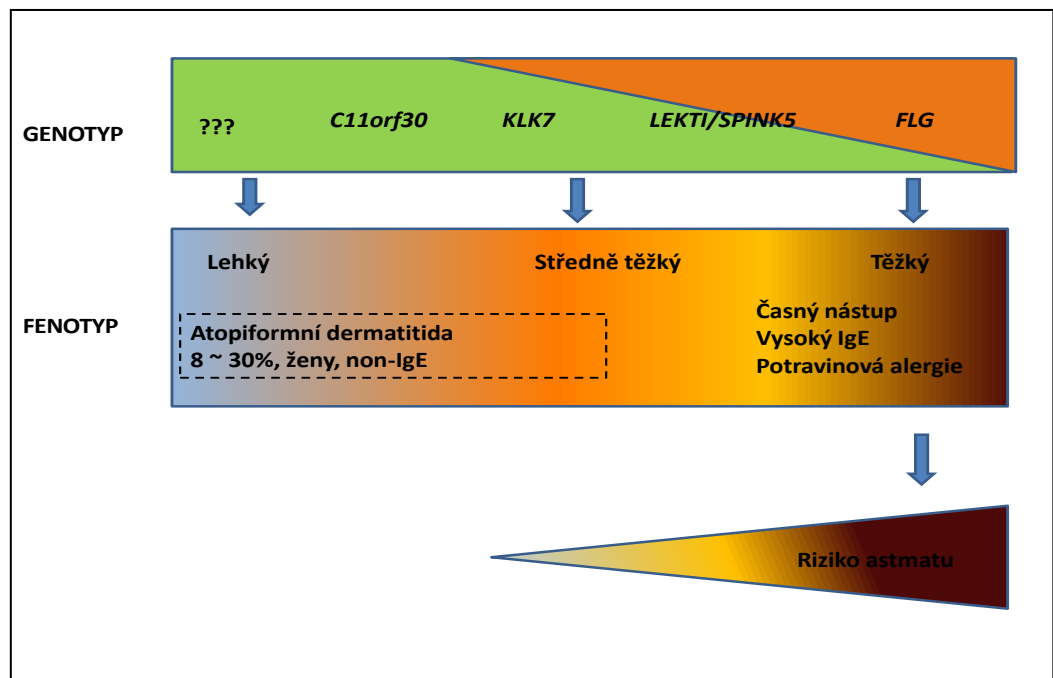
AE má stejně jako ostatní atopická onemocnění genetický podklad. Z rodinných studií vyplývá, že u 51% dětí s pozitivní rodinnou anamnézou atopie se do 5 let věku vyvine atopické onemocnění ve srovnání s 19% dětí s negativní rodinnou anamnézou atopie [45]. Pokud mají oba rodiče AE, zvyšuje se prevalence ekzému u jejich potomka na 81% [46]. Genetické základy atopických onemocnění prokázaly také studie dvojčat s vyšší konkordancí u monozygotních dvojčat (0.77) v porovnání s dizygotickými (0.15) [47]. AE je v současnosti považován za geneticky komplexní onemocnění, které vzniká na podkladě interakcí mezi určitými geny navzájem, ale také mezi geny a zevním prostředím. Ke vzniku AE mohou přispívat geneticky podmíněné poruchy kožní bariéry a různé defekty nespecifického imunitního systému.

K narušení funkce epidermální bariéry může vést např. mutace genu pro filaggrin (*FLG*) v chromozomální oblasti 1q21. Porucha funkce této pro hydrataci pokožky klíčové bílkoviny vede k narušení formování *stratum corneum* a transepidermálním ztrátám vody [48]. Mutace *FLG*, vedoucí k poruše funkce filaggrinu, je spojena např. s vyšším výskytem senzibilizací na různé alergeny. Ty totiž snáze pronikají narušenou pokožkou a dostávají se do kontaktu s imunitním systémem, který proti nim vytváří alergické reakce [49]. U pacientů se změnami *FLG* je zřetelný časnější nástup AE a také častější výskyt těžších forem AE a alergického astmatu. S narušením funkce kožní bariéry může být spojený i polymorfismus genu *SPINK5*, kódujícího inhibitor serinové proteázy LEKTI (*Lymphoepithelial Kazal-Type-related Inhibitor*), který hraje klíčovou roli v regulaci kalikreinu 7 (KLK7). Jeho dysregulace vede ke ztrátě soudržnosti a integrity *stratum corneum* a v důsledku toho k narušení bariérové funkce kůže. [50]. Varianty genu C11orf30 jsou rovněž spojeny s AE [51] (viz obrázek 8).

Náchylnost jedince ke vzniku AE mohou ovlivňovat i odchylky v genech kódujících některé složky nespecifického imunitního systému. Prokázala se

souvislost mezi polymorfismem genu pro Toll-like receptor 2 (*TLR2*) a těžkými formami AE spojenou s recidivujícími bakteriálními infekcemi [53]. Silná asociace byla prokázána mezi polymorfismem genu *NOD1*, který kóduje cytosolový senzor pro obranu proti bakteriím, a AE [54]. Má se za to, že nižší produkce antimikrobiálních peptidů, jako jsou  $\beta$ -defenziny a katelicidin epiteliálními buňkami a keratinocyty je spojena s vyšší náchylností ke vzniku AE [55] a bakteriálních a virových onemocnění u kůže [56]. Na snížení sekrece těchto peptidů mají negativní vliv zjm. interleukin-10 (IL-10) a Th2-cytokiny [57].

**Obrázek 8 - Vztahy genotypu a fenotypu u atopického ekzému (upraveno podle [52])**



Předpokládá se, že vliv na patogenezi AE mohou mít i některé geny ovlivňující funkce specifického imunitního systému. Bylo prokázáno, že s některými formami AE se pojí genetické odchylky chromozómu 5q31-33 obsahující geny Th2-cytokinů jako interleukiny IL-3, IL-4, IL-5, IL-13 a faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů (*Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor*, GM-CSF) [58,59]. Další studie prokázaly spojitost AE s odchylkami genové oblasti kódující IL-13, funkčními mutacemi oblasti promotéru pro chemokin RANTES (*Regulated on Activation, Normal T cell Expressed and Secreted* = chemokin označovaný jinak jako *CCL5*, který působí jako chemotaktický faktor pro T lymfocyty, eozinofily a bazofily a hraje významnou roli při povolávání leukocytů do místa zánětu – pozn. autora)

(17q11) a *gain-of-function* polymorfizmy (*zvyšující funkci výsledného proteinu – pozn. autora*) genu *IL4RA* (16q12) [58-60]. Polymorfizmy v oblasti *IL4RA* se navíc vyskytují u typu AE s nízkými hladinami IgE a bez senzibilizace [60]. Polymorfizmus genu pro IL-18 vede k dysbalanci Th1/Th2 a převaze Th2 odpovědi a bývá spojen s AE [61].

## 1.5.2 Imunologické faktory

Patogeneze AE se účastní různé složky imunitního systému, z nichž některé náleží k nespecifickému, a jiné ke specifickému imunitnímu systému.

### 1.5.2.1 Nespecifický imunitní systém

#### *Antimikrobiální peptidy*

Antimikrobiální peptidy jako  $\beta$ -defenziny nebo katelicidiny se účastní obrany povrchů, tedy i kůže. Jsou účinné proti celé řadě mikroorganismů, jako jsou Gram-pozitivních a Gram-negativních bakterií nebo plísní. Prokázalo se, že pacienti s AE secernují tyto látky v menším množství, což je důvodem jejich vyšší náchylnosti k mikrobiálním infekcím [62,63].

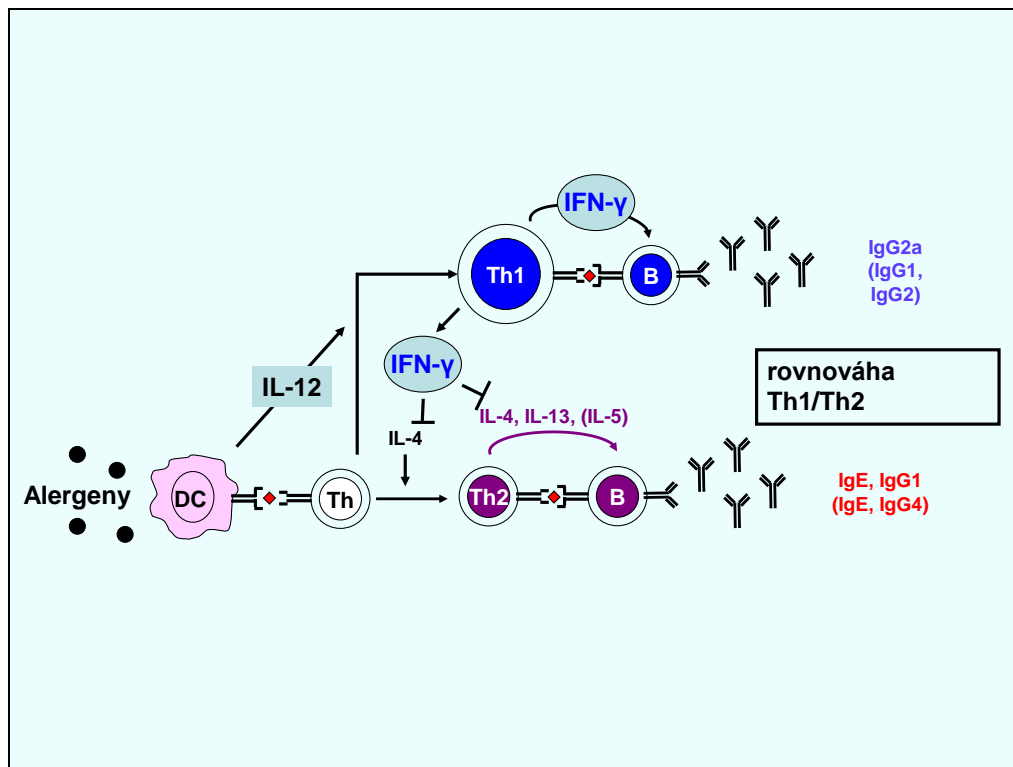
### 1.5.2.2 Specifický imunitní systém

#### *Th2 vs. Th1*

Naivní pomocné T lymfocyty (Th0) se mohou v závislosti na genetické výbavě jedince, typu antigen prezentujících buněk, druhu a síle kostimulačních signálů a charakteru antigenního stimulu vyvíjet v různé fenotypy. Nejdůležitější z nich jsou Th1 a Th2, charakterizované produkcí určitého spektra cytokinů a preferencí určitého typu imunitních odpovědí. Pro Th1 fenotyp je charakteristická produkce cytokinů jako interleukin-12 (IL-12) nebo interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) a převaha odpovědi zprostředkovaných fagocytyujícími buňkami, které je zaměřeny hlavně proti bakteriím, plísním nebo některým parazitům. Th1 lymfocyty hrají rovněž důležitou roli v reakcích pozdní, buňkami zprostředkované přecitlivělosti (IV. typu). Th2 fenotyp charakterizuje především sekrece interleukinů IL-4 nebo IL-5 a preference protilátkových odpovědí s produkcí izotypu IgE. Th2-cytokiny sehrávají významnou roli v imunitních odpovědích u helmintóz a v imunopatogenezi alergických reakcí I. typu. Th2-cytokiny indukují izotypový přesmyk B lymfocytů k syntéze IgE a IgG1 protilátek a

rovněž podporují růst, diferenciaci a vyplavení žírných buněk a eozinofilů z kostní dřeně. Tyto dva fenotypy se navzájem potlačují (viz obrázek 9) [5].

**Obrázek 9 - Rovnováha Th1 a Th2 reakcí**



U atopických onemocnění převažuje Th2 fenotyp odpovědi, což vede ke zvýšené tvorbě IgE protilátek. Produkce Th2 cytokinů, především IL-4, IL-5 a IL-13, byla prokázána v akutní fázi AE v kůži s ekzematózními lézemi, ale i bez nich. IL-4 a IL-13 se podílejí významně na indukci tkáňového zánětu a zvyšují expresi adhezivních molekul na endoteliích [64]. Zdá se, že IL-5 zvyšuje přežití eozinofilů. Právě vysoká eozinofilie a zvýšené hladiny eozinofilního kationického proteinu (ECP) jsou charakteristické pro akutní fázi AE [65,66].

V chronické fázi AE ovšem význam Th2 odpovědi klesá, naopak převažovat začínají Th1 reakce. V chronické fázi AE byl tak zjištěn nárůst produkce cytokinů jako IFN- $\gamma$  a IL-12, a také IL-5 a GM-CSF [67]. Na udržení chronické fáze AE se podílejí IL-12 a IL-18 a cytokiny působící remodelaci tkáně jako IL-11, IL-17 nebo transformující růstový faktor-beta (TGF- $\beta$ 1) [68]. K infiltraci makrofágy, eozinofily a T lymfocyty v akutní i chronické fázi přispívají chemokiny jako MCP-4 (*Monocyte Chemotactic Protein-4* = chemotaktický protein pro monocyty), RANTES nebo eotaxin [69,70]. Pro AE je tedy charakteristická bifázická imunitní odpověď s úvodní Th2 fází, zatímco chronické fázi dominuje Th1 odpověď. To

prokázaly studie indukce ekzematózních lézí při epikutánních testech pomocí alergenů (*Atopy Patch Test*, APT = *atopické epikutánní testy*), kde prvních 24 hodin od začátku expozice převažuje produkce IL-4, kdežto mezi 48-72 hodinami již exprese IFN- $\gamma$  [71].

K diferenciaci Th0 v Th2 lymfocyty přispívá cytokin brzlíkový stromální lymfopoetin (*Thymic Stromal Lymphopoietin*, TSLP), exprimovaný na epitelích včetně keratinocytů, který přispívá k migraci dendritických buněk do dermis u AE [72]. Jeho exprese je indukována produkcí IL-7. TSLP-aktivované kožní dendritické buňky působí na pomocné T lymfocyty tak, že produkují proalergické cytokiny IL-4, IL-5, IL-13 a faktor nekrotizující nádory (*Tumor-Necrosis Factor-alpha*, TNF- $\alpha$ ).

Aktivitu pomocných T lymfocytů regulují za normálních okolností regulační T lymfocyty (Treg), exprimující znaky CD4, CD25 nebo jaderný faktor Foxp3. Bylo dokázáno, že mutace Foxp3 vedou k nadprodukcii IgE protilátek, vzniku potravinové alergie a AE. Funkci Treg navíc podrývají stafylokokové superantigeny, čímž mohou podporovat kožní záněť [73].

### ***Úloha antigen prezentujících buněk***

Dimerická forma vysokoafinitního receptoru pro IgE (Fc $\epsilon$ RI) je exprimována na povrchu antigen prezentujících buněk (*Antigen Presenting Cells*, APC), zejména dendritických buněk (*Dendritic Cells*, DC) [74,75]. Expresi těchto receptorů určují a řídí TGF- $\beta$  [76], přítomnost či nepřítomnost IgE protilátek [77] nebo oxidační stav jejich mikroprostředí [78]. Exprese Fc $\epsilon$ RI na DC se zvyšuje spolu s nárůstem hladiny sérového IgE nebo po expozici alergenu [79]. V ekzematózních lézích byly nalezeny myeloidní DC (mDC) a plazmocytoidní DC (pDC). Jedním ze subtypů mDC, na nichž je Fc $\epsilon$ RI exprimován, jsou Langerhansovy buňky epidermis, které převládají v kůži pacientů s AE v klidovém stadiu ekzému. Naopak tzv. zánětlivé epidermální dendritické buňky (*Inflammatory Dendritic Epidermal Cells*, IDEC) se do kůže dostávají v akutní fázi AE a perzistují zde i v jeho chronické fázi [80]. Langerhansovy buňky s největší pravděpodobností vychytávají alergeny ze svého okolí právě prostřednictvím Fc $\epsilon$ RI, poté migrují do lymfatických uzlin a indukují zde diferenciaci pomocných T lymfocytů do Th2-subtypu [81]. Ukázalo se, že IDEC v odpovědi na mikrobiální složky nebo alergeny *in vitro* zesilují alergické zánětlivé reakce, což je provázeno uvolněním celé řady prozánětlivých cytokinů a chemokinů. IDEC navíc stimulují T lymfocyty a nejspíš se podílejí na přechodu z akutní do chronické fáze ekzému [82]. Plazmocytoidní dendritické buňky (pDC) jsou dalším druhem DC

exprimujícím FcεRI [83]. V epidermis pacientů s AE je jejich počet snížený v porovnání s kůží pacientů trpících psoriázou nebo kontaktním ekzémem [84]. Prokázalo se totiž, že agregace FcεRI na pDC po navázání alergenu vede k uvolnění IL-10 a *in vitro* zvyšuje IL-10 zprostředkovanou apoptózu pDC. Preaktivace pDC při provokaci alergenem *in vitro* významně snižuje schopnost pDC produkovat interferon-alfa (IFN-α) a interferon-beta (IFN-β) v odpovědi na následnou stimulaci virovou DNA [83]. Má se za to, že to je důvodem větší náchylnosti pacientů s AE k virovým infekcím.

### ***Autoreaktivita zprostředkovaná IgE protilátkami***

U AE dochází k opakované expozici alergenům z prostředí a aktivaci imunitního systému. Díky tomu může vznikat IgE-zprostředkovaná reaktivita proti autoantigenům, které vykazují strukturní homologii s některými alergeny z prostředí. Jako příklad může sloužit IgE-zprostředkovaná reaktivita proti enzymu mangan-superoxid dismutáze (MnSOD) [85]. Prokázalo se, že hladina specifických IgE protilátek proti MnSOD koreluje s aktivitou onemocnění. U senzibilizovaných pacientů bylo možno pomocí MnSOD indukovat ekzematózní reakce zprostředkované T lymfocyty. Předpokládá se, že tato senzibilizace je důsledkem zkřížené reaktivity mezi lidskou MnSOD a MnSOD plísňe *Malassezia sympodialis*, která často kolonizuje kůži pacientů s AE. Jiným autoantigenem, proti němuž se může vytvořit IgE-zprostředkovaná reaktivita, je polypeptid označovaný jako Hom s 2 [86]. *In vitro* studie prokázaly schopnost Hom s 2 indukovat T lymfocytární odpovědi vedoucí k poškození epitelii a keratinocytů. Autoprotilátky IgE proti autoantigenům byly prokázány nejen u dospělých s AE, ale i u dětí trpících stejnou chorobou [87]. Zdá se tedy, že část pacientů s těžším průběhem AE může mít sklony k IgE-zprostředkované autoreaktivitě, která má kořeny již v dětském věku.

### **1.5.2.3 Keratinocyty**

Keratinocyty jsou hlavními buňkami tvořícími epidermis. Ač jde o epitelie, aktivně se podílejí na imunitních reakcích a produkují celou řadu cytokinů a chemokinů. U AE keratinocyty produkují GM-CSF, podporující růst a přežívání APC, a TNF-α, nezbytný pro diferenciaci APC. TNF-α rovněž podporuje expresi chemokinu CCL5, který do místa zánětu přitahuje eozinofily [88]. Jejich přežití potom zvyšuje GM-CSF. Keratinocyty exprimují i již zmíněný TSLP, jenž přitahuje do místa zánětu dendritické buňky [72].

### 1.5.3 Úloha přecitlivělosti

#### 1.5.3.1 IgE-zprostředkované reakce (reakce časné přecitlivělosti, reakce I. typu)

##### *Extrinsická a intrinsická forma atopického ekzému*

Zvýšená tvorba IgE protilátek, spojená s prokázanou IgE-zprostředkovanou senzibilizací na jeden či více alergenů, je považována za jeden z charakteristických rysů AE. Již delší dobu je však známo, že ne všichni pacienti s AE toto kritérium splňují. Na základě toho můžeme rozlišit **extrinsickou (IgE)** formu AE, u níž je přítomna IgE protilátkami zprostředkovaná senzibilizace na různé alergeny a celková hladina IgE protilátek bývá vysoká, a **intrinsickou (non-IgE)** formu AE, u níž nenacházíme u pacienta žádnou IgE zprostředkovanou senzibilizaci ani jiné atopické onemocnění a celkový IgE není zvýšený. Tato forma však může být přechodným stadiem nemoci, jež časem přejde v extrinsickou (IgE) formu. Extrinsická forma je častější a vyskytuje se podle některých údajů asi u 80% pacientů s AE [89]. Jiné práce však udávají prevalenci intrinsické formy AE 40% [90].

Extrinsická forma AE bývá často součástí tzv. **atopického pochodu**. To znamená, že AE může s vývojem dítěte přecházet v jiné formy atopických onemocnění, jako např. respirační alergie. Burks a kol. [91] prokázali, že se u cca 80% malých dětí s AE později vyvine alergická rýma nebo průduškové astma. Dle údajů Oranje [92] dojde u 28% pacientů s AE k rozvoji alergie na inhalační alergeny do 3 let věku a u 80% z nich do puberty. Cantani a kol. [93] zjistili u 54% dětí, sledovaných původně pro AE a alergii na bílkovinu kravského mléka, v 7 letech věku výskyt průduškového astmatu.

##### *IgE-zprostředkované reakce přecitlivělosti (reakce časné přecitlivělosti, reakce I. typu)*

Jak již bylo řečeno, u většiny případů AE bývá častá nadprodukce IgE protilátek spojená s vyšší pohotovostí ke vzniku IgE-zprostředkované reaktivity. Její četnost bývá u extrinsické formy AE vysoká, nicméně klinická relevance ve vztahu k ekzému poněkud problematičtější. Vzniku IgE-zprostředkované reaktivity předchází proces senzibilizace (viz obrázek 12). Alergen proniká do organismu a dostává se do kontaktu s imunitními buňkami. V tomto případě má zásadní vliv kontakt s lymfocyty a antigen prezentujícími buňkami (APC), mezi něž patří zejména makrofágy a dendritické buňky. APC antigen zpracují a prezentují naivním pomocným T

lymfocytům (Th0), které se vyvíjejí ve fenotyp Th2. Th2 lymfocyty produkují určité spektrum cytokinů jako např. interleukiny IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 nebo IL-13. Ty napomáhají vzniku a rozvoji IgE-zprostředkované reaktivity. Velký význam má zjm.IL-4, který indukuje u B lymfocytů přesmyk k tvorbě IgG1 a zvláště IgE protilátek. Vytvořené IgE protilátky jsou uvolněny do oběhu, ale podstatná část se jich prostřednictvím vysokoafinitního receptoru FcεRI naváže na povrch žírných buněk a bazofilů. Tím jsou buňky, které původně nemají antigenní specifitu, neboť náleží k nespecifickému imunitnímu systému, senzibilizovány a jsou pak schopny specificky reagovat na alergen a spustit alergickou reakci.

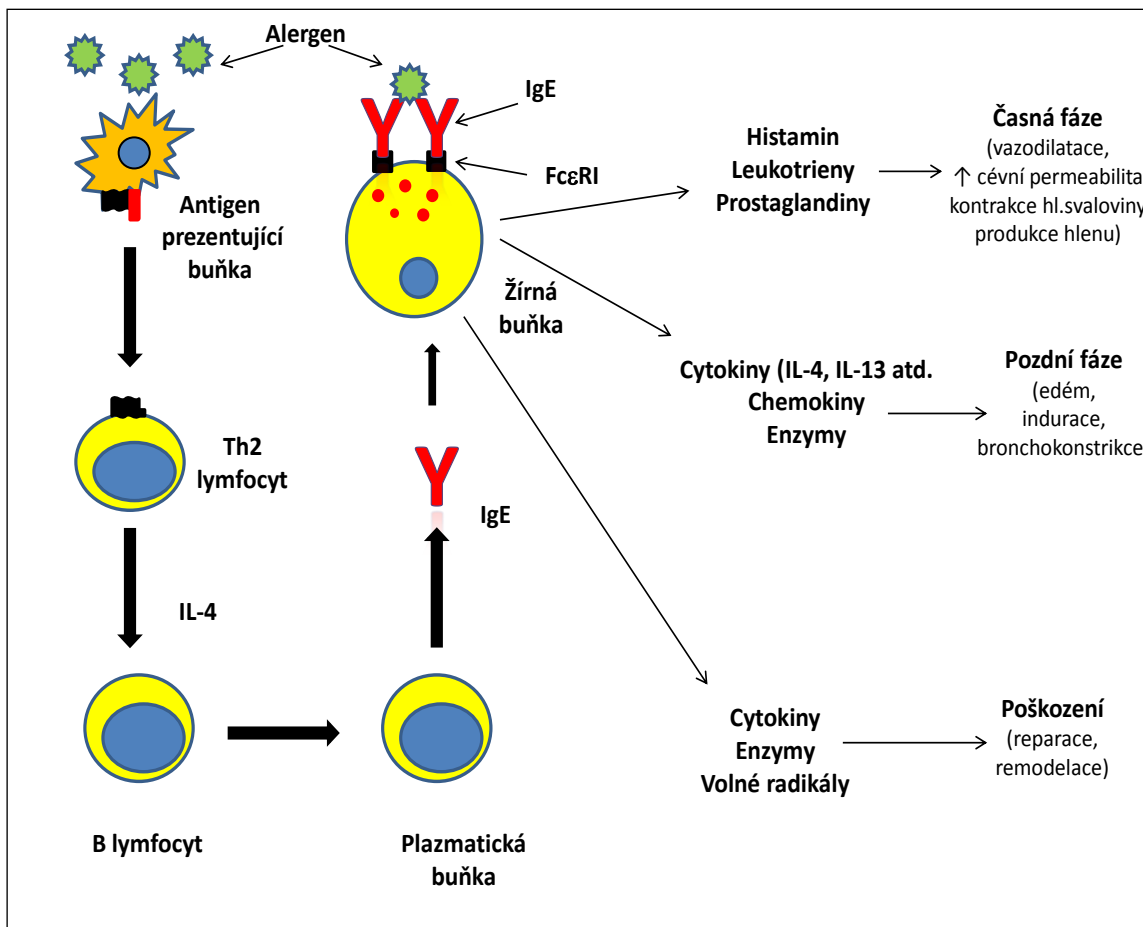
Pokud po senzibilizaci dojde k navázání alergenu a přemostění IgE protilátek navázaných prostřednictvím vysokoafinitního FcεRI na povrchu žírných buněk nebo bazofilů, dojde k aktivaci buňky a intracelulárnímu influxu vápníku. Následně dojde k degranulaci a k aktivaci transkripčních faktorů, čímž se spustí tvorba řady dalších mediátorů a cytokinů. Při degranulaci jsou do okolí buňky uvolněny preformované mediátory přítomné v sekrečních granulích buňky, jako jsou histamin, serinové proteázy nebo proteoglykany. Mezi biologické účinky histaminu patří bronchokonstrikce, sekrece hlenu, vazodilatace, stimulace nervových zakončení, zvýšení cévní permeability a otok tkáně. Serinové proteázy jako tryptáza a chymáza podporují tvorbu kininů a mohou štěpit bronchodilatační peptidy, čímž vyvolávají bronchokonstrikci. Proteázy také možná hrají roli v remodelaci tkání, protože mohou rozrušovat kolagen a stimulovat aktivitu fibroblastů. Proteoglykany jako heparin a chondroitin sulfát stabilizují granulární proteázy.

Aktivace žírné buňky vede rovněž k uvolnění kyseliny arachidonové z plazmatické membrány. Ta je následně metabolizována na prozánětlivé mediátory, jako jsou prostaglandiny nebo leukotrieny. Tyto látky mají silné bronchokonstrikční účinky, podporují sekreci hlenu, vyvolávají vazodilataci, zvýšení cévní permeability a některé z nich působí též chemotakticky na neutrofile a eosinofily.

Za 4 až 8 hodin po časně fázi alergické reakce následuje často fáze pozdní. Leukotrieny, prostaglandiny a cytokiny uvolněné v časně fázi reakce přitahují do místa zánětu a aktivují eozinofily, neutrofile, bazofily, makrofágy a Th2 lymfocyty. Tyto buňky podporují produkci dalších mediátorů a přivolávají do místa reakce další zánětlivé buňky, čímž může zánět přejít do chronicity (viz obrázek 10) [5].



Obrázek 10 - Schéma IgE-zprostředkované reakce



- Diagnostika IgE-zprostředkovaných reakcí

Historicky starší metodu diagnostiky IgE-zprostředkovaných reakcí jsou **kožní prick testy** (*skin prick test*, SPT). Postup vyšetření je následující: na očištěnou pokožku předloktí se nanese v předem stanoveném pořadí nebo na označená místa kapky alergenových extraktů. Potom vyšetřující naruší povrch kůže v místě kapky lancetou s velmi krátkým hrotem a asi po 1 minutě odsaje kapky extraktů tamponem. Po 15 minutách se provede odečet výsledku, přičemž pozitivní reakce se projeví vznikem kopřivkového pupenu o průměru  $\geq 3$  mm a erytému. Do každého testování je nutno zařadit i tzv. pozitivní a negativní kontrolu. Pozitivní kontrolu představuje látka, jež by měla za normálních okolností vždy vyvolat pozitivní kožní reakci (v minulosti histamin, v současnosti se spíše užívá kodein fosfát). Negativní kontrolou bývá obvykle rozpouštědlo, v němž byl rozpuštěn alergen; zde má být reakce naopak negativní. Pozitivita pozitivní kontroly a negativita kontroly negativní jsou nezbytným předpokladem hodnotitelnosti výsledků SPT [5].

Mezi hlavní kontraindikace SPT patří probíhající léčba medikamenty, které potlačují alergické reakce (zjm. perorální antihistaminika - nutno vysadit  $\geq 10$  dnů před vyšetřením), systémově nebo lokálně (v místě testace) aplikované kortikosteroidy ( $\geq 3$  týdny před vyš.), tricyklická antidepresiva ( $\geq 2$  týdny před vyš.), dále akutní horečnaté onemocnění, akutní exacerbace alergického onemocnění, anebo kožní projevy, které by znemožnily odečet výsledku testů.

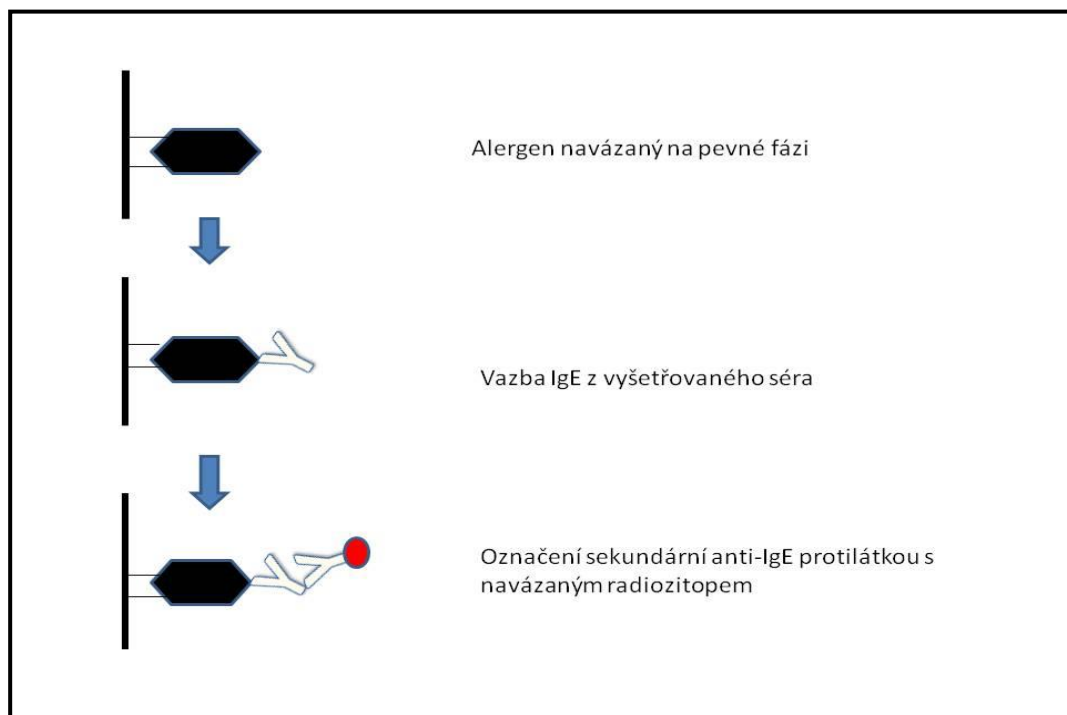
Využitelnost SPT je do značné míry závislá na druhu alergenu. Nejlepší senzitivity a specificity dosahuje toto vyšetření u inhalačních alergenů, jako jsou např. pyly nebo roztoči. U potravinových alergenů přináší dobré výsledky varianta SPT prováděná s nativním alergenem (tzv. *prick-to-prick* testace) u diagnostiky orálního alergického syndromu. U ostatních potravin není často specificita vyšetření tak dobrá a pozitivní výsledek nezdědka odráží spíše klinicky němou senzibilizaci než skutečnou alergii. Pro nejčastější potravinové alergeny byly stanoveny tzv. *decision points*, tedy velikosti pupenu SPT, od nichž je vysoká pravděpodobnost přítomnosti klinicky relevantní alergie. Výhodou potravinové alergie je, že existuje relativně snadno proveditelný, uznávaný a spolehlivý klinický standard, kterým je dvojitě zaslepený placebem kontrolovaný provokační test s potravinami (*Double-Blind Placebo-Controlled Food Challenge*, DBPCFC), kterým je možno klinickou relevancí výsledků ověřit. Ve vztahu k AE je vztah výsledků SPT ke klinice ještě komplikovanější, jak odráží evropská multicentrická studie z r. 2004 [94], kde byla relevance výsledků testů ke skutečnému klinickému významu posuzována pouze podle anamnézy.

Vedle SPT patří mezi hlavní nástroje diagnostiky alergií vyšetření **specifických IgE**. Podobně jako SPT umožňuje vyšetření specifických IgE diagnostikovat reakce přecitlivělosti časného typu, přesněji řečeno semikvantitativně určit sérové hladiny IgE specificky namířených proti určitému alergenu. Na tomto místě je opět nutno připomenout, že alergické reakce nevyvolávají volné IgE v séru, ale ta část IgE protilátek, která je navázaná na žírných buňkách nebo bazofilech. Hladina „volných“ specifických IgE však víceméně odráží množství „vázaných“ specifických IgE a tím i potenciál pro vznik IgE-zprostředkované reakce.

Metoda vyšetřování specifických IgE má v současnosti řadu variant a modifikací, jež v principu vycházejí z původní metodiky z 60. let minulého století, označované jako RAST (*RadioAllergoSorbent Test*) – viz obrázek 11. V něm byl alergen, proti němuž měly být namířeny vyšetřované specifické IgE protilátky, nejprve navázán na pevnou fázi a poté inkubován s vyšetřovaným sérem a v případě přítomnosti specifických IgE se tyto na alergen navázaly. Po následném promytí se přidala anti-IgE protilátka

označená radioaktivním izotopem, jež se navázala na předtím navázané specifické IgE protilátky. Intenzita radioaktivity pak odrážela množství přítomných specifických IgE protilátek.

**Obrázek 11 - Princip RAST vyšetření specifických IgE protilátek.**



Tento postup je v současnosti modifikován především eliminací práce s radioaktivním materiálem, nahrazenou užitím enzymatických systémů (ELISA, chemiluminiscence, fluorescence). Alergen přitom může být v době reakce navázaný na pevnou fázi, anebo reagovat s protilátkou nejprve v kapalně fázi a posléze být chemickou reakcí navázán na fázi pevnou.

Vyšetření specifických IgE představuje rychlou a relativně snadno proveditelnou metodiku nabízenou celou řadou laboratoří. Nicméně je třeba upozornit na několik úskalí. Především pozitivní výsledek velmi často odráží spíše senzibilizaci než skutečnou alergii, tzn. určitou pohotovost imunitního systému reagovat na daný alergen, která se sice projeví pozitivním výsledkem testu, ale nikoli skutečnými klinickými obtížemi po kontaktu s alergenem. V tomto případě je samozřejmě nesmysl doporučovat na základě pozitivního výsledku vyšetření specifických IgE pacientovi dietu s vyřazením dané potraviny. Výsledek vyšetření může ovlivnit celková hladina IgE protilátek v tom smyslu, že při velmi vysokých hodnotách je

vyšší i riziko falešné pozitivivity výsledku. A konečně: korelace mezi vyšší hladiny specifického IgE a tíží reakce je kontroverzní.

Výsledek vyšetření specifických IgE je tedy vždy třeba vidět v kontextu anamnézy a věku pacienta, typu daného alergenu, příznaků alergické choroby a případně dalších souběžných onemocnění. Podobně jako u SPT i zde výsledek má vyšší klinickou relevanci u inhalačních alergenů a respiračních alergóz, zatímco například u alergenů potravinových a některých atopických onemocnění, zejména AE, je relevance podstatně komplikovanější. To opět ukázaly výsledky evropské multicentrické studie [94]. V případě potravinových alergenů se snažili někteří výzkumníci opět odstranit tento nedostatek nalezením *decision points*, tedy hraničních hodnot specifických IgE, od nichž je vysoká pravděpodobnost přítomnosti klinicky relevantní přecitlivělosti. Problémem však je, že u nejčastějších alergenů (bílkovina kravského mléka, vaječný bílek) se tyto hodnoty liší podle věku a pro některé alergeny (pšeničná mouka, sója) je nejvyšší dosažená prediktivní hodnota pozitivního testu (*positive predictive value*, PPV) příliš nízká (viz tabulka 5).

**Tabulka 5 – Decision points a prediktivní hodnoty pozitivního testu (PPV) vyšetření specifických IgE pro některé potravinové alergeny (upraveno podle [95]).**

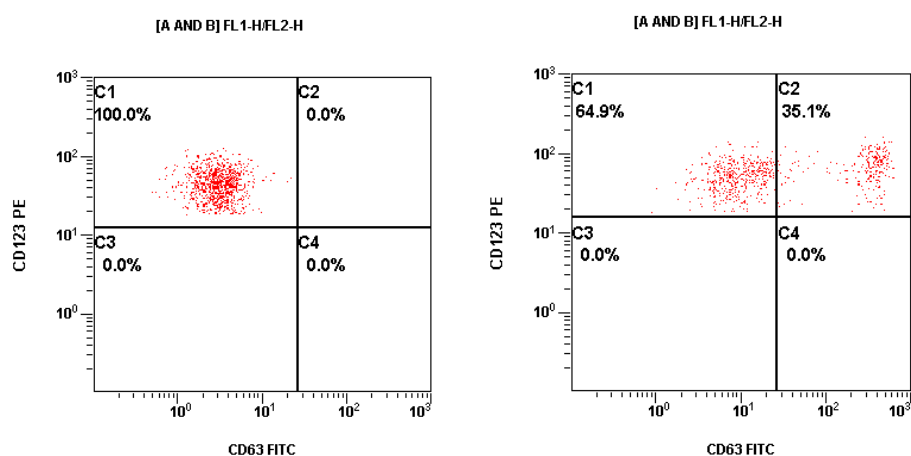
Alergen	Specif.IgE [kU/l]	PPV [%]
vejce	7	98
(děti ≤ 2 let)	2	95
bílk.krav.mléka	15	95
(děti ≤ 2 let)	5	95
arašidy	14	100
ryby	20	100
ořechy	15	95
sója	30	73
pšenice	26	74

*PPV, prediktivní hodnota pozitivního testu*

**Test aktivace bazofilů** (*Basophil Activation Test, BAT*) představuje další metodu diagnostiky časně přecitlivělosti, nicméně je dosud považován spíše za experimentální metodu. Při BAT se vzorek nesrážlivé krve pacienta inkubuje s alergenem a poté se průtokovou cytometrií stanoví exprese aktivačních znaků na povrchu bazofilů (např. CD63 nebo CD203c) (viz obrázek 12). BAT se obvykle využívá při diagnostice časně přecitlivělosti na alergeny blanokřídlého hmyzu, zkouší se i u lékových nebo

potravinových alergií. Hranice pozitivity výsledku se podle literárních údajů u jednotlivých alergenů liší: pro inhalační a potravinové alergenů > 15% aktivovaných bazofilů, u latexu a jedu blanokřídlého hmyzu > 10%, u beta-laktamových antibiotik > 5%. BAT nelze považovat za primární diagnostický test, avšak u výše uvedených alergenů může za určitých okolností vhodně doplnit běžná vyšetření (SPT, specif.IgE) a pomoci při rozhodování ve sporných případech.

**Obrázek 12 - Test aktivace bazofilů: vlevo negativní kontrola (populace bazofilů se nachází v levém horním kvadrantu, jde tedy o buňky CD63 negativní), vpravo pozitivní reakce (část bazofilů se přesunula do pravého horního kvadrantu, jde o buňky CD63 pozitivní).**



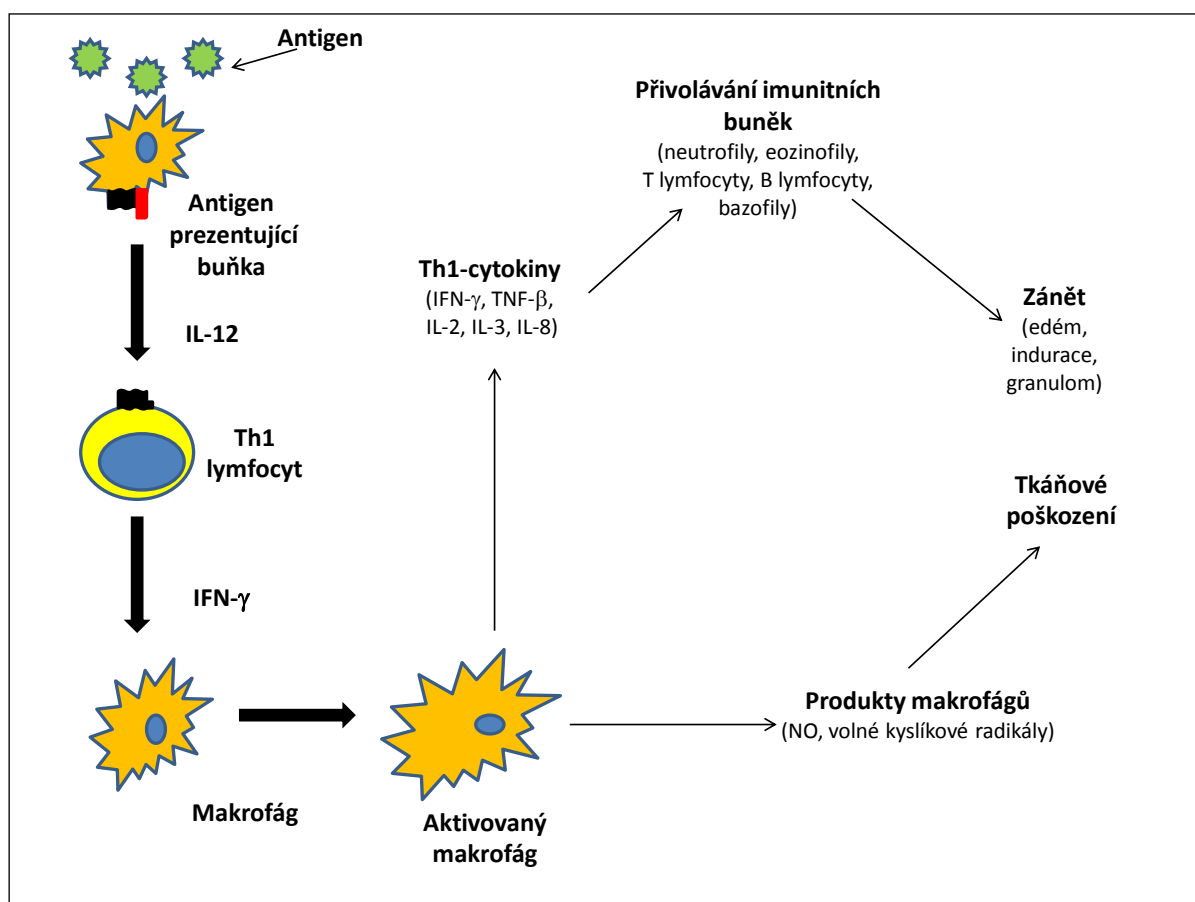
### 1.5.3.2 Specifickými T lymfocyty-prostředkované reakce přecitlivělosti (reakce pozdní přecitlivělosti, reakce IV.typu)

Na rozdíl od IgE zprostředkované alergie je reakce pozdní přecitlivělosti (též označovaná jako reakce IV.typu) zprostředkována antigen-specifickými T-lymfocyty, které fungují stejným způsobem jako při odpovědi na běžný patogen (viz obrázek 13). Antigen, resp. alergen je zpracován antigen prezentujícími buňkami a prezentován na jejich povrchu ve spojení s MHC glykoproteiny II.třídy cirkulujícím Th1 lymfocytům. Je-li jedinec senzibilizován vůči danému antigenu, dojde ke vzniku silné, Th1 lymfocyty zprostředkované zánětlivé reakce. Zpracování antigenu a příliv Th1 lymfocytů trvá 24-48 hodin a je příčinou charakteristického oddálení nástupu zánětlivé reakce. Th1 lymfocyty přivolané do místa výskytu antigenu uvolňují chemokiny, které přitahují do místa zánětu makrofágy a další T lymfocyty. Th1 lymfocyty aktivují makrofágy pomocí buněčného kontaktu a sekrece Th1-cytokinů. Viditelné zduření v místě zánětu vzniká v důsledku přílivu buněk a otoku tkáně vyvolaného prozánětlivými cytokiny,

jež zvyšují cévní permeabilitu. Uvolnění cytokinů s hematopoetickou aktivitou pak podporuje vznik a vyplavování monocytů z kostní dřeně.

Pokud expozice antigenu pokračuje, zánětlivá odpověď pokračuje v důsledku dalšího pohlcování a prezentace antigen senzibilizovanému imunitnímu systému. Tato chronická, buňkami zprostředkovaná forma přecitlivělosti vede ke vzniku tkáňového poškození a lymfocytárních infiltrátů. Hypersenzitivní reakce IV. typu se mohou účastnit také CD8+ Th lymfocyty.

**Obrázek 13 - Schéma pozdní, specifickými T lymfocyty zprostředkované reakce**



- Diagnostika oddálených reakcí přecitlivělosti u atopického ekzému

Reakce oddálené přecitlivělosti se u AE diagnostikují pomocí tzv. atopických epikutánních testů (APT), které jsou variantou klasických epikutánních testů. V případě APT se testace provádí s alergeny, o nichž je známo, že kromě pozdních reakcí mohou vyvolávat i reakce časně přecitlivělosti [96]. Jedná se o inhalační alergeny (např. pyly nebo roztoči)

nebo potravinové alergeny (např. mléko, pšeničná mouka). Provádění APT má vypracovanou vlastní metodiku, nicméně jejich užití je dosud stále spíše experimentální. Provádí se nejčastěji na kůži zad, kam se přilepí speciální hliníkové nebo plastové komůrky obsahující alergen (viz obrázek 14). Pro testaci jsou komerčně dostupné inhalační alergeny rozptýlené ve vazelině, v případě potravinových alergenů se doporučuje testovat čerstvými alergeny, sypké materiály jako mouka smísit s destilovanou vodou, tekuté (např. mléko) se napustí do terčíku z filtračního papíru. Alergen se nechá připevněný 48 hodin, poté se komůrky sejmou a provede se odečet za 48 a 72 hodin. Hodnocení APT je uvedeno v kapitole 3.1.3.1. V porovnání s testy časné přecitlivělosti (SPT, specif.IgE) vykazují APT nižší senzitivitu, na druhé straně jejich specifická bývá vyšší [94].

**Obrázek 14 - Provedení atopických epikutánních testů: vlevo nalepené testy, vpravo pozitivní reakce při odečtu.**



### 1.5.3.3 Histologické nálezy u atopického ekzému

Histologické nálezy u extrinsické (IgE) i intrinsické (non-IgE) formy AE je velmi podobný nálezům u kontaktní dermatitidy. Vykazuje tedy hlavně rysy pozdní T lymfocyty-zprostředkované reakce, nicméně v jistém ohledu i pozdní fáze IgE-zprostředkované reakce. Dokonce i v klinicky klidné kůži pacientů s AE je perivaskulárně patrný řídký T lymfocytární infiltrát, což ukazuje na přítomnost minimálního zánětu [97]. V místě akutních projevů (papulace) bývá značný mezibuněčný edém epidermis (spongióza). Langherhansovy buňky mají v kůži s ekzematózními lézemi (v menší míře i v kůži bez lézí) na povrchu navázané molekuly IgE protilátek. Toto ovšem platí jen u IgE formy AE, nikoli u non-IgE AE. Lymfocytární infiltrát se sestává hlavně z aktivovaných paměťových T lymfocytů. V akutních lézích

jsou přítomny také eozinofily, stejně jako žírné buňky v různém stadiu degranulace.

Chronické léze s lichenifikací jsou charakterizovány hyperplastickou epidermis, nápadnou hyperkeratózu a minimální spongiózu. V epidermis je zvýšené množství dendritických buněk s navázanými IgE, v kožním mononukleárním infiltrátu dominují makrofágy. Zvýšený je i počet žírných buněk, které jsou plně degranulované. Předpokládá se i podíl eozinofilů na akcentaci zánětlivých změn, neboť se prokázal zvýšený výskyt jejich produktů jako MBP nebo ECP v kůži [52].

#### **1.5.3.4 Alergeny**

Jedním z charakteristických rysů AE je zvýšení koncentrace sérových IgE protilátek, jakkoli u části AE (*intrinsic*, non-IgE forma) tomu tak není. Současně bývají často zvýšené i hladiny specifických IgE protilátek proti různým alergenům, ale u některých nemocných se prokázala i přítomnost antigen-specifických T lymfocytů, což svědčí pro přítomnost oddálených, T lymfocytárních reakcí. Přecitlivělosti se mohou podílet na patogenezi AE jako tzv. spouštěče, tj. mohou indukovat rozvoj projevů AE nebo jejich zhoršení. Přecitlivělost může v rámci tzv. atopického pochodu současně anebo i převážně spouštět jiné atopické onemocnění, např. alergickou rýmu. Rozvoj dalších atopických onemocnění byl pozorován u 50-80% dětí s AE [98,99], u 65-85% pacientů s AE byla pozitivní rodinná anamnéza atopie [100], 80-90% dětí s AE mělo zvýšené sérové hladiny IgE [101] a asi u 80% dětí s AE byl pozitivní výsledek SPT a/nebo vyšetření specifických IgE na nějaký alergen [102,103].

#### ***Potravinové alergen***

U pacientů s AE nacházíme nejčastěji senzibilizaci na potraviny. Mezi 40-90% dětí se středně těžkým až těžkým AE mělo pozitivní SPT na jeden nebo více běžných potravinových alergenů (vejce, mléko, arašídy, pšenice, brambory, sója nebo ryba) [104,105]. Nicméně reakce časného nebo pozdního typu byly po provokaci pozorovány pouze u 27-60% dětí s IgE protilátkami zprostředkovanou senzibilizací [106,107]. Odhaduje se, že pouze u 30-40% se středně těžkým až těžkým AE a pozitivním specif.IgE alespoň na jednu potravinu bude mít pozitivní DBPCFC [108]. U 33-40% dětí se středně těžkým až těžkým AE bylo prokázáno, že přecitlivělost na potraviny zhoršuje kožní příznaky [106,109]. Podle studie Eigenmanna a kol. [106] se prevalence prokázané potravinové alergie pohybovala u pacientů s AE kolem 35%. Podle větších studií měla přibližně 1/3 dětí



s těžkým AE potravinovou alergií zprostředkovanou IgE protilátkami [106,110-112]. Menší studie s omezeným počtem selektovaných pacientů prokázaly, že těžký ekzém může být zhoršován potravinami i v dospělosti [113,114]. V jedné studii vyšetřovali adolescenty a dospělé s AE a zjistili nízký výskyt potravinové alergie [115].

V kojeneckém a batolecím věku jsou nejčastějšími potravinovými alergeny odpovědnými za ekzém nebo jeho exacerbace kravské mléko, slepičí vejce, pšeničná mouka, sója, ořechy a arašídy. V pozdějším věku je nutno brát v úvahu ještě potravinové přecitlivělosti vznikající v důsledku zkřížené reaktivity s pylovými alergeny.

Orální provokace potravinou může z hlediska AE vyvolat různé reakce:

- 1/ neekzematózní, které jsou buď kožní (svědění, urtikárie nebo jiné vyrážky) a/nebo jiné (gastrointestinální nebo respirační příznaky, ev.anafylaxe);
- 2/ izolované ekzematózní reakce (zhoršení AE hodiny až dny po expozici);
- 3/ kombinované neekzematózní a ekzematózní reakce [116].

Hodnocení klinických reakcí po orální provokaci na potraviny u dětí s AE ukázalo, že 25% klinických reakcí se objeví po 2 a více hodinách po orální provokaci, a nemá tedy charakter časně IgE-zprostředkované reakce [117,118]. Při hodnocení za 16 a více hodin po provokaci se u více než 10% dětí vyvinulo po DBPCFC s kravským mlékem, vejcem, pšeničnou moukou nebo sójou izolovaná ekzematózní reakce [119]. Více než 40% dětí mělo po DBPCFC kombinované ekzematózní a neekzematózní reakce.

### ***Inhalační alergeny***

Přibývá důkazů o významu inhalačních alergenů v patogenezi AE. Podle Ringa a kol. [120] je možné pacienty s AE rozdělit podle distribuce kožních lézí do dvou skupin: první skupina má projevy ekzému v místech nekrytých oděvem (hlava, krk, předloktí, kotníky a ruce) a 69% z nich má pozitivní APT na některý inhalační alergen, zatímco druhá skupina tuto distribuci projevů nemá a pouze 39% z nich pacientů má pozitivní výsledek APT.

V centru pozornosti jsou od počátku alergeny roztočů. Koncentrace specifických IgE proti roztočům jsou u pacientů s AE výrazně vyšší než u nemocných trpících respiračními alergózami [121, 122]. Testy pozdní přecitlivělosti (APT) jsou na roztoče u pacientů s AE vůbec nejčastěji pozitivní ze všech inhalačních alergenů [94]. T lymfocyty z lézí AE a ekzematózních lézí vzniklých při APT roztočovými alergeny měly specifitu pro roztočové alergeny, což potvrzuje buňkami zprostředkovanou senzibilizaci na inhalační alergeny u pacientů s AE [123]. Některé studie potvrdily účinnost eliminačních protiroztočových opatření na rozvoj [124] i

klinický stav AE [125,126]. Dosud panují dohady, zda roztočové alergen působí na AE spíše prostřednictvím kožní expozice, kterou mohou u ekzému snáze prostupovat díky narušení epidermální bariéry u AE [127], anebo inhalací přestupem přes dýchací cesty [128]. Na klinický význam roztočů ukazují i studie specifické imunoterapie, které prokázaly zlepšení AE u části pacientů po absolvování léčby [129].

Podobné, i když ne takto konzistentní, jsou i údaje od dalších inhalačních alergenů, které udávají zhoršení AE po expozici pylu, plísním či zvířecí srsti, stejně tak jako zlepšení AE po jejich eliminaci [130]. Pylové alergen jsou na druhém místě, pokud jde o četnost pozitivního výsledku APT na inhalační alergen ve větších studiích [94]. U části pacientů mohou vyvolávat exacerbaci AE v pylové sezóně, tedy v období, kdy bývá stav ekzému obvykle lepší.

### ***Mikrobiální alergen***

Vzhledem k poruchám nespecifického imunitního systému u AE, jako je narušená produkce antimikrobiálních peptidů, poruchy receptorů (TLR) nebo narušená epidermální bariéra, je rovnováha mezi imunitním systémem a mikrobiální kolonizací kůže u pacientů s AE narušena. Platí to zjm. o bakterii *Staphylococcus aureus*. Kolonizace tímto mikroorganismem je u pacientů s AE zvýšená a jeho antigenní produkty se mohou na patogenezi AE významně podílet. Dle studií Leunga a kol. [131,132] je více než 90% pacientů s AE kolonizováno *Staphylococcus aureus* v porovnání s 5% kontrol, specifické IgE proti stafylokokovým enterotoxinům byly nalezeny u téměř 60% pacientů se středně těžkým až těžkým AE (u kontrol nikoli). Exotoxiny *Staphylococcus aureus* jako SEA (*stafylokokový enterotoxin A*), SEB (*stafylokokový enterotoxin B*) nebo TSST-1 (*toxic shock syndrome toxin-1*) mohou podporovat zánětlivé reakce jako tzv. superantigeny, tj. mohou aktivovat polyklonálně velký počet T-lymfocytů. *Staphylococcus aureus* tak může přispívat k perzistenci zánětu v kůži, což dokazuje skutečnost, že aplikace SEB na kůži vyvolala ekzematózní projevy spojené s infiltrací kůže T lymfocyty [133].

Podobně se na patogenezi AE mohou podílet fungální alergen některých plísní kolonizujících kůži jako rod *Candida* nebo *Malassezia*. Antigeny těchto plísní vyvolávají u části pacientů s AE IgE- a T lymfocyt-zprostředkované reakce, jak prokázala vyšetření specifických IgE a APT [134]. U některých nemocných vedla antimykotická léčba ke zlepšení kožních projevů AE [135].

### ***Kontaktní alergen***

Uváděný výskyt kontaktní alergie u pacientů s AE se pohybuje mezi 41-64% [136,137]. Mezi nejčastější kontaktní alergen patří kovy, voňavky, neomycin nebo lanolin. Kontaktní senzibilizace může zhoršovat projevy AE a ovlivňovat průběh atopického onemocnění. Senzibilizovaní pacienti mohou navíc reagovat již na velmi nízké koncentrace kontaktních alergenů díky narušení bariérové funkce kůže a hyperreaktivitě na iritační stimuly, které zesilují kontaktní reakce. Atopičtí pacienti vykazují značné riziko rozvoje kontaktní dermatitidy, zvláště rukou, jsou-li v pracovním prostředí vystaveni působení iritačních faktorů, např. chemikálií, vody nebo různých nečistot. Atopie amplifikuje účinky expozice iritancím nebo alergenům u kadeřníků, pracujících v čistírnách nebo ve zpracování kovů, mechaniků nebo zdravotních sester.

#### **1.5.4 Vliv nespecifických dráždivých podnětů**

Kromě výše klasických alergenů může AE zhoršovat celá řada nespecifických dráždivých podnětů, mezi něž patří např. mýdla, saponáty, prací a čisticí prostředky, dezinfekční látky, vlna, neprodyšný oděv, dráždivé látky vyskytující se v pracovním prostředí, šťávy z potravin a další [138].

#### **1.5.5 Porucha bariérová funkce kůže**

Za normálních okolností brání pronikání mikrobů nebo alergenů kůži epidermální bariéra. Její první linii tvoří *stratum corneum*, epidermální vrstva tvořená buňkami (korneocyty) a extracelulární matrix bohatou na lipidy, jako jsou ceramidy, cholesterol nebo volné mastné kyseliny. Tato bariéra za fyziologických poměrů minimalizuje ztráty vody a její narušení u pacientů s AE se významně podílí na spuštění a udržování kožního zánětu [139,140]. Pro kůži ekzematika jsou typické zvýšené transepidermální ztráty vody a porucha terminální diferenciací keratinocytů, snížená koncentrace ceramidů, filaggrinu a antimikrobiálních peptidů [141]. Vznikajícímu zánětu napomáhá zvýšená aktivita endogenních i exogenních proteáz a produkce prozánětlivých cytokinů. Výsledkem je narušení a posléze faktické zhroucení fyziologické funkce kožní bariéry.

##### **1.5.5.1 Filaggrin**

U zdravých lidí se na formování vrstvy zrohovatělých buněk podílí defosforylace a štěpení polyproteinu profilaggrinu serinovými proteázami,

což vede k uvolnění filaggrinu. Filaggrin zajišťuje agregaci keratinového cytoskeletu, čímž zajišťuje oploštění keratinocytů v nejbližší vrstvě kůže. Štěpné produkty filaggrinu se podílejí na tvorbě přirozeného zvlhčujícího faktoru (*Natural Moisturizing Factor*, NMF) a zčásti přispívá k hydrataci korneocytů. Deficience filaggrinu vede u AE ke snížení hydratace *stratum corneum* a zvýšeným transepidermálním ztrátám vody.

Štěpné produkty filaggrinu hrají navíc důležitou roli v acidifikaci *stratum corneum*. Nižší produkce metabolitů filaggrinu proto zvyšuje pH ve *stratum corneum*, čímž se aktivuje celá řada proteáz, které dále narušují epidermální bariéru [142]. Mutace vedoucí ke ztrátě nebo významnému snížení funkce filaggrinu jsou významným rizikovým faktorem vzniku AE, ale také průduškového astmatu.

Mutace vedoucí k úplné ztrátě funkce filaggrinu jsou přítomny pouze u malé části nemocných s AE (~10%). Ke vzniku AE však může disponovat i variabilita počtu kopií v rámci genu pro filaggrin (*FLG*) [143]. Expresi *FLG* negativně ovlivňuje celá řada cytokinů jako je např. IL-4, IL-13, TNF nebo IL-25. V místech lézí AE byla prokázána snížená exprese některých proteinů se vztahem ke kožní bariéře (filaggrin-2, korneodesmin, desmoglein-1, transglutamináza-3) nebo k tvorbě NMF (argináza-1, kaspáza-14) v porovnání s místy bez lézí [144].

### 1.5.5.2 Porucha serinových proteáz

Na poruše epidermální bariéry se může podílet deregulace serinových proteáz v epidermis na podkladě genetického defektu regulátorů *SPINK5/LEKTI* (viz kapitola 1.5.1), anebo zvýšení pH např. účinkem alkalizujících mýdel. V důsledku toho dochází ke zvýšené degradaci enzymů podílejících se na metabolismu epidermálních lipidů a akcelerované degradaci korneodesmozomů. Výsledkem je porucha tvorby ceramidů a narušení epidermální bariéry.

### 1.5.5.3 Tight junctions

Pod *stratum corneum* se nachází vrstva korneocytů (*stratum granulosum*), mezi nimiž jsou těsné spoje, tzv. *tight junctions*. Tato vrstva tvoří druhou bariéru epidermis. Klíčovou roli v *tight junctions* hrají adhezivními proteiny, které kontrolují průchod tekutin kolem buněk. Důležitým adhezivním proteinem *tight junctions* je claudin-1. U atopického onemocnění jako průduškové astma nebo AE jsou *tight junctions* narušeny, což opět vede k poruše epidermální bariéry. Narušení *tight junctions* podporují některé cytokiny (IL-4, IL-13, IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ ), naopak regulační T

lymfocyty narušení *tight junctions* brání a podporují jejich uzavření. U pacientů s AE se prokázala nižší koncentrace proteinů, jako je claudin-1 nebo claudin-23 [145].

#### **1.5.5.4 Porucha metabolismu nenasycených mastných kyselin**

Mastné kyseliny jsou součástí extracelulární matrix ve *stratum corneum* a kromě toho představují i prekurzory různých látek s imunomodulačním účinkem. Experimenty bylo zjištěno, že nedostatek exogenních esenciálních mastných kyselin může vyvolat u pokusných zvířat příznaky podobné AE, jako je zvýšená suchost a zrudnutí pokožky nebo přítomnost abnormálních keratinocytů [146]. U pacientů s AE byl zjištěn rovněž odlišný profil mastných kyselin a snížený metabolismus kyseliny linolenové na podkladě defektu  $\delta$ -6-desaturázy, který vede ke snížené produkci kyseliny  $\gamma$ -linolenové [147]. Výsledkem je narušení bariérové funkce pokožky a snížení produkce některých imunomodulačních látek. Obojí se může podílet na patogenezi AE.

#### **1.5.6 Neurogenní faktory**

U pacientů s AE nacházíme celou řadu odchylek v reaktivitě autonomního nervového systému. Předpokládá se, že podkladem je odchýlná reaktivita autonomního nervového systému, spojená s vrozenou konstitucí  $\beta$ -adrenergních receptorů a/nebo poruchou metabolismu cAMP. Nacházíme např. bílý dermatografismus, rychlou vazokonstrikci/pomalé zahřívání pokožky, odchýlné reakce na cholinergní, adrenergní nebo histaminové podněty.

AE se řadí mezi psychosomatická onemocnění, takže stav ekzému může výrazně negativně ovlivnit stres. Stres může sekrecí endogenních glukokortikoidů narušovat homeostázu epidermální bariéry, integritu *stratum corneum* a inhibicí syntézy lipidů podílet na narušení bariérové funkce kůže. Stav ekzému může ovlivňovat nejspíš i celá řada neuropeptidů a neurohormonů, které mohou mít v pokožce imunomodulační účinek [5].

## 1.6 Nemoci asociované s atopickým ekzémem

### 1.6.1 Další atopická onemocnění

Jak již bylo řečeno, většina případů AE je spojena se zvýšenou hladinou IgE a nějakou IgE zprostředkovanou senzibilizací. V rámci tzv. atopického pochodu je počáteční AE, jehož prevalence s věkem klesá, vystřídán anebo doprovázen jiným atopickým onemocněním.

#### 1.6.1.1 Průduškové astma a alergická rýma

Mezi nejčastější atopická onemocnění, která se společně s AE vyskytují, patří respirační alergózy, jako je alergická rýma nebo průduškové astma. Alergickou rýmu velmi často provázejí příznaky konjunktivitidy. Udává se, že více než u 50% dětí s AE vznikne v průběhu života alergické astma a/nebo jiná alergóza [148]. Děti s těžkým AE mívají astma častěji, k čemuž mohou přispívat např. genetické predispozice (mutace *FLG*). Zvýšená prevalence astmatu u lidí s AE přetrvává i v dospělosti [28].

#### 1.6.1.2 Potravinová alergie

Podle velkých studií asi 1/3 dětí s těžkým AE současně trpí IgE-zprostředkovanou alergií [106]. Alergie na potraviny se může projevovat kožními příznaky jako urtikárie nebo exacerbace ekzému, orální alergický syndrom, gastrointestinální potíže, případně až anafylaktická reakce. Ekzematózní reakce na potraviny se mohou vyskytovat i v dospělém věku [114].

#### 1.6.1.3 Urtikárie

Kopřivkové reakce se ve spojení s ekzémem mohou vyskytovat rovněž, ať již v rámci potravinové alergie nebo v reakci na expozici většímu množství inhalačního či jiného alergenu. Nezřídka však mohou mít kopřivkové reakce nealergický podklad.

### 1.6.2 Vrozené poruchy kůže

#### 1.6.2.1 Ichthyosis vulgaris

Jedna z nejčastějších poruch spojených s AE. Jde o vrozenou autozomálně dominantní poruchu keratinizace kůže na podkladě mutace genu *FLG*.

### **1.6.3 Imunodeficiency**

#### **1.6.3.1 Nethertonův syndrom**

Autozomálně recesivně dědičné onemocnění spojené s erythrodermií, ichtyózou, abnormalitami vlasů a ochlupení, časté jsou alergické reakce.

#### **1.6.3.2 Omennův syndrom**

Autozomálně recesivně dědičný primární imunodeficit spojený s poruchou T a B lymfocytů, hypogamaglobulinémií, ekzémem a přítomností autoreaktivních klonů T lymfocytů

#### **1.6.3.3 Wiskott-Aldrichův syndrom**

X-vázané onemocnění projevující se trombocytopenií, ekzémem a imunodeficitem.

#### **1.6.3.4 HyperIgE syndrom**

Dědičné onemocnění na podkladě různých genetických defektů s extrémně zvýšenými hladinami IgE, ekzémem, imunodeficitem, případně kostními malformacemi.

#### **1.6.3.5 Ataxia teleangiectasia**

Autozomálně dominantní onemocnění projevující se ataxií, přítomností teleangiectazií, imunodeficitem a náchylností ke vzniku maligních nádorů.

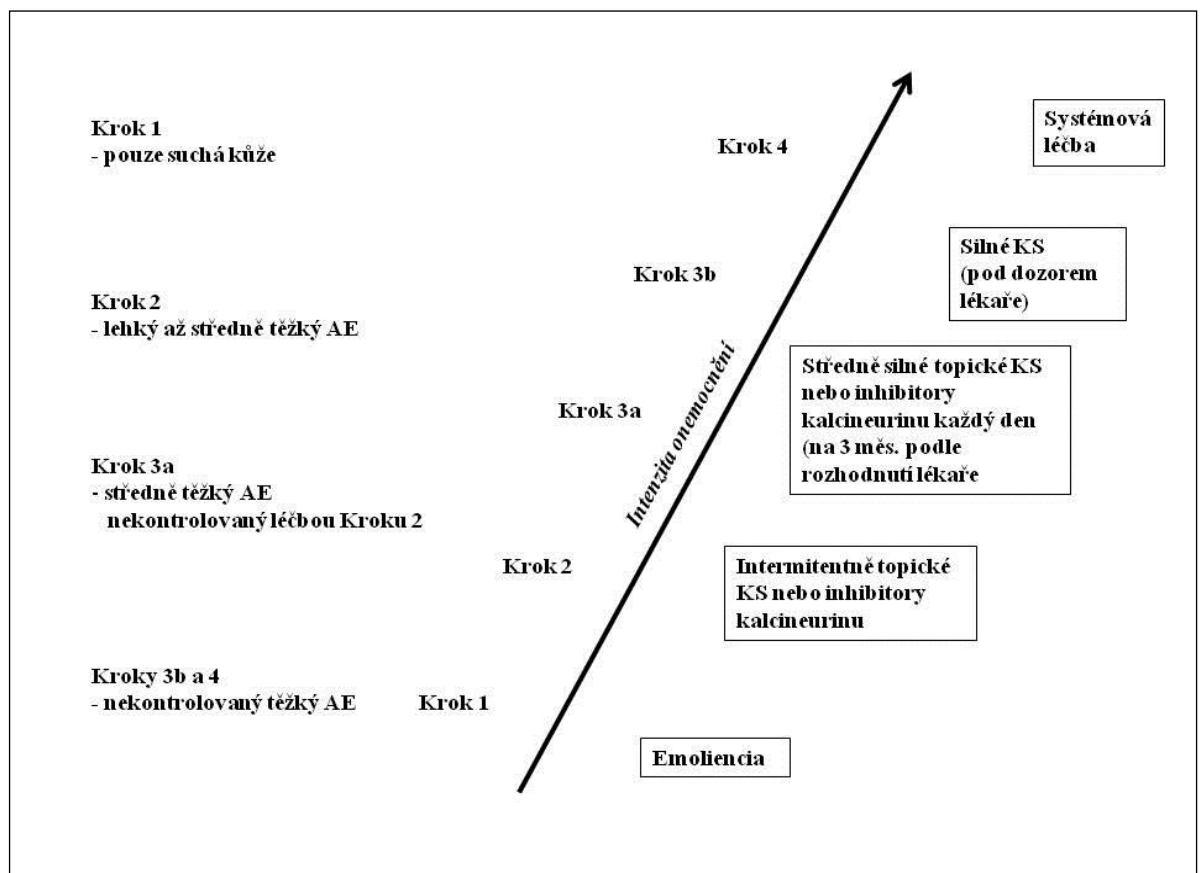
## **1.7 Léčba atopického ekzému**

Mezi obecná režimová opatření, doporučovaná všem pacientům s AE, patří eliminace iritačních podnětů typu detergentů (mýdlo, saponáty, prací prostředky), častého namáčení pokožky, koupelí v horké vodě, pocení nebo dráždění vlněným oblečením. Při zjištění přítomnosti alergie doporučujeme eliminaci expozice příčinným alergenům, nicméně obecný protialergický režim (bezprašné prostředí, omezení koberců a závěsů, peřiny pro alergiky, vyloučit domácí zvířata) je na místě prakticky u každého ekzematika s ohledem na možný pozdější rozvoj alergií.

Farmakoterapie sestává z hydratace a zvláčňování pokožky pomocí emoliencií, časté je celkové podávání nesesdativních antihistaminik II. generace, která mají příznivý efekt zejména u IgE typu AE, ovšem využít lze i jejich obecně protisvědčivý účinek. Lokální protizánětlivá léčba se provádí pomocí topických steroidů sestupnou nebo ústupovou léčbou (s postupným vysazováním), u torpidních případů volíme intervalové podávání. U dětí starších 2 let lze použít, zejm. v obličejových partiích,

topické imunomodulátory: tacrolimus (Protopic®), pimecrolimus (Elidel®). V těžkých případech dermatolog velmi často volí kombinovanou lokální léčbu. Schéma strategie léčby AE je popsáno na obrázku 15. Při nadměrné kolonizaci kůže pacienta *Staphylococcus aureus* je na místě kúra protistafylokokovými antibiotiky.

**Obrázek 15 - Stupňovité schéma léčby atopického ekzému dle Leunga [149]**



KS, kortikosteroidy



## 2 Cíl práce

Pacienti s AE tvoří významnou část klientely imunoalergologického a dermatovenerologického pracoviště Fakultní nemocnice v Plzni. Ve snaze zlepšit péči o tyto nemocné, rozšířit možnosti diagnostiky přecitlivělosti a zjistit její skutečný význam pro naše pacienty jsme naplánovali a uskutečnili studii přecitlivělosti u pacientů s AE. Cílem našeho projektu bylo:

(1) zjistit výskyt časně a pozdní přecitlivělosti na běžné inhalační alergeny u pacientů s AE pomocí atopických epikutánních testů (APT), kožních prick testů (SPT) a vyšetření specifických IgE;

(2) spočítat specificitu a senzitivitu těchto diagnostických testů na základě:

a/ anamnézy zhoršování AE po expozici vyšetřovaným alergenům;

b/ změn klinického stavu AE v závislosti na expozici vyšetřovaným alergenům;

c/ změn spotřeby topické protizánětlivé medikace ve vztahu k expozici vyšetřovaným alergenům;

(3) posoudit možnost hodnocení klinické relevance výsledků testů přecitlivělosti podle nových standardů (změny klinického skóre AE a spotřeby topické protizánětlivé léčby v závislosti na expozici vyšetřovaným alergenům);

(4) zhodnotit účinnost eliminačních opatření na koncentraci roztočových alergenů.

## 3 Popis řešení a výsledky výzkumu

### 3.1 Materiál a metodika

Studie probíhala na Ústavu imunologie a alergologie Fakultní nemocnice v Plzni a Dermatovenerologické klinice Fakultní nemocnice v Plzni od října 2006 do března 2013.

#### 3.1.1 Studijní soubor

Naši studijní skupinu tvořilo 71 pacientů (37 mužů, 34 žen) s AE ve věku 1-34 let (medián 5 let). Do studie byli zařazeni na základě kritérií Hanifina a Rajky [2] a podepsaného informovaného souhlasu (pacienti nebo v případě dětí jejich zákonní zástupci) (viz příloha 1). Tíže AE byla hodnocena pomocí klinického skórovacího systému (SCORAD), průměrné skóre SCORAD pacientů našeho souboru bylo při zařazení do studie  $17.9 \pm 9.5$ .

#### 3.1.2 Popis studie

Po zařazení byli pacienti vyšetřeni pomocí APT, SPT a vyšetření specifických IgE na přecitlivělost na čtyři běžné inhalační alergeny (směs pylu trav, pyl břízy a dva druhy roztočů domácího prachu (*Dermatophagoides pteronyssinus* a *Dermatophagoides farinae*)). Pacienti nebo jejich rodiče vyplnili dotazník s otázkami ohledně zhoršování AE v souvislosti s expozicí vyšetřovaným alergenům (viz příloha 2). U 30 pacientů byly výsledky testů rovněž vztaženy ke změnám SCORAD a změnám spotřeby topické protizánětlivé léčby ve vztahu k expozici vyšetřovaným alergenům.

U třiceti pacientů, u nichž byly sledovány změny SCORAD a spotřeby protizánětlivé léčby ve vztahu k expozici alergenům, byl po dobu jednoho roku jednou měsíčně stanovován SCORAD a po tuto dobu pacienti, u dětí jejich rodiče, rovněž zaznamenávali do speciálního formuláře (viz příloha 3) spotřebu topické protizánětlivé léčby (kortikosteroidy nebo inhibitory kalcineurinu) – tzv. *Anti-Inflammatory Treatment Days* (AITD).

Zmíněných 30 pacientů bylo pro účel sledování účinku expozice roztočovým alergenům randomizováno do dvou skupin: aktivní a kontrolní. Pacienti z aktivní skupiny byli na začátku vybaveni speciálními hustě tkanými povlaky nepropustnými pro roztoče (Protec'Som, Francie), jimiž potáhli matraci, polštář a peřinu, a byla jim poskytnuta informace o aplikaci protiroztočového režimu (viz příloha 4). Pacienti randomizovaní do kontrolní skupiny zpočátku neaplikovali žádná protiroztočová opatření.

Aby se zabránilo rušivému vlivu případné pylové alergie na AE, byla protiroztočová opatření aplikována po dobu 6 týdnů striktně mimo pylovou sezónu břízy nebo trav (září až březen). Během těchto šesti týdnů byl třikrát stanoven SCORAD: před aplikací protiroztočových opatření a za 3 a 6 týdnů poté. Po šesti týdnech bylo provedeno překřížení a protiroztočová opatření byla aplikována u pacientů z kontrolní skupiny, a naopak vysazena pacientům z aktivní skupiny. Účinnost protiroztočového režimu byla přitom sledována pomocí měření koncentrace roztočových alergenů (Der p 1, Der f 1) ve vzorcích prachu z lůžka pacientů, odebíraných opět třikrát – na začátku a za 3 a 6 týdnů poté. Metodika sběru a zpracování prachu byla převzata z van Strienovy studie [150], vyšetření koncentrace alergenů bylo prováděno ELISA metodikou podle doporučení výrobce (Indoor Biotechnologies Ltd., Velká Británie) (viz příloha 5).

Po skončení období observace bylo provedeno statistické zhodnocení pomocí programu SA 9.3. a byly spočteny základní statistické údaje jako průměr, medián, minimum, maximum a senzitivita a specifita diagnostických testů ve vztahu k anamnéze, změnám SCORAD a spotřeby topické protizánětlivé medikace.

### 3.1.3 Metody

#### 3.1.3.1 Atopické epikutánní testy (APT)

Extrakty alergenů rozmíchané ve vazelině (Stallergènes, koncentrace 200 IR/g) byly přilepeny ve speciálních komůrkách (FinnChambers®, Ø 8 mm; Epitest Ltd Oy) na klinicky klidnou a očištěnou kůži horní části zad. Čistá vazelína byla použita jako negativní kontrola. Po uplynutí 48 hodin byly komůrky sejmuty a proveden první odečet. Druhý odečet byl udělán za dalších 24 hodin, tedy za 72 hodin od začátku aplikace alergenů. Výsledek testů byl hodnocen v souladu s revidovaným klíčem *European Task Force on Atopic Dermatitis* (ETFAD) z r.2003 (viz tabulka 6). Reakce  $\geq +$  byla hodnocena jako pozitivní.

**Tabulka 6 - Hodnocení výsledků atopických epikutánních testů (APT) podle doporučení ETFAD (upraveno podle [96])**

- negativní
? pouze erytém, sporný
+ erytém, infiltrace
++ erytém, několik papulek
+++ erytém, mnoho nebo šířící se papulky
++++ erytém, vezikulky

### 3.1.3.2 Kožní prick testy (SPT)

Alergenové extrakty (Alyostal Prick, Stallergènes, koncentrace 100 IR/ml) byly naneseny v kapkách na očištěnou a klinicky klidnou kůži volární strany předloktí. V místě kapky byl povrch kůže narušen lancetou s krátkým hrotem a po 1-2 minutách byla kapka setřena. Po 15 minutách byl proveden odečet výsledné reakce. Průměr kopřivkového pupenu  $\geq 3$  mm byl hodnocen jako pozitivní výsledek.

### 3.1.3.3 Vyšetření specifických IgE v séru

Hladina specifických IgE v séru byla měřena enzymatickou imunoesejí s chemiluminescenční koncovkou na přístroji Immulite (DPC/Siemens). Hladina specifického IgE  $\geq 0.7$  IU/ml byla hodnocena jako pozitivní výsledek.

### 3.1.3.4 Anamnéza

Všichni pacienti nebo jejich rodiče vyplnili po zařazení do studie standardizovaný dotazník o zhoršování příznaků AE po expozici vyšetřovaným alergenům, tj. pylu břízy nebo trav v jejich pylové sezóně nebo po kontaktu s domácím prachem (viz příloha 2).

### 3.1.3.5 SCORAD

Klinické skóre AE (SCORAD, SCORing Atopic Dermatitis) bylo hodnoceno u všech pacientů jednou měsíčně po celou dobu studie (12 měsíců). Stav ekzému byl zaznamenán do určeného formuláře (viz příloha 6) a poté vyhodnocen pomocí speciálního software. Pylová sezóna byla určena na základě pylového zpravodajství jako koncentrace pylových zrn  $10/\text{m}^3$  [151]. Nakonec byl spočten medián SCORAD pro každou z pozorovaných období (pylová sezóna břízy a trav, období aplikace/vysazení protiroztočových opatření, období mimo pylovou sezónu) a změna byla hodnocena jako srovnání expozice/neexpozice hodnocenému alergenů. Změna SCORAD  $\geq 10$  bodů byla hodnocena jako pozitivní [116].

### 3.1.3.6 AITD (Anti-Inflammatory Treatment Days)

Pacienti nebo jejich rodiče zaznamenávali užití topických protizánětlivých léků (kortikosteroidy, inhibitory kalcineurinu) po celou dobu studie (viz příloha 3). Dny užití protizánětlivých léků (*Anti-Inflammatory Treatment Days*, AITD) byly poté vyjádřeny jako procento dnů s užitím topické

protizánětlivé léčby během sledovaného období (pylová sezóna břízy nebo trav, nasazení a vysazení protiroztočového režimu, období mimo pylovou sezónu). Změna AITD byla vyjádřena v procentech jako srovnání období expozice/ neexpozice alergenu. Změna AITD  $\geq 10\%$  byla považována za pozitivní.

## 4 Výsledky

APT a vyšetření specifických IgE byly provedeny u všech subjektů, SPT u všech kromě jednoho kvůli lézím atopického ekzému na předloktích. U žádného ze subjektů se nevyskytla žádná vážná nežádoucí reakce v důsledku prováděných kožních testů.

Výsledky provedených testů jednotlivými alergeny a současně s výsledky srovnávacích standardů (anamnéza, SCORAD, AITD) jsou uvedeny v tabulkách 7-14 (viz další strana). U subjektu č. 3 nebylo provedeno zkoumání změn SCORAD a AITD ve vztahu k expozici/eliminaci roztočů, protože rodiče aplikaci protiroztočového režimu odmítli, ač s ní předtím souhlasili. U toho pacienta samozřejmě nebyly proto provedeny ani odběry prachu a stanovení koncentrací roztočových alergenů v lůžku.

**Tabulka 7 - Výsledky testů přecitlivělosti na pyl břízy u části pacientů, u nichž byla relevance testů hodnocena podle anamnézy, SCORAD a AITD**

Subjekt	Věk [roky]	APT	SPT [mm]	Specif.IgE[kIU/l]	Anamnéza	SCORAD	AITD
1	8	++++	8	>100	-	2,8	-1,8
2	13	0	0	0	+	10,7	-6,81
3	2	++++	0	0	-	-12,5	-1,45
4	2	0	0	0	+	9,4	-5,67
5	4	+	0	0,16	-	1,7	-2,53
6	5	0	0	0,35	-	0	0
7	5	0	0	0,1	+	8,85	-9,68
8	5	++	0	0,106	-	-6,6	0
9	4	0	0	0	-	-7,5	0
10	3	0	0	0,72	-	-5,7	21,5
11	3	++++	4	>100	-	-4,3	0
12	2	0	0	2,88	+	3,8	0
13	1	+	0	0,108	-	-11,7	-7,6
14	9	0	0	0,277	-	16,3	2,9
15	3	+	0	0	+	16,3	16,4
16	2	0	0	0	+	-1,4	-11
17	3	+	7	>100	+	5	-1,4
18	1	0	0	0	-	9,9	0
19	1	+	0	0	-	0,1	0
20	5	0	0	0,7	-	2,6	0
21	29	0	0	0	-	1,3	-1,4
22	9	0	0	0	-	-0,4	0
23	5	0	8	>100	+	-0,9	0
24	29	+	10	71,7	-	-2,9	4
25	28	0	8	35,4	-	-1,5	-0,6
26	6	0	0	0	-	3,4	61,7
27	1	+	0	0	-	-1,5	0
28	9	0	5	9,7	-	3	34,6
29	34	0	0	0	-	3,2	6,3
30	4	+	5	>100	+	4,8	18,7

**Tabulka 8 - Výsledky testů přecitlivělosti na pyl břízy u části pacientů, u nichž byla relevance testů hodnocena pouze podle anamnézy**

Subjekt	Věk [roky]	APT	SPT [mm]	Specif.IgE[kIU/l]	Anamnéza
31	16	0	-	0,966	-
32	4	0	7	14,4	-
33	9	+	5	100	+
34	3	?	3	7,82	-
35	3	0	0	0	-
36	6	0	0	0	-
37	6	0	0	0	+
38	5	0	0	0	-
39	13	0	0	0	-
40	3	0	0	0,277	-
41	5	++	6	>100	+
42	13	0	0	0	+
43	13	0	0	0	-
44	15	0	6	100	-
45	6	0	0	0	-
46	14	?	0	1,03	+
47	2	0	0	0	+
48	4	+++	8	43,8	-
49	4	0	0	0	+
50	9	0	3	8,38	-
51	4	+++	6	22,3	+
52	9	0	0	0	+
53	5	0	0	0	-
54	1	+++	0	0,76	+
55	16	0	5	41,5	+
56	7	0	7	77,50	+
57	5	0	7	100	+
58	8	0	5	55,2	+
59	2	++++	0	0,98	+
60	7	0	0	0	-
61	8	0	0	0	+
62	15	0	0	0	-
63	2	+++	5	>100	-
64	11	0	0	0	-
65	5	0	0	0	-
66	3	++++	8	100	+
67	6	0	0	0	-
68	3	0	0	0	-
69	6	++	0	0	-
70	3	0	0	0	-
71	16	0	0	0	-



**Tabulka 9 - Výsledky testů přecitlivělosti na pyl trav u části pacientů, u nichž byla relevance testů hodnocena podle anamnézy, SCORAD a AITD**

Subjekt	Věk [roky]	APT	SPT [mm]	Specif.IgE[kIU/l]	Anamnéza	SCORAD	AITD
1	8	0	8	11,4	-	-12,9	-1,8
2	13	0	0	0,195	+	-8,6	-6,81
3	2	+++	0	0	-	1,1	-6,45
4	2	0	0	0	+	15,6	4,53
5	4	+++	6	25,5	+	2,5	-10,03
6	5	+++	5	>100	+	9,25	0
7	5	+	0	0,23	-	-0,1	-9,68
8	5	0	0	0	-	-4,3	0
9	4	0	0	0	-	-7,5	0
10	3	0	4	0,64	-	9,7	19
11	3	0	0	0	-	-9,8	0
12	2	0	0	0,94	-	-3,6	0
13	1	0	0	0,247	-	-11,7	-7,7
14	9	0	0	0,512	-	2,6	4,8
15	3	0	0	0	-	2,4	0,1
16	2	0	0	0	-	-13,4	-11
17	3	+++	9	>100	+	-4,2	-1,4
18	1	++	0	0	-	-15,5	0
19	1	++	0	0	-	3,3	0
20	5	0	0	8,16	-	2,3	0
21	29	0	0	0	-	0,1	-17,2
22	9	0	3	0	-	-0,7	0
23	5	0	7	66,3	+	-6,4	0
24	29	+	5	71,5	-	1,1	2,3
25	28	0	5	16,6	-	-1,6	0,5
26	6	0	0	6,28	+	-4,3	20,5
27	1	++	0	0	+	-3,6	0
28	9	0	2	0,13	-	-2,3	12,2
29	34	0	0	0	+	1,2	14,2
30	4	+++	0	0	+	-3,9	-2,1

**Tabulka 10 - Výsledky testů přecitlivělosti na pyl trav u části pacientů, u nichž byla relevance testů hodnocena pouze podle anamnézy**

Subjekt	Věk [roky]	APT	SPT [mm]	Specif.IgE[kIU/l]	Anamnéza
31	16	0	-	51,1	-
32	4	0	6	20,3	-
33	9	0	7	10,6	-
34	3	+++	7	>100	+
35	3	0	0	0	-
36	6	0	0	0	-
37	6	0	0	0	-
38	5	0	0	0	-
39	13	0	0	0	-
40	3	0	3	11,5	-
41	5	0	8	19,2	-
42	13	0	3	0,807	+
43	13	0	0	0	-
44	15	0	6	4,1	-
45	6	0	0	0	-
46	14	?	7	58,4	-
47	2	0	0	0	-
48	4	0	0	0	-
49	4	0	0	0	-
50	9	+++	4	>100	+
51	4	+++	7	>100	+
52	9	0	0	0	-
53	5	0	0	0	+
54	1	+++	3	3,08	+
55	16	0	0	0	-
56	7	+	3	1,1	+
57	5	0	5	24,9	-
58	8	++	6	52,3	-
59	2	0	0	0	-
60	7	0	0	0	-
61	8	0	3	1,15	-
62	15	0	0	0	-
63	2	++	0	39,2	+
64	11	0	0	0	-
65	5	0	0	0	-
66	3	+++	0	0	-
67	6	0	0	0	-
68	3	0	0	0	-
69	6	0	0	0	-
70	3	0	0	0	+
71	16	0	0	0	-

**Tabulka 11 - Výsledky testů přecitlivělosti na *Dermatophagoides pteronyssinus* u části pacientů, u nichž byla relevance testů hodnocena podle anamnézy, SCORAD a AITD**

	Věk [r.]	APT	SPT [mm]	Specif.IgE[kIU/l]	Anamnéza	SCORAD	AITD
1	8	++	6	10,1	-	11,7	0
2	13	0	0	0	+	-4	0
3	2	0	0	0	-	-	-
4	2	0	0	0	+	6,9	0
5	4	0	0	0	+	-16,8	-11,91
6	5	++++	2	0,19	-	0	0
7	5	++	3	9,2	-	9,95	-31
8	5	+++	0	0	-	-13,7	0
9	4	+++	0	0	-	-10,1	0
10	3	+++	5	100	+	-3	-23,8
11	3	?	0	0	-	15,2	0
12	2	++	0	0	-	-7,9	0
13	1	0	0	0	-	12,9	13,1
14	9	0	0	0,449	+	6,4	-10
15	3	+++	0	0	-	-7,5	0,6
16	2	0	0	0	-	16,4	23,7
17	3	0	4	0,422	-	-10,4	0
18	1	+++	0	0	-	1	0
19	1	+++	4	0	-	0,7	0
20	5	0	0	0	-	3	0
21	29	0	0	0	-	1,5	-0,1
22	9	0	1	0	-	7	0
23	5	0	0	0	-	-0,6	0
24	29	0	0	0	+	5,3	-4,8
25	28	0	0	0	+	0	-4,8
26	6	+	10	61,4	-	-3,1	-7,4
27	1	++++	0	0	-	2	0
28	9	0	5	3,1	-	-0,2	-26,1
29	34	0	0	0,524	+	0	23,8
30	4	++	0	0	-	6	1,8

**Tabulka 12 - Výsledky testů přecitlivělosti na *Dermatophagoides pteronyssinus* u části pacientů, u nichž byla relevance testů hodnocena pouze podle anamnézy**

Subjekt	Věk [roky]	APT	SPT [mm]	Specif.IgE[kIU/l]	Anamnéza
31	16	0	-	0,494	+
32	4	+	0	0,122	-
33	9	+	5	100	+
34	3	+++	5	>100	+
35	3	+++	0	0	-
36	6	0	0	0	-
37	6	+++	0	0,43	+
38	5	0	0	0	-
39	13	0	0	0,23	+
40	3	+	6	7,46	-
41	5	+++	0	0	-
42	13	0	3	0	-
43	13	0	0	1,79	-
44	15	0	0	0	-
45	6	0	0	0	+
46	14	0	0	0,12	-
47	2	0	0	0	-
48	4	++	0	0,241	-
49	4	?	0	0	-
50	9	+++	0	3,79	-
51	4	0	0	0	-
52	9	++	0	0	+
53	5	+++	0	0	-
54	1	+++	0	0,41	+
55	16	0	0	0	-
56	7	++	0	0	-
57	5	0	0	0,429	-
58	8	+++	0	0,34	-
59	2	+++	5	2,34	+
60	7	+++	0	0	-
61	8	+++	7	61	+
62	15	0	0	0,553	-
63	2	0	0	0,213	+
64	11	0	4	0,428	-
65	5	+++	0	0	-
66	3	+++	0	0	-
67	6	++	0	0,63	-
68	3	?	0	0	-
69	6	++	0	0	-
70	3	0	0	0	-
71	16	0	0	0	-

**Tabulka 13 - Výsledky testů přecitlivělosti na *Dermatophagoides farinae* u části pacientů, u nichž byla relevance testů hodnocena podle anamnézy, SCORAD a AITD**

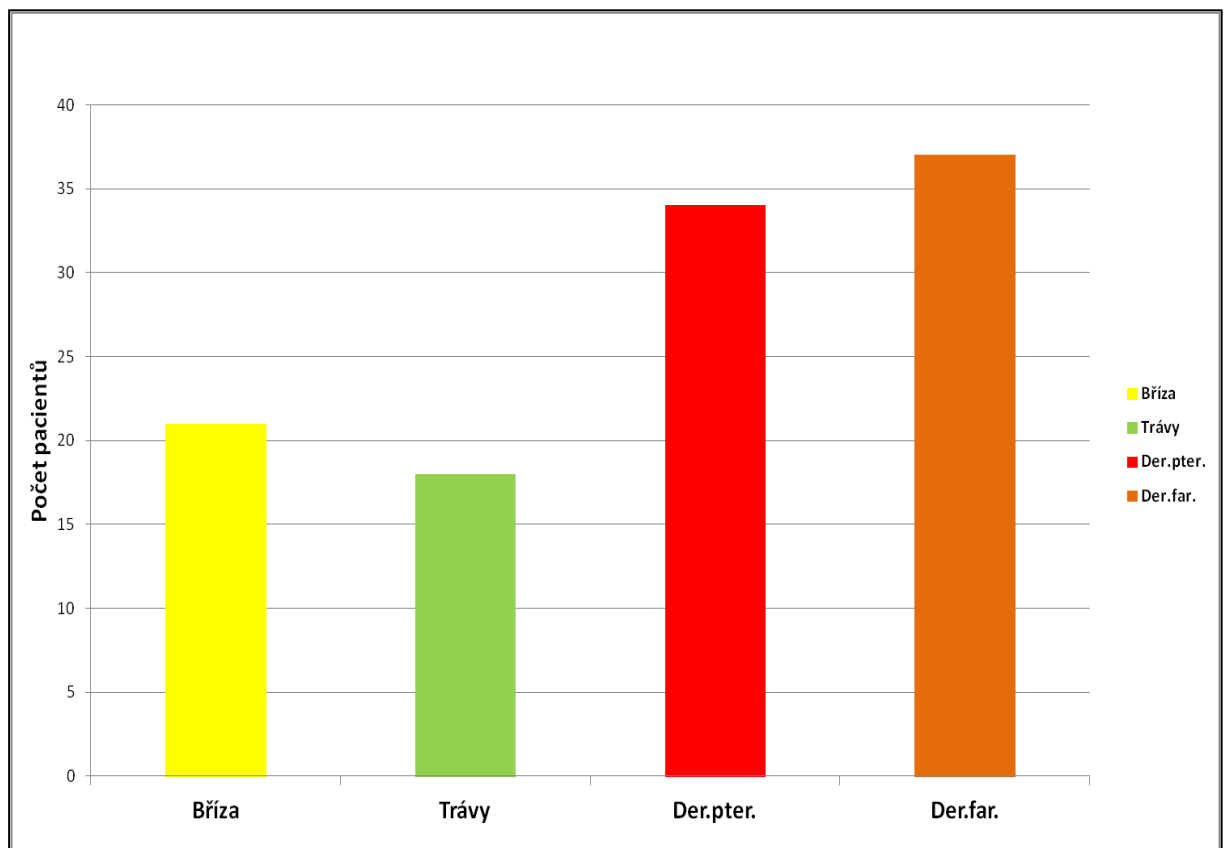
Č.	Věk [r.]	APT	SPT [mm]	Specif.IgE[kIU/l]	Anamnéza	SCORAD	AITD
1	8	+++	6	30,9	-	11,7	0
2	13	0	0	0	+	-4	0
3	2	+	0	0	-	-	-
4	2	0	0	0	+	6,9	0
5	4	0	0	0	+	-16,8	-11,91
6	5	++++	0	0,18	-	0	0
7	5	+	3	34,6	-	9,95	-31
8	5	+++	0	0	-	-13,7	0
9	4	+++	0	0	-	-10,1	0
10	3	++	4	100	+	-3	-23,8
11	3	?	0	0	-	15,2	0
12	2	++	0	0	-	-7,9	0
13	1	0	0	0	-	12,9	13,1
14	9	0	0	0,339	+	6,4	-10
15	3	+++	0	0,164	-	-7,5	0,6
16	2	0	0	0	-	16,4	23,7
17	3	0	0	0,581	-	-10,4	0
18	1	++	0	0	-	1	0
19	1	+++	3	0	-	0,7	0
20	5	0	0	0	-	3	0
21	29	0	0	0	-	1,5	-0,1
22	9	0	1	0	-	7	0
23	5	0	2	0	-	-0,6	0
24	29	0	0	0	+	5,3	-4,8
25	28	0	0	0	+	0	-4,8
26	6	++	0	67,8	-	-3,1	-7,4
27	1	++++	0	0	-	2	0
28	9	0	6	1,7	-	-0,2	-26,1
29	34	0	0	0,24	+	0	23,8
30	4	++	0	0	-	6	1,8

**Tabulka 14 - Výsledky testů přecitlivělosti na *Dermatophagoides farinae* u části pacientů, u nichž byla relevance testů hodnocena pouze podle anamnézy**

Subjekt	Věk [roky]	APT	SPT [mm]	Specif.IgE[kIU/l]	Anamnéza
31	16	0	-	0,495	+
32	4	+	0	0	-
33	9	+++	5	100	+
34	3	+++	5	>100	+
35	3	+++	0	0	-
36	6	+++	0	0	-
37	6	+++	0	1,08	+
38	5	0	0	0	-
39	13	0	3	0,24	+
40	3	+	5	3,48	-
41	5	+++	0	0	-
42	13	0	0	0	-
43	13	0	0	0,96	-
44	15	0	0	0	-
45	6	0	0	0	+
46	14	0	0	0	-
47	2	0	0	0	-
48	4	++	0	0,308	-
49	4	0	0	0	-
50	9	+++	0	2,39	-
51	4	0	0	0	-
52	9	++	0	0	+
53	5	+++	0	0	-
54	1	+++	0	0	+
55	16	0	0	0	-
56	7	++	0	0	-
57	5	0	0	0	-
58	8	+++	0	0,3	-
59	2	+++	5	0	+
60	7	+++	0	0	-
61	8	+++	7	55,8	+
62	15	0	0	0,257	-
63	2	0	0	0,155	+
64	11	0	0	0,163	-
65	5	+++	0	0	-
66	3	+++	0	0	-
67	6	++	0	0,15	-
68	3	+	0	0	-
69	6	0	0	0	-
70	3	++	0	0	-
71	16	0	0	0	-

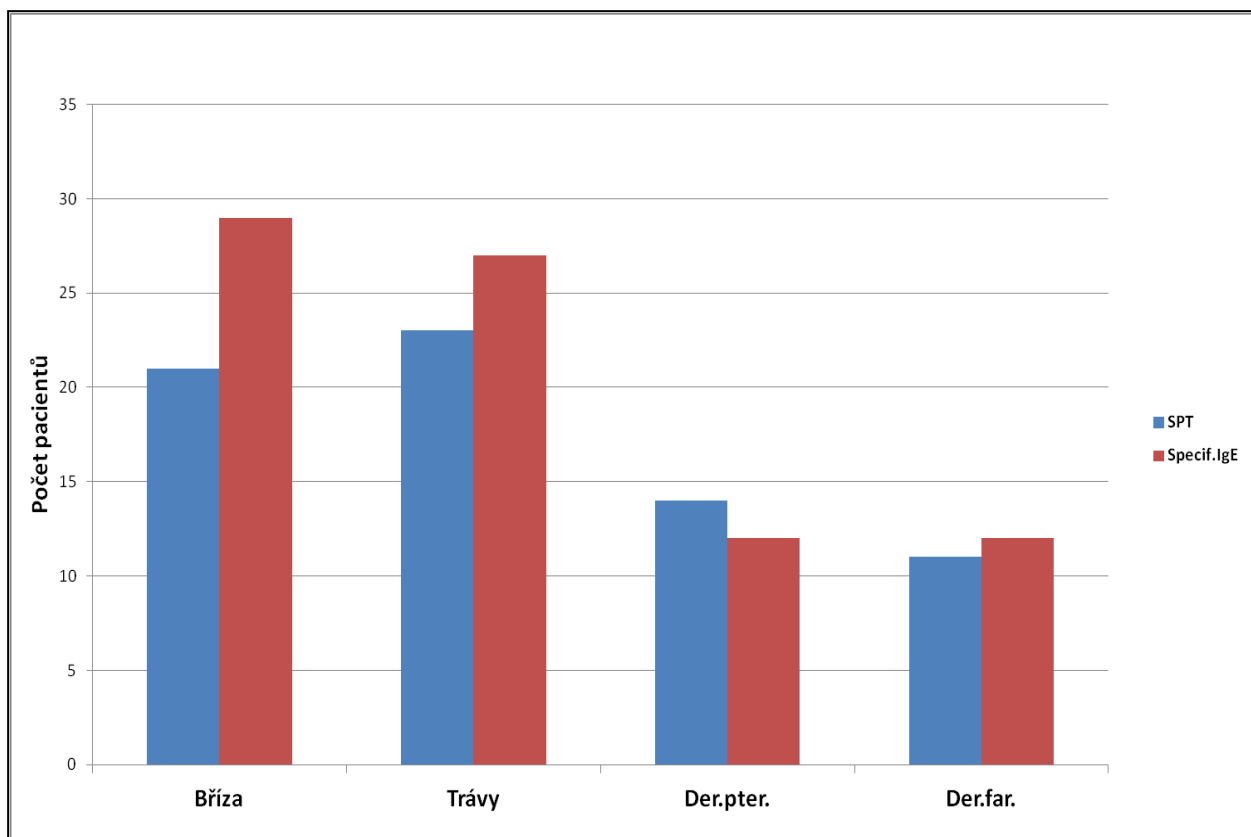
Alespoň jeden pozitivní výsledek měly APT u 45 pacientů (63%), nejčastěji to bylo na roztoče domácího prachu (38 pacientů), potom na pyl břízy (21 pacientů) a pyl trav (18 pacientů) (viz graf 3). 26 pacientů mělo pozitivní výsledek APT na více než jeden nepříbuzný alergen. Pět pacientů mělo pozitivní výsledek APT na všechny testované alergeny a 17 pacientů (24%) mělo pozitivní pouze výsledek APT, zatímco výsledky ostatních testů (SPT, specif.IgE) byly kompletně negativní.

**Graf 3 - Pozitivní výsledky atopických epikutánních testů (APT)**



Alespoň jeden z testů časné přecitlivělosti (SPT, specif.IgE) mělo pozitivní 42 pacientů (59 %), nejčastěji na pyl břízy a trav (po 29 pacientech oba), méně na roztoče domácího prachu (18 pacientů) (viz graf 4).

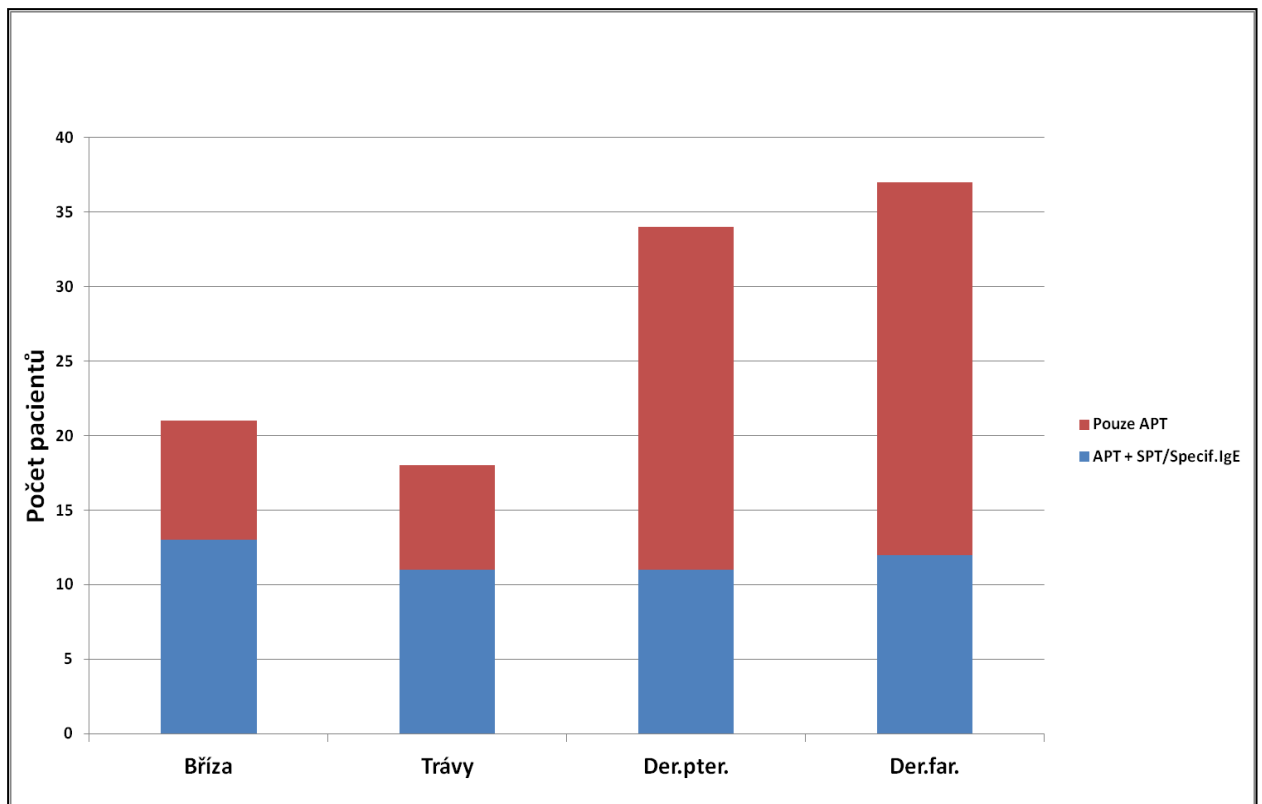
**Graf 4 - Pozitivní výsledky kožních prick testů (SPT) a vyšetření specifických IgE**



Polyvalentní senzibilizace časného typu byla zjištěna u 28 pacientů, výhradně přecitlivělost časného (a nikoli pozdního) typu byla zjištěna u 14 pacientů (20%). Oba typy přecitlivělosti byly současně prokázány u 28 pacientů (39%) (viz graf 5). Žádná přecitlivělost nebyla zjištěna u 12 pacientů (17%).



**Graf 5 - Pozitivita APT s nebo bez současné positivity SPT a/nebo vyšetření specifických IgE**



Po statistickém zhodnocení výsledků testů na základě anamnézy zhoršení projevů AE po kontaktu s vyšetřovanými alergeny se senzitivita APT pohybovala mezi 33-56% a specifická mezi 43-87% (viz tabulka 15).

**Tabulka 15 - Specifická a senzitivita atopických epikutánních testů (APT)**

	APT		
	Anamnéza	SCORAD	AITD
	SE/SP (%)	SE/SP (%)	SE/SP (%)
<b>Bříza</b>	33/73	33/59	40/60
<b>Trávy</b>	56/87	33/67	0/62
<b>Der.pter.</b>	39/51	33/52	0/48
<b>Der.far.</b>	39/43	33/52	0/48

SE, senzitivita; SP, specifická

Senzitivita testů časně přecitlivělosti (SPT, vyšetření specifických IgE) kolísala při hodnocení na základě anamnézy zhoršení projevů AE po kontaktu s vyšetřovanými alergeny mezi 26-63%, specificita dosahovala 69-91% (viz tabulky 16 a 17).

**Tabulka 16 - Specificita a senzitivita kožních prick testů (SPT)**

	SPT		
	Anamnéza	SCORAD	AITD
	SE/SP (%)	SE/SP (%)	SE/SP (%)
<b>Bříza</b>	44/78	0/70	40/76
<b>Trávy</b>	53/75	67/74	25/69
<b>Der.pter.</b>	29/81	33/78	0/72
<b>Der.far.</b>	29/91	33/87	0/80

SE, senzitivita; SP, specificita

**Tabulka 17 - Specificita a senzitivita vyšetření specifických IgE**

	Specif.IgE		
	Anamnéza	SCORAD	AITD
	SE/SP (%)	SE/SP (%)	SE/SP (%)
<b>Bříza</b>	58/69	0/59	60/68
<b>Trávy</b>	63/71	33/67	25/65
<b>Der.pter.</b>	26/87	33/87	0/80
<b>Der.far.</b>	26/87	33/87	0/80

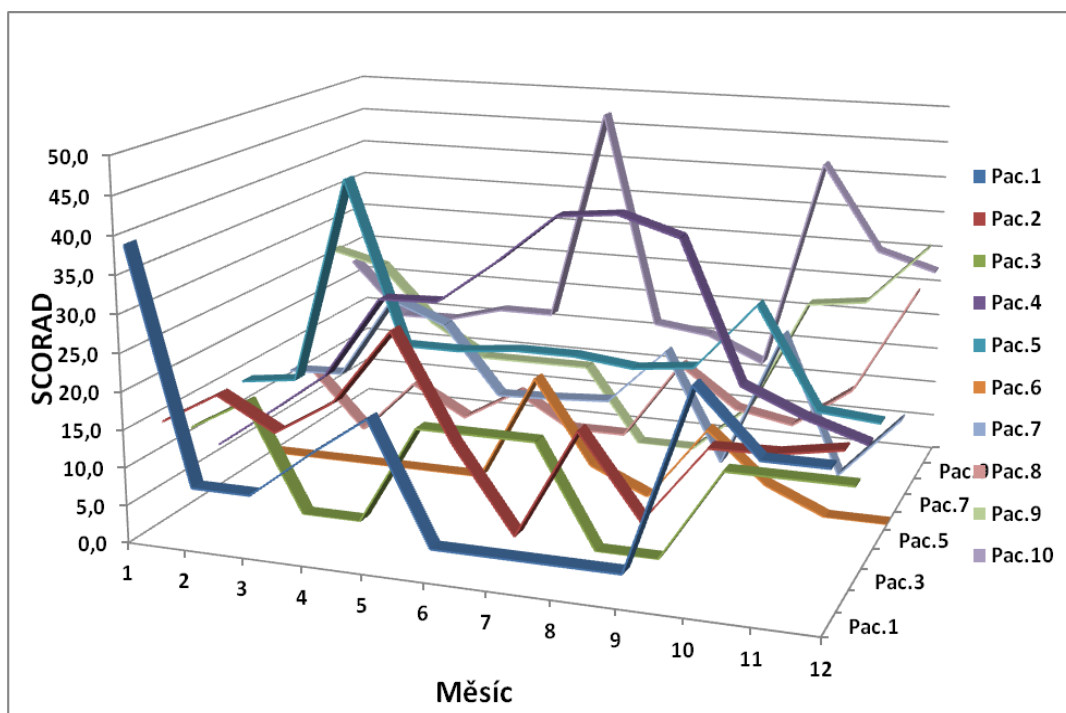
SE, senzitivita; SP, specificita

Při hodnocení na základě změn SCORAD ve vztahu k expozici testovaným alergenům měly APT senzitivitu 33% a specificitu 52-67%. Senzitivita SPT a specif.IgE kolísala ve vztahu ke stejnému standardu mezi 0-67% a specificita mezi 59-87% (viz tabulky 15-17).

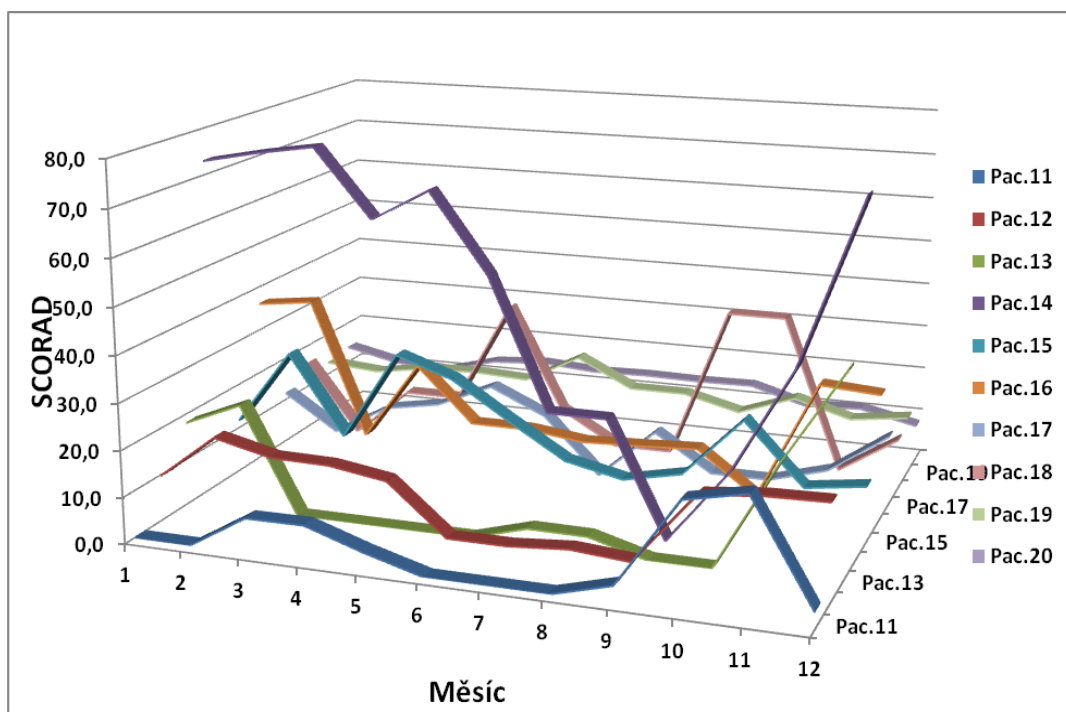
Při hodnocení senzitivity a specificity testů podle změn spotřeby topické protizánětlivé léčby (AITD) byla senzitivita všech testů nízká (0-60%). Specificita APT (48-62%) byla nižší než SPT nebo vyšetření specifických IgE (65-80%)(viz tabulky 15-17).

Změny SCORAD u sledovaných 30 pacientů v průběhu roku ukazují grafy 6-8.

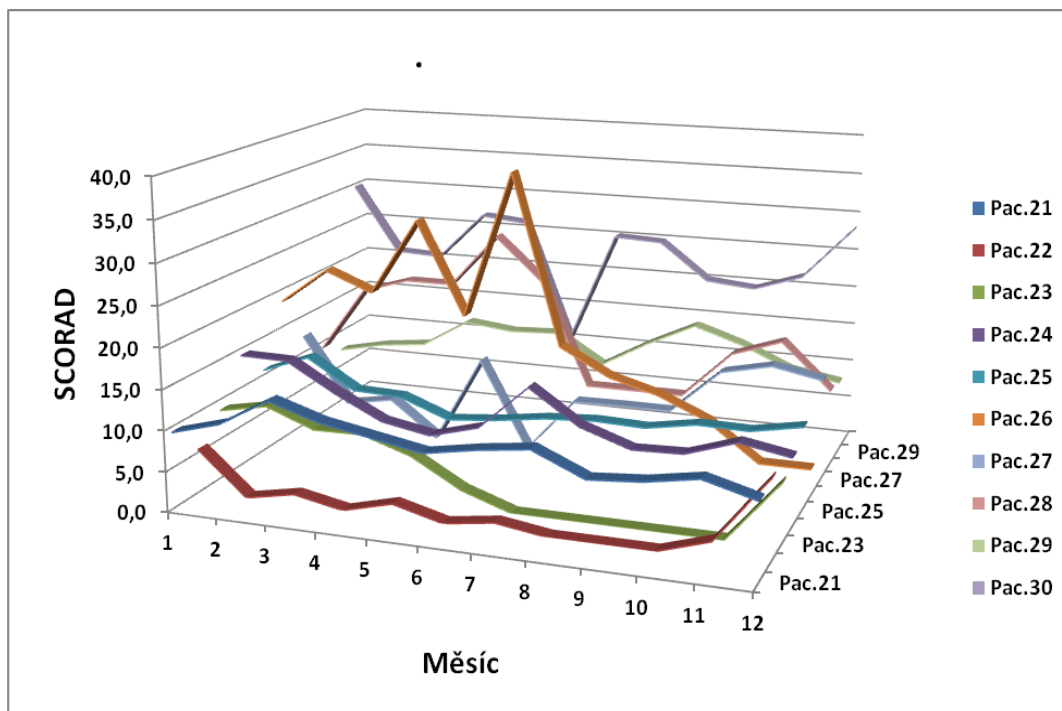
**Graf 6 - Změny SCORAD v průběhu roku I**



**Graf 7 - Změny SCORAD v průběhu roku II**



**Graf 8 - Změny SCORAD v průběhu roku III**



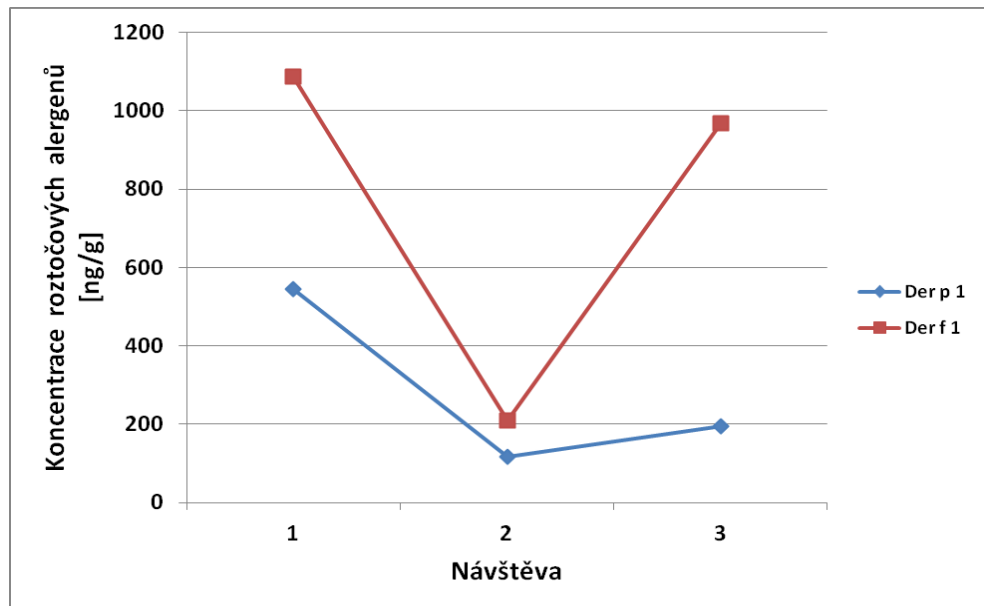
Měření koncentrací roztočových alergenů (Der p 1, Der f 1) v matracích pacientů ukázalo významný pokles po zavedení protiroztočových opatření u subjektů aktivní i kontrolní skupiny kromě pěti, u nichž však byly koncentrace alergenů nízké při všech třech měřeních (viz tabulka 18, grafy 9-12).

**Tabulka 18 - Sledování účinnosti protiroztočových opatření pomocí stanovení koncentrace roztočových alergenů v ng/g prachu odebraného z lůžka pacienta a ng/m<sup>2</sup> lůžka pacienta. Čísla 1, 3 a 2 označují číslo návštěvy u pacienta a odběru prachu z lůžka. Žlutě označená políčka označují odběr prachu, při němž mělo dojít k poklesu koncentrace roztočových alergenů, protože po předchozím odběru byla zavedena protiroztočová opatření**

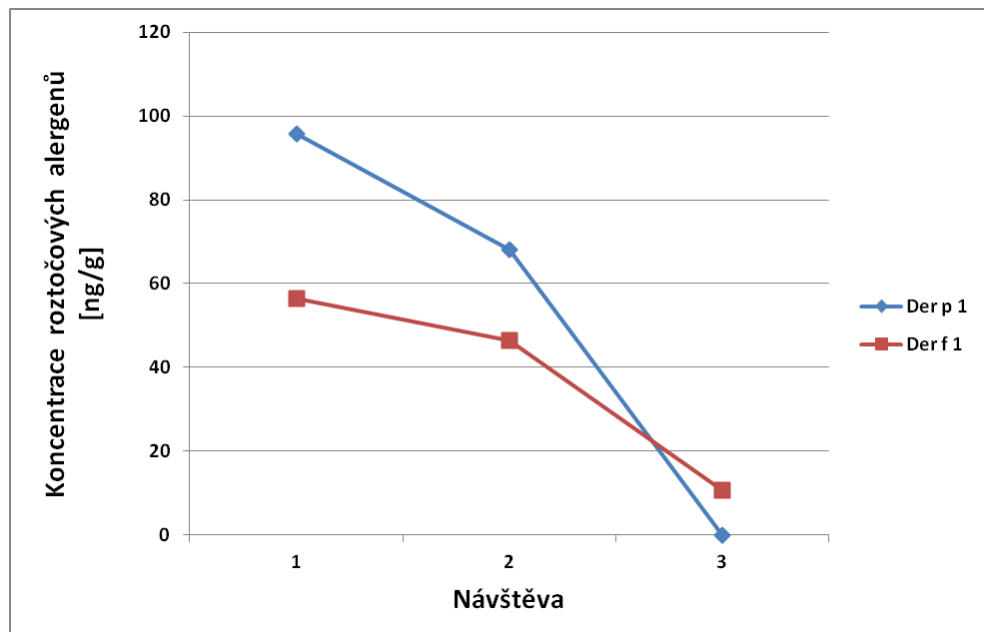
Č.	Rand.	Koncentrace roztočů [ng/g]						Koncentrace roztočů [ng/m <sup>2</sup> ]					
		1 (Der p 1, Der f 1)		2 (Der p 1, Der f 1)		3 (Der p 1, Der f 1)		1 (Der p 1, Der f 1)		2 (Der p 1, Der f 1)		3 (Der p 1, Der f 1)	
1	A	143,6	1183,6	63,1	59,3	133,7	918,2	22,4	184,8	13,4	12,6	24,3	167,1
2	C	50,9	52,5	17,7	0	0	21,5	18,1	18,7	3,9	0	0	6,4
3	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	A	6300	493,3	368,4	208,9	432,4	267,8	787,5	61,7	41,4	23,5	86,1	55,1
5	C	2944,6	5228,6	2560,2	4106,5	82,6	190,9	1500	2663,5	475,3	762,4	5,9	13,6
6	C	6648,2	9105,5	6121,5	9886,8	560,1	132,6	735	1006,7	1472,2	2377,8	60,6	14,3
7	C	100,2	28551	61,5	8490,1	44,4	692,3	27,7	7883,3	28,6	3942,2	15,3	239
8	C	49,7	20856	125,1	12753	0	55,5	19,4	8160	23,7	2417	0	8,2
9	A	1967,2	12470	0	0	551,7	6004,4	1538,1	9750	0	0	187,4	2040
10	A	3432,5	0	811,7	0	1636,7	0	131,4	0	40,7	0	161,7	0
11	C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	A	1195,8	8366,2	445,1	577,3	335,4	977	379,2	2652,8	33,2	43,1	74,9	218,1
13	C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	A	394,4	288,1	46,4	40,1	28,4	26,7	220,6	161,1	9,3	8,1	12,9	12,1
15	A	38,9	651,2	137,9	978,2	107,2	3494,5	22,6	377,8	17,6	124,6	22,8	742,8
16	A	0	58710	0	68,3	0	533,9	0	8621,1	0	3,9	0	150
17	C	629,6	56,5	147,2	28,4	0	53,9	70,6	6,3	40	7,7	0	4,4
18	A	8273,9	2815,2	0	400,1	194,1	967,4	1225	416,8	0	74,6	44,6	222,2
19	C	222	0	74,8	0	0	0	56,9	0	54,2	0	0	0
20	A	775,4	12750	117,7	800,9	163,5	2573,2	149,2	2453,8	56,5	384,6	74,8	1176,9
21	A	544,6	3084,2	349,9	564,7	529,8	1329,8	108,9	616,7	70,6	113,9	111,1	278,9
22	C	0	56,2	0	77,6	0	0	0	8,8	0	8,9	0	0
23	C	0	44,7	0	61,7	0	0	0	9,5	0	6,3	0	0
24	A	1037,5	992,5	739,8	487,6	8446,8	1500,9	153,9	147,2	97,8	64,4	1344,4	238,9
25	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	C	163,4	297	291,9	1326,5	0	119	70,5	128	103	468,2	0	22,7
27	C	494,3	98,9	534,4	30,9	0	0	66	13,2	62,5	3,6	0	0
28	C	91,3	0	53,2	0	0	0	20	0	25,6	0	0	0
29	A	121,5	0	188,6	50,2	1018,8	0	25,6	0	23,2	6,2	21,1	0
30	A	24,1	5032,4	14,4	2148,4	51,3	7298	3,1	623,5	4,9	734,6	15	2135,8

Č., číslo subjektu; Rand., randomizace; A, aktivní skupina; C, kontrolní skupina;

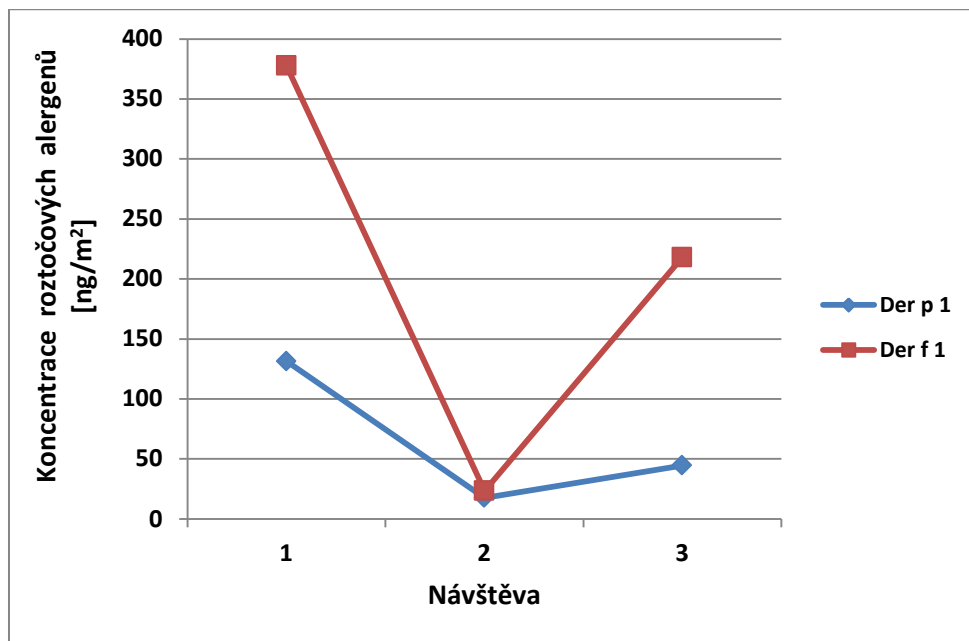
**Graf 9 - Změny mediánu koncentrace roztočových alergenů u aktivní skupiny [ng/g]**



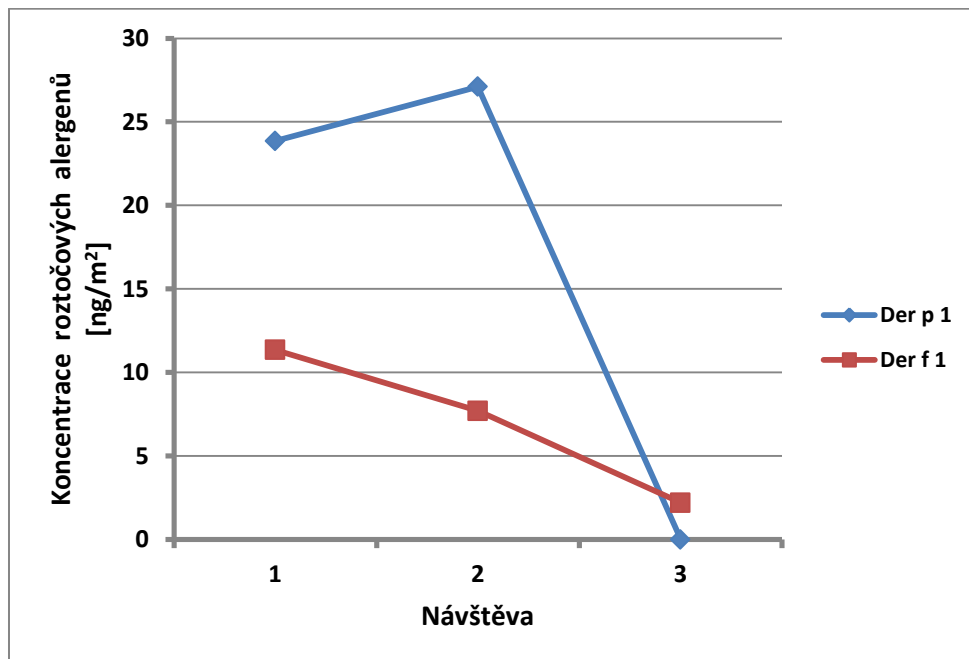
**Graf 10 - Změny mediánu koncentrace roztočových alergenů u kontrolní skupiny [ng/g]**



**Graf 11 - Změny mediánu koncentrace roztočových alergenů u aktivní skupiny [ng/m<sup>2</sup>]**



**Graf 12 - Změny mediánu koncentrace roztočových alergenů u kontrolní skupiny [ng/m<sup>2</sup>]**



## 5 Hodnocení a závěr

### 5.1 Diskuse

Význam vyšetření přecitlivělosti u pacientů s AE je nesporný: alespoň jeden test přecitlivělosti byl pozitivní u 83% z našich pacientů. Jakkoli je toto procento vysoké, je podobné výsledkům jiných studií [152-154]. Koincidence obou typů přecitlivělosti byla rovněž častá (58%) a možná souvisí s úlohou specifických IgE protilátek v patogenezi ekzémových reakcí u APT. Alergen-specifické IgE se mohou vázat na Langerhansovy buňky epidermis, čímž zesilují prezentaci antigenů T lymfocytům, které jsou hlavní výkonnou složkou imunitního systému v reakcích pozdní přecitlivělosti [155].

Kožní reakce vyvolaná APT má velmi blízko a vlastně velmi zdařile napodobuje patofyziologii AE. V našem souboru tyto testy nejčastěji prokázaly pozdní přecitlivělost na roztoče, což je v souladu s výsledky jiných studií [94,152,153]. Poněkud odlišná byla výraznější převaha výskytu časné přecitlivělosti (SPT, specif.IgE) na pylové alergeny nad roztočovými. Vysoký výskyt přecitlivělosti na roztoče potvrzuje výsadní postavení těchto alergenů mezi inhalačními alergeny v patogenezi AE [156]. S roztoči přichází atopický jedinec do úzkého kontaktu již od útlého věku, značná část jejich alergenních složek má enzymatickou aktivitu a kromě možnosti indukce imunologicky zprostředkované reakce působí rovněž dráždivě a prozánětlivě. Senzibilizace na roztoče je častější u pacientů s AE, u nichž jsou rovněž přítomny respirační příznaky alergie [122]. Obecně však mají v útlém dětském věku význam spíše potravinové alergeny a teprve s přibývajícím věkem narůstá význam inhalačních alergenů, mezi nimiž jsou roztoči na prvním místě.

Odlišný byl v naší studii i vyrovnaný výskyt časné a pozdní přecitlivělosti (59% vs. 63%), zatímco v jiných pracích [94,152] byla frekvence časné přecitlivělosti vyšší, možná v důsledku odlišného věkového složení vyšetřovaného souboru. Polyvalentní senzibilizace převažující u obou typů přecitlivělosti (viz tabulky 7-14) je pozoruhodná, nicméně je v souladu se současnými trendy profilů senzibilizace v populaci. Je však patrné, že nám APT umožňují identifikovat podskupinu pacientů s AE, u nichž je, přes negativní výsledek běžných testů, přítomná přecitlivělost, která může podstatně ovlivňovat stav AE. Klinickou relevanci pozdní přecitlivělosti na inhalační alergeny potvrdily studie [94,153].



Předchozí studie [152,154,157] prokázaly vyšší specifickost APT v porovnání s testy časné přecitlivělosti (SPT, specif.IgE). Naše výsledky byly v některých ohledech stejné, ale v jiných odlišné: zatímco senzitivita a specifickost APT byla podobná jako u předchozích studií (viz tabulky 15-17,19), SPT i vyšetření specifických IgE vykazovaly nižší senzitivitu a vyšší specifickost než v předchozích studiích [94,152]. Vysvětlením může být odlišné věkové složení našeho souboru: zatímco medián věku našich pacientů byl 5 let, u předchozích studií činil 22 a 25.5 roku [94,153]. V souvislosti s tím může být důležité, že reakce časné přecitlivělosti na inhalační alergeny se v raném věku vyskytují méně [157], naopak výskyt AE je vyšší [29-31]. A konečně: naše výsledky mohou být odlišné kvůli menšímu počtu subjektů ve studii, kde menší změna může významně ovlivnit konečné výsledky.

**Tabulka 19 - Senzitivita a specifickost APT, SPT a vyšetření specifických IgE podle evropské multicentrické studie (upraveno podle 5)**

	Senzitivita (%)			Specifickost (%)		
	SPT	Specif.IgE	APT	SPT	Specif.IgE	APT
<b>Der.pteronyssinus</b>	<b>68</b>	<b>72</b>	<b>45</b>	<b>50</b>	<b>53</b>	<b>64</b>
<b>Kočí srst</b>	<b>79</b>	<b>80</b>	<b>14</b>	<b>71</b>	<b>69</b>	<b>91</b>
<b>Pyl trav</b>	<b>80</b>	<b>84</b>	<b>28</b>	<b>54</b>	<b>53</b>	<b>91</b>
<b>Pyl břízy</b>	<b>69</b>	<b>73</b>	<b>15</b>	<b>57</b>	<b>52</b>	<b>83</b>
<b>Vaječný bílek</b>	<b>68</b>	<b>59</b>	<b>32</b>	<b>78</b>	<b>85</b>	<b>91</b>
<b>Celer</b>	<b>100</b>	<b>50</b>	<b>33</b>	<b>81</b>	<b>71</b>	<b>91</b>
<b>Pšeničná mouka</b>	<b>30</b>	<b>78</b>	<b>30</b>	<b>85</b>	<b>63</b>	<b>91</b>

Hodnocení stavu AE pomocí klinického skórovacího systému bylo s úspěchem využito při zkoumání klinické relevance přecitlivělosti na potraviny [116]. Vedle námi použitého skórovaného systému (SCORAD) se prokázala vhodnost i dalších skórovacích systémů [158]. To byl také důvod, proč jsme se vyzkoušeli hodnocení klinické relevance testů přecitlivělosti na inhalační alergeny pomocí sledování změn AE pomocí skórovacího systému. Inspirováni sledováním spotřeby úlevové léčby při hodnocení účinnosti protizánětlivé léčby u astmatu jsme zkusili použít pro hodnocení klinické relevance přecitlivělosti také změny spotřeby topické protizánětlivé léčby AE v závislosti na expozici alergenům [159].

Při hodnocení senzitivity a specifickosti testů přecitlivělosti byly výsledky nově vyzkoušených standardů stejné (SCORAD) nebo dokonce horší (AITD) v porovnání s již vyzkoušeným hodnocením klinické relevance

podle anamnézy [94,152]. Obecně hodnocení na základě změn SCORAD vykazovalo poněkud nižší hodnoty specifity testů v porovnání s anamnézou, senzitivita testů byla ještě nižší, zvláště u SPT/specif.IgE a pylových alergenů. Můžeme spekulovat, zda to bylo v důsledku korekce původní nepřesné informace získané z anamnézy přesnějším hodnocením podle změn SCORAD při expozici vyšetřovaným alergenům. Hodnocení relevance výsledků testů přecitlivělosti podle změn spotřeby topických protizánětlivých preparátů (AITD) přineslo slabé a nekonzistentní výsledky. Možným vysvětlením může být silný subjektivní vliv vztahu pacientů nebo jejich rodičů k užití léčbě, např.kortikofobie. V tom může být významný rozdíl oproti sledování užití úlevové léčby (beta-mimetika) u astmatu.

Zajímavé je, že klinická relevance pozitivních výsledků testů stoupla v případech koincidence časně i pozdní přecitlivělosti na stejný alergen (viz tabulka 20). To může podle mého názoru odrážet jednak větší pohotovost těchto nemocných ke vzniku přecitlivělosti jako takové, ale i větší zapojení obou druhů přecitlivělosti do patogeneze AE, který vykazuje jak charakteristiky Th2 tak Th1 odpovědi. V takových případech je zřejmě vliv expozice danému alergenů klinicky významnější [155,160].

**Tabulka 20 - Specifita a senzitivita testů v případě současné časně i pozdní přecitlivělosti na stejný alergen**

	Anamnéza		SCORAD		AITD	
	SE (%)	SP (%)	SE (%)	SP (%)	SE (%)	SP (%)
<b>Bříza</b>	31	86	0	81	20	84
<b>Trávy</b>	50	96	33	89	0	85
<b>Der.pter.</b>	28	89	50	88	0	81
<b>Der.far.</b>	33	88	67	88	0	81

SE, senzitivita; SP, specifita

Při pohledu na křivky SCORAD (viz grafy 6-8) je patrné, že mezi nemocnými s AE existuje skupina, u níž se AE nápadně zhoršuje např. v pylovém období, kdy bývají u většiny nemocných projevy ekzému naopak spíše mírnější. Tato skupina je však relativně malá, alespoň v našem souboru. V zásadě to potvrzuje rozšířený názor, že senzibilizace je u AE velmi častá, klinicky relevantních přecitlivělostí je však podstatně méně [161].

Protiroztočová opatření ukázala u velké většiny našich pacientů dobrý efekt na koncentraci roztočových alergenů v jednom z jejich nejvýznamnějších zdrojů domácnosti - lůžku. Lze samozřejmě diskutovat, zda opatření nemohla být ještě důslednější a přísněji kontrolovaná, nicméně

dle našeho názoru byla pro účely studie dostačující. O účinnosti protiroztočových opatření se vůbec vedou léta diskuze. Pokud se podíváme na výsledky větších studií z posledních let, které byly provedeny v souladu se zásadou „medicíny založené na důkazech“ a zabývaly se spíše respiračními alergózami, jsou závěry nečekaně rozpačité. Velká pozornost byla věnována účinku protiroztočových opatření na astma u osob vnímavých na roztoče. Rozsáhlá metaanalýza 54 studií [162], v nichž byla uplatněna protiroztočová opatření u astmatiků alergických na roztoče, neprokázala podstatný vliv opatření na hlavní ukazatele astmatu (skóre příznaků; spotřeba léků; FEV<sub>1</sub> = usilovný výdech za první vteřinu; ranní a večerní PEF = vrcholová výdechová rychlost; PC<sub>20</sub> = provokační koncentrace metacholinu, která vyvolá pokles FEV<sub>1</sub> o 20%) v porovnání s kontrolní skupinou. Nicméně v případě dětí existují studie, v nichž protiroztočová opatření vedla ke zvýšení počtu dnů bez příznaků a snížení spotřeby inhalačních kortikosteroidů a počtu návštěv pohotovosti [163,164]. Pokud jde o celoroční alergickou rýmu, účinek protiroztočových opatření na onemocnění byl podobný v aktivní i kontrolní skupině. Výše zmíněná metaanalýza [162] vzbudila širokou diskusi a objevily se námitky, zpochybňující její závěry.

## 5.2 Závěr

Prevalence diagnostikované přecitlivělosti je u pacientů s AE vysoká a tato přecitlivělost bývá často namířena proti celé řadě nepříbuzných alergenů. Její klinická relevance ve vztahu k AE se však zdá být omezená. V případě inhalačních alergenů je pouze u malé části pacientů z nižších věkových kategorií patrné, že expozice těmto alergenům ovlivňuje stav AE, nicméně pozitivní výsledek testů přecitlivělosti může mít vztah i k souběžně se rozvíjejícím respiračním alergózám, jakými jsou alergická rinokonjunktivitida nebo průduškové astma. Současná přítomnost časné i pozdní přecitlivělosti na stejný inhalační allergen má vyšší klinickou relevanci než přítomnost přecitlivělosti pouze jednoho typu. To ukazuje na význam vyšetřování pacientů s AE nejen testy časné, ale také pozdní přecitlivělosti. Přínos využití rozboru anamnézy pro hodnocení klinické relevance testů přecitlivělosti u AE se již prokázala, zejména u sezónních alergenů. Sledování změn SCORAD v důsledku expozici alergenům se jeví jako možný prostředek pro hodnocení klinické relevance výsledků testů přecitlivělosti. Naproti tomu sledování změn spotřeby topické protizánětlivé léčby (AITD) jako standardu hodnocení klinické relevance zjištěné přecitlivělosti se u AE nezdá být přínosem, nejspíš kvůli značnému vlivu subjektivního vztahu pacientů nebo jejich rodičů k užití těchto léků.

Hodnocení klinické relevance přecitlivělosti u AE vyžaduje další zkoumání. Žádoucí je zejména nalezení vhodného standardu pro hodnocení u inhalačních alergenů, který by se alespoň přiblížil standardu užívanému u potravinových alergenů (DBPCFC).

## 6 Použitá literatura

1. JOHANSSON, S.G., BIEBER, T., DAHL, R., et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol.*, 2004, May, vol. 113(5), p. 832-6.
2. HANIFIN, J.M., RAJKA, G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol (Stockh)*, 1980, vol. 92 (suppl), p. 44-47.
3. RAJKA, G., et al. Contributions and discussion presented at the 5th International Symposium on Atopic Dermatitis. May 22-25, 1994, Lillehammer, Norway. *Acta Derm Venereol (Stockh)*, 1996, vol. 76 (suppl. 196), p. 115-119, 1996.
4. WILLIAMS, H.C., PEMBROKE, A.C., BURNEY, P.G.F., et al. Community validation of the UK Working Party's diagnostic criteria for atopic dermatitis. *Br J Dermatol*, 1996, vol. 135, p. 12-17.
5. ŠPIČÁK, V., PANZNER, P., et al. *Alergologie*. Galén (Praha), 2004.
6. WILLIAMS, H., ROBERTSON, C., STEWART, A., et al. Worldwide variations in the prevalence of symptoms of atopic eczema in the International Study of Asthma and Allergies in Childhood. , 1999 Jan, vol. 103(1 Pt 1), p. 125-38.
7. BOUAYAD, Z., AICHANE, A., AFIF, A., et al. Prevalence and trend of self-reported asthma and other allergic disease symptoms in Morocco: ISAAC phase I and III. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2006, vol. 10, p. 371-377.
8. ZAR, H.J., EHRLICH, R.I., WORKMAN, L., et al. The changing prevalence of asthma, allergic rhinitis and atopic eczema in African adolescents from 1995 to 2002. *Pediatr Allergy Immunol*, 2007, vol. 18, p. 560-565.
9. ESAMAI, F., AYAYA, S., NYANDIKO, W. Prevalence of asthma, allergic rhinitis and dermatitis in primary school children in Uasin Gishu district, Kenya. *East Afr Med J*, 2002, vol. 79, p. 514-518.
10. WANG, H.Y., ZHENG, J.P., ZHONG, N.S. Time trends in the prevalence of asthma and allergic diseases over 7 years among adolescents in Guangzhou city. *Natl Medical J China*, 2006, vol. 86, p. 1014-1020.
11. KALYONCU, A.F., SELCUK, Z.T., ENUNLU, T., et al. Prevalence of asthma and allergic diseases in primary school children in Ankara, Turkey: two cross-sectional studies, five years apart. *Pediatr Allergy Immunol*, 1999, vol. 10, p. 261-265.
12. OH, J.W., PYUN, B.Y., CHOUNG, J.T., et al. Epidemiological change of atopic dermatitis and food allergy in school-aged children in Korea between 1995 and 2000. *Journal of Korean Medical Science*, 2004, vol. 19, p. 716-723.

13. WANG, X.S., TAN, T.N., SHEK, L.P.C., et al. The prevalence of asthma and allergies in Singapore; data from two ISAAC surveys seven years apart. *Arch Dis Child*, 2004, vol.89, p.423–426.
14. YURA, A., SHIMIZU, T. Trends in the prevalence of atopic dermatitis in school children: longitudinal study in Osaka Prefecture, Japan, from 1985 to 1997. *Br J Dermatol*, 2001, vol.145, p. 966–973.
15. LAUGHTER, D., ISTVAN, J.A., TOFTE, S.J., et al. The prevalence of atopic dermatitis in Oregon schoolchildren. *J Am Acad Dermatol*, 2000 Oct, vol.43(4), p.649-55.
16. CAMELO-NUNES, I.C., WANDALSEN, G.F., MELO, K.C., et al. Prevalence of atopic eczema and associated symptoms in school children. *Jornal de Pediatria (Rio J)*, 2004, vol.80, p.60–64.
17. OLESEN, A.B., BANG, K., JUUL, S., et al. Stable incidence of atopic dermatitis among children in Denmark during the 1990s. *Acta Dermato-Venereologica*, 2005, vol.85, p.244–247.
18. SCHAFER, T., KRAMER, U., VIELUF, D., et al. The excess of atopic eczema in East Germany is related to the intrinsic type. *Br J Dermatol*, 2000, vol.143, p.992–998.
19. RONMARK, E., BJERG, A., PERZANOWSKI, M., et al. Major increase in allergic sensitization in schoolchildren from 1996 to 2006 in northern Sweden. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, vol.124, p.357–363.
20. SHAMSSAIN, M. Trends in the prevalence and severity of asthma, rhinitis and atopic eczema in 6- to 7- and 13- to 14-yr-old children from the north-east of England. *Pediatr Allergy Immunol*, 2007, vol.18, p.149–153.
21. GALASSI, C., DE SARIO, M., BIGGERI, A., et al. Changes in prevalence of asthma and allergies among children and adolescents in Italy: 1994–2002. *Pediatrics*, 2006, vol.117, p.34–42.
22. WEBER, A.S., HAIDINGER, G. The prevalence of atopic dermatitis in children is influenced by their parents' education: results of two cross-sectional studies conducted in Upper Austria. *Pediatr Allergy Immunol*, 2010, vol. 21, p.1028–1035.
23. MAZIAK, W., BEHRENS, T., BRASKY, T.M., et al. Are asthma and allergies in children and adolescents increasing? Results from ISAAC phase I and phase III surveys in Münster, Germany. *Allergy*, 2003, vol.58, p.572–579.
24. BROZEK, G.M., ZEJDA, J.E. Increase in the frequency of diagnosed allergic diseases in children - Fact or artefact? *Pediatrics Polska*, 2004, vol.79, p.385–392.
25. PONSONBY, A.-L., GLASGOW, N., PEZIC, A., et al. A temporal decline in asthma but not eczema prevalence from 2000 to 2005 at school

entry in the Australian Capital Territory with further consideration of country of birth. *Int J Epidemiol*, 2008, vol.37, p.559–569.

26. WAITE, D.A., EYLES, E.F., TONKIN, S.L., et al. Asthma prevalence in Tokelauan children in two environments. *Clin Allergy*, 1980 Jan, vol.10(1), p.71-5.

27. LEUNG, R. Asthma, allergy and atopy in South-east Asian immigrants in Australia. *Aust N Z J Med*, 1994 Jun, vol.24(3), p.255-7.

28. SILVERBERG, J.I., HANIFIN, J.M. Adult eczema prevalence and associations with asthma and other health and demographic factors: A US population-based study. *J Allergy Clin Immunol*, 2013 Nov, vol.132(5), p.1132-8.

29. BINGEFORS, K., SVENSSON, Å., ISACSON, D., et al. Self-reported lifetime prevalence of atopic dermatitis and co-morbidity with asthma and eczema in adulthood: a population-based cross-sectional survey. *Acta Derm Venereol*, 2013 Jul 6, vol.93(4), p.438-41.

30. FALK, E.S. Atopic diseases in Norwegian Lapps. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)*, 1993, vol.182, p.10-4.

31. HERD, R.M., TIDMAN, M.J., PRESCOTT, R.J., et al. Prevalence of atopic eczema in the community: the Lothian Atopic Dermatitis study. *Br J Dermatol*, 1996 Jul, vol.135(1), p.18-9.

32. BIEBER, T., LEUNG, D.Y.M. et al. Atopic dermatitis. New York, 2002. Marcel Dekker.

33. HOWARTH, P.H. Is allergy increasing?--early life influences. *Clin Exp Allergy*, 1998 Dec, vol.28 Suppl 6, p.2-7.

34. AÏT-KHALED, N., PEARCE, N., ANDERSON, H.R., et al. ISAAC Phase Three Study Group. Global map of the prevalence of symptoms of rhinoconjunctivitis in children: The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase Three. *Allergy*, 2009 Jan, vol.64(1), p.123-48.

35. MALLOL, J., CRANE, J., VON MUTIUS E., et al. ISAAC Phase Three Study Group. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase Three: a global synthesis. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2013 Mar-Apr, vol.41(2), p.73-85.

36. LAI, C.K., BEASLEY, R., CRANE, J., et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood Phase Three Study Group. Global variation in the prevalence and severity of asthma symptoms: phase three of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax*, 2009 Jun, vol.64(6), p.476-83.

37. ASHER, M.I., MONTEFORT, S., BJÖRKSTÉN, B. ISAAC Phase Three Study Group. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC

- Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet*, 2006 Aug 26, vol.368(9537), p.733-43.
38. ZUBERBIER, T., BALKE, M., WORM, M., et al. Epidemiology of urticaria: a representative cross-sectional population survey. *Clin Exp Dermatol*, 2010 Dec, vol.35(8), p.869-73.
39. YOCUM, M.W., BUTTERFIELD, J.H., KLEIN, J.S., et al. Epidemiology of anaphylaxis in Omlsted County: A population based study. *J Allergy Clin Immunol*, 1999 Aug, vol.104(2 Pt 1), p.452-6.
40. BOHLKE, K., DAVIS, R.L., DE STEFANO, F., et al. Vaccine Safety Datalink Team. Epidemiology of anaphylaxis among children and adolescents enrolled in a health maintenance organization. *J Allergy Clin Immunol*, 2004 Mar, vol.113(3), p.536-42.
41. BRAGANZA, S.C., ACWORTH, J.P., MC KINNON, D.R., et al. Paediatric emergency department anaphylaxis: different patterns from adults. *Arch Dis Child*, 2006 Feb, vol.91(2), p.159-63.
42. MACDOUGALL, C.F., CANT, A.J., COLVER, A.F.. How dangerous is food allergy in childhood? The incidence of severe and fatal allergic reactions across the UK and Ireland. *Arch Dis Child*, 2002 Apr, vol.86(4), p.236-9.
43. MONERET-VAUTRIN, D.A., MORISSET, M., FLABBEE, J., et al. Epidemiology of life-threatening and lethal anaphylaxis: a review. *Allergy*, 2005 Apr, vol.60(4), p.443-51.
44. HØST, A., HALKEN, S., JACOBSEN, H.P., et al. Clinical course of cow's milk protein allergy/intolerance and atopic diseases in childhood. *Pediatr Allergy Immunol*, 2002, vol.13 Suppl 15, p.23-8.
45. LUOMA, R., KOIVIKKO, A., VIANDER, M. Development of asthma, allergic rhinitis and atopic dermatitis by the age of five years. A prospective study of 543 newborns. *Allergy*, 1983, vol.38(5), p.339-346.
46. BRUIJNZEEL-KOOMEN, C.A., MUDDE, C.G., KAPP, A. Atopic dermatitis. In Kay AB (Ed.), *Allergy and Allergic diseases*. Oxford: Blackwell Science, 1997.
47. SCHULTZ-LARSEN, F. Atopic dermatitis: a genetic-epidemiologic study in a population-based twin sample. *J Am Acad Dermatol*, 1993, vol.28(5 Pt 1), p.719-723.
48. MC GRATH, J.A., UITTO, J. The filaggrin story: novel insights into skin-barrier function and disease. *Trends Mol Med*, 2008 Jan, vol.14(1), p.20-7.
49. WEIDINGER, S., ILLIG, T., BAURECHT, H., et al. Loss-of-function variations within the filaggrin gene predispose for atopic dermatitis with



allergic sensitizations. *J Allergy Clin Immunol*, 2006 Jul, vol.118(1), p.214-9.

50. WALLEY, A.J., CHAVANAS, S., MOFFATT, M.F., et al. Gene polymorphism in Netherton and common atopic disease. *Nat Genet*, 2001 Oct, vol.29(2), p.175-8.

51. ESPARZA-GORDILLO, J., WEIDINGER, S., FOLSTER-HOLST, R., et al. A common variant on chromosome 11q13 is associated with atopic dermatitis. *Nat Genet*, 2009, vol.41(5), p.596-601.

52. BIEBER, T. Atopic dermatitis. *Ann Dermatol*, 2010 May, vol.22(2), p.125-37.

53. AHMAD-NEJAD, P., MRABET-DAHBI, S., BREUER, K., et al. The toll-like receptor 2 R753Q polymorphism defines a subgroup of patients with atopic dermatitis having severe phenotype. *J Allergy Clin Immunol*, 2004 Mar, vol.113(3), p.565-7.

54. WEIDINGER, S., KLOPP, N., RUMMLER, L., et al. Association of NOD1 polymorphisms with atopic eczema and related phenotypes. *J Allergy Clin Immunol*, 2005 Jul, vol.116(1), p.177-84.

55. ONG, P.Y., OHTAKE, T., BRANDT, C., et al. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N Engl J Med*, 2002 Oct 10, vol.347(15), p.1151-60.

56. HOWELL, M.D., WOLLENBERG, A., GALLO, R.L., et al. Cathelicidin deficiency predisposes to eczema herpeticum. *J Allergy Clin Immunol*, 2006 Apr, vol.117(4), p.836-41.

57. HOWELL, M.D. The role of human beta defensins and cathelicidins in atopic dermatitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2007 Oct, vol.7(5), p.413-7.

58. HOFFJAN, S., EPPLEN, J.T. The genetics of atopic dermatitis: recent findings and future options. *J Mol Med (Berl)*, 2005 Sep, vol.83(9), p.682-92.

59. MAINTZ, L., NOVAK, N. Getting more and more complex: the pathophysiology of atopic eczema. *Eur J Dermatol*, 2007 Jul-Aug, vol.17(4), p.267-83.

60. NOVAK, N., KRUSE, S., KRAFT, S., et al. Dichotomic nature of atopic dermatitis reflected by combined analysis of monocyte immunophenotyping and single nucleotide polymorphisms of the interleukin-4/interleukin-13 receptor gene: the dichotomy of extrinsic and intrinsic atopic dermatitis. *J Invest Dermatol*, 2002 Oct, vol.119(4), p.870-5.

61. NOVAK, N., KRUSE, S., POTRECK, J., et al. Single nucleotide polymorphisms of the IL18 gene are associated with atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol*, 2005 Apr, vol.115(4), p.828-33.

62. MC GIRT, L.Y., BECK, L.A. Innate immune defects in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 2006 Jul, vol.118(1), p.202-8.
63. NOMURA, I., GOLEVA, E., HOWELL, M.D., et al. Cytokine milieu of atopic dermatitis, as compared to psoriasis, skin prevents induction of innate immune response genes. *J Immunol*, 2003 Sep 15, vol.171(6), p.3262-9.
64. HAMID, Q., BOGUNIEWICZ, M., LEUNG, D.Y. Differential in situ cytokine gene expression in acute versus chronic atopic dermatitis. *J Clin Invest*, 1994 Aug, vol.94(2), p.870-6.
65. KIMURA, M., TSURUTA, S., YOSHIDA, T. Correlation of house dust mite-specific lymphocyte proliferation with IL-5 production, eosinophilia, and the severity of symptoms in infants with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 1998 Jan, vol.101(1 Pt 1), p-84-9.
66. PARK, J.H., CHOI, Y.L., NAMKUNG, J.H., et al. Characteristics of extrinsic vs. intrinsic atopic dermatitis in infancy: correlations with laboratory variables. *Br J Dermatol*, 2006 Oct, vol.155(4), p.778-83.
67. GREWE, M., BRUIJNZEEL-KOOMEN, C.A., SCHÖPF, E., et al. A role for Th1 and Th2 cells in the immunopathogenesis of atopic dermatitis. *Immunol Today*, 1998 Aug, vol.19(8), p.359-61.
68. TODA, M., LEUNG, D.Y., MOLET, S., et al. Polarized in vivo expression of IL-11 and IL-17 between acute and chronic skin lesions. *J Allergy Clin Immunol*, 2003 Apr, vol.111(4), p.875-81.
69. HOMEY, B., STEINHOFF, M., RUZICKA, T., et al. Cytokines and chemokines orchestrate atopic skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 2006 Jul, vol.118(1), p.178-89.
70. KIM, B.E., LEUNG, D.Y., STREIB, J.E., et al. Macrophage inflammatory protein 3alpha deficiency in atopic dermatitis skin and role in innate immune response to vaccinia virus. *J Allergy Clin Immunol*, 2007 Feb, vol.119(2), p.457-63.
71. GREWE, M., WALTHER, S., GYUFKO, K., et al. Analysis of the cytokine pattern expressed in situ in inhalant allergen patch test reactions of atopic dermatitis patients. *J Invest Dermatol*, 1995 Sep, vol.105(3), p.407-10.
72. SOUMELIS, V., RECHE, P.A., KANZLER, H., et al. Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP. *Nat Immunol*, 2002 Jul, vol.3(7), p.673-80.
73. CARDONA, I.D., GOLEVA, E., OU, L.S., ET AL. Staphylococcal enterotoxin B inhibits regulatory T cells by inducing glucocorticoid-induced TNF receptor-related protein ligand on monocytes. *J Allergy Clin Immunol*, 2006 Mar, vol.117(3), p.688-95.

74. NOVAK, N., KRAFT, S., BIEBER, T. IgE receptors. *Curr Opin Immunol*, 2001 Dec, vol.13(6), p.721-6.
75. MORAR, N., WILLIS-OWEN, S.A., MOFFATT, M.F., et al. The genetics of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 2006 Jul, vol.118(1), p.24-34.
76. ALLAM, J.P., KLEIN, E., BIEBER, T., et al. Transforming growth factor-beta1 regulates the expression of the high-affinity receptor for IgE on CD34 stem cell-derived CD1a dendritic cells in vitro. *J Invest Dermatol*, 2004 Oct, vol.123(4), p.676-82.
77. NOVAK, N., TEPEL, C., KOCH, S., et al. Evidence for a differential expression of the FcepsilonRIgamma chain in dendritic cells of atopic and nonatopic donors. *J Clin Invest*, 2003 Apr, vol.111(7), p.1047-56.
78. NOVAK, N., KRAFT, S., HABERSTOK, J., et al. A reducing microenvironment leads to the generation of FcepsilonRIhigh inflammatory dendritic epidermal cells (IDEC). *J Invest Dermatol*, 2002 Oct, vol.119(4), p.842-9.
79. KERSCHENLOHR, K., DECARD, S., PRZYBILLA, B., et al. Atopy patch test reactions show a rapid influx of inflammatory dendritic epidermal cells in patients with extrinsic atopic dermatitis and patients with intrinsic atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 2003 Apr, vol.111(4), p.869-74.
80. WOLLENBERG, A., WEN, S., BIEBER, T. Langerhans cell phenotyping: a new tool for differential diagnosis of inflammatory skin diseases. *Lancet*, 1995 Dec 16, vol.346(8990), p.1626-7.
81. NOVAK, N., VALENTA, R., BOHLE, B., et al. FcepsilonRI engagement of Langerhans cell-like dendritic cells and inflammatory dendritic epidermal cell-like dendritic cells induces chemotactic signals and different T-cell phenotypes in vitro. *J Allergy Clin Immunol*, 2004 May, vol.113(5), p.949-57.
82. STARY, G., BANGERT, C., STINGL, G., et al. Dendritic cells in atopic dermatitis: expression of FcepsilonRI on two distinct inflammation-associated subsets. *Int Arch Allergy Immunol*, 2005 Dec, vol.138(4), p.278-90.
83. NOVAK, N., ALLAM, J.P., HAGEMANN, T., et al. Characterization of FcepsilonRI-bearing CD123 blood dendritic cell antigen-2 plasmacytoid dendritic cells in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 2004 Aug, vol.114(2), p.364-70.
84. WOLLENBERG, A., WAGNER, M., GÜNTHER, S., et al. Plasmacytoid dendritic cells: a new cutaneous dendritic cell subset with distinct role in inflammatory skin diseases. *J Invest Dermatol*, 2002 Nov, vol.119(5), p.1096-102.

85. SCHMID-GRENDELMEIER, P., FLÜCKIGER, S., DISCH, R., et al. IgE-mediated and T cell-mediated autoimmunity against manganese superoxide dismutase in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 2005 May, vol.115(5), p.1068-75.
86. MITTERMANN, I., REININGER, R., ZIMMERMANN, M., et al. The IgE-reactive autoantigen Hom s 2 induces damage of respiratory epithelial cells and keratinocytes via induction of IFN-gamma. *J Invest Dermatol*, 2008 Jun, vol.128(6), p.1451-9.
87. MOTHE, N., NIGGEMANN, B., JENNECK, C., et al. The cradle of IgE autoreactivity in atopic eczema lies in early infancy. *J Allergy Clin Immunol*, 2005 Sep, vol.116(3), p.706-9.
88. PASTORE, S., GIUSTIZIERI, M.L., MASCIA, F., et al. Dysregulated activation of activator protein 1 in keratinocytes of atopic dermatitis patients with enhanced expression of granulocyte/macrophage-colony stimulating factor. *J Invest Dermatol*, 2000 Dec, vol.115(6), p.1134-43.
89. SAMPSON, H.A. Atopic dermatitis: immunological mechanisms in relation to phenotype. *Pediatr Allergy Immunol*, 2001, vol.12 Suppl 14, p.62-8.
90. SCHMID-GRENDELMEIER, P., SIMON, D., SIMON, H.U., et al. Epidemiology, clinical features, and immunology of the "intrinsic" (non-IgE-mediated) type of atopic dermatitis (constitutional dermatitis). *Allergy*, 2001 Sep, vol.56(9), p.841-9.
91. BURKS, A.W., JAMES, J.M., HIEGEL, A., et al. Atopic dermatitis and food hypersensitivity reactions. *J Pediatr*, 1998, vol.132, p.132-136.
92. ORANJE, A.P., WOLKERSTORFER, A., DE WAARD-VAN DER SPEK, F.B. Natural course of cow's milk allergy in childhood atopic eczema/dermatitis syndrome. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2002 Dec, vol.89(6 Suppl 1), p.52-55.
93. CANTANI, A., MICERA, M. Natural history of cow's milk allergy. An eight-year follow-up study in 115 atopic children. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2004 Jul-Aug, vol.8(4), p.153-64.
94. DARSOW, U., LAIFAOU, J., KERSCHENLOHR, K., et al. The prevalence of positive reactions in the atopy patch test with aeroallergens and food allergens in subjects with atopic eczema: a European multicenter study. *Allergy*, 2004 Dec, vol.59(12), p.1318-25.
95. SAMPSON, H.A. Update on food allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 2004, vol.113, p.805-19.
96. TURJANMAA, K., DARSOW, U., NIGGEMANN, B., et al. EAACI/GA2LEN Position paper: Present status of the atopy patch test. *Allergy*, 2006, vol.61, p.1377-1384.

97. MIHM, M.C.J.R., SOTER, N.A., DVORAK, H.F., et al. The structure of normal skin and the morphology of atopic eczema. *J Invest Dermatol*, 1976 Sep, vol.67(3), p.305-12.
98. PASTERNAK, B. The prediction of asthma in infant eczema. *J Pediatr*, 1965 Jan, vol.66:SUPPL, p.164-5.
99. STIFLER, W. A twenty-one year follow-up of infantile eczema. *J Pediatrics*, 1965, vol.66, p.166-167.
100. National Institute of Allergy and Infectious Disease Task Force Report. Dermatologic Allergy, asthma and the other allergic diseases. 1979.
101. JOHNSON, E., IRONS, J., PATTERSON, R., ET AL. Serum IgE concentration in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 1974, vol.59, p.94-99.
102. SAMPSON, H.A. Atopic dermatitis. *Ann Allergy*, 1992, vol.69, p.469-479.
103. HOFFMAN, D.R. Diagnosis of IgE mediated reactions to food antigens by radioimmunoassay. *Clin Immunol*, 1975, vol.55, p.256-267.
104. JØHNKE, H., NORBERG, L.A., VACH, W., et al. Patterns of sensitization in infants and its relation to atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol*, 2006 Dec, vol.17(8), p.591-600.
105. RENNICK, G.J., MOORE, E., ORCHARD, D.C. Skin prick testing to food allergens in breast-fed young infants with moderate to severe atopic dermatitis. *Australas J Dermatol*, 2006 Feb, vol.47(1), p.41-5.
106. EIGENMANN, P.A., SICHERER, S.H., BORKOWSKI, T.A., et al. Prevalence of IgE-mediated food allergy among children with atopic dermatitis. *Pediatrics*, 1998 Mar, vol.101(3):E8.
107. GARCÍA, C., EL-QUTOB, D., MARTORELL, A., et al. Sensitization in early age to food allergens in children with atopic dermatitis. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2007 Jan-Feb, vol.35(1), p.15-20.
108. SAMPSON, H.A. The evaluation and management of food allergy in atopic dermatitis. *Clin Dermatol*, 2003 May-Jun, vol.21(3), p.183-92.
109. BURKS, A.W., MALLORY, S.B., WILLIAMS, L.W., et al. Atopic dermatitis: clinical relevance of food hypersensitivity reactions. *J Pediatr*, 1988 Sep, vol.113(3), p.447-51.
110. LEVER, R., MACDONALD, C., WAUGH, P., et al. Randomised controlled trial of advice on an egg exclusion diet in young children with atopic eczema and sensitivity to eggs. *Pediatr Allergy Immunol*, 1998 Feb, vol.9(1), p.13-9.

111. RANCÉ, F. What is the value of allergologic tests for the diagnosis and management of atopic dermatitis? *Ann Dermatol Venereol*, 2005 Jan, vol.132 Spec No 1, p.1S53-63.
112. SICHERER, S.H., SAMPSON, H.A. Food hypersensitivity and atopic dermatitis: pathophysiology, epidemiology, diagnosis, and management. *J Allergy Clin Immunol*, 1999 Sep, vol.104(3 Pt 2), p.S114-22.
113. REEKERS, R., BUSCHE, M., WITTMANN, M., et al. Birch pollen-related foods trigger atopic dermatitis in patients with specific cutaneous T-cell responses to birch pollen antigens. *J Allergy Clin Immunol*, 1999 Aug, vol.104(2 Pt 1), p.466-72.
114. WERFEL, T., AHLERS, G., SCHMIDT, P., et al. Milk-responsive atopic dermatitis is associated with a casein-specific lymphocyte response in adolescent and adult patients. *J Allergy Clin Immunol*, 1997 Jan, vol.99(1 Pt 1), p.124-33.
115. WORM, M., FORSCHNER, K., LEE, H.H., et al. Frequency of atopic dermatitis and relevance of food allergy in adults in Germany. *Acta Derm Venereol*, 2006, vol.86(2), p.119-22.
116. WERFEL, T., BALLMER-WEBER, B., EIGENMANN, P.A., et al. Eczematous reactions to food in atopic eczema: position paper of the EAACI and GA2LEN. *Allergy*, 2007 Jul, vol.62(7), p.723-8.
117. CELIK-BILGILI, S., MEHL, A., VERSTEGE, A., et al. The predictive value of specific immunoglobulin E levels in serum for the outcome of oral food challenges. *Clin Exp Allergy*, 2005 Mar, vol.35(3), p.268-73.
118. NIGGEMANN, B., SIELAFF, B., BEYER, K., et al. Outcome of double-blind, placebo-controlled food challenge tests in 107 children with atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy*, 1999 Jan, vol.29(1), p.91-6.
119. BREUER, K., HERATIZADEH, A., WULF, A., et al. Late eczematous reactions to food in children with atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy*, 2004 May, vol.34(5), p.817-24.
120. RING, J., DARSOW, U., GFESSER, M., et al. The 'atopy patch test' in evaluating the role of aeroallergens in atopic eczema. *Int Arch Allergy Immunol*, 1997 May-Jul, vol.113(1-3), p.379-83.
121. SCALABRIN, D.M., BAVBEK, S., PERZANOWSKI, M.S., et al. Use of specific IgE in assessing the relevance of fungal and dust mite allergens to atopic dermatitis: a comparison with asthmatic and nonasthmatic control subjects. *J Allergy Clin Immunol*, 1999 Dec, vol.104(6), p.1273-9.
122. FUIANO, N., FUSILLI, S., INCORVAIA, C. House dust mite-related allergic diseases: role of skin prick test, atopy patch test, and RAST in the diagnosis of different manifestations of allergy. *Eur J Pediatr*, 2010 Jul, vol.169(7), p.819-24.

123. VAN REIJSEN, F.C., FELIUS, A., WAUTERS, E.A., et al. T-cell reactivity for a peanut-derived epitope in the skin of a young infant with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 1998, vol.101, p.207-209.
124. ARSHAD, S.H., BATEMAN, B., SADEGHNEJAD, A., et al. Prevention of allergic disease during childhood by allergen avoidance: the Isle of Wight prevention study. *J Allergy Clin Immunol*, 2007 Feb, vol.119(2), p.307-13.
125. ROBERTS, D.L. House dust mite avoidance and atopic dermatitis. *Br J Dermatol*, 1984 Jun, vol.110(6), p.735-6.
126. TAN, B.B., WEALD, D., STRICKLAND, I., et al. Double-blind controlled trial of effect of housedust-mite allergen avoidance on atopic dermatitis. *Lancet*, 1996 Jan 6, vol.347(8993), p.15-8.
127. CARSWELL, F., THOMPSON, S. Does natural sensitisation in eczema occur through the skin? *Lancet*, 1986 Jul 5, vol.2(8497), p.13-5.
128. TUPKER, R.A., DE MONCHY, J.G., COENRAADS, P.J., et al. Induction of atopic dermatitis by inhalation of house dust mite. *J Allergy Clin Immunol*, 1996 May, vol.97(5), p.1064-70.
129. DARSOW, U. Allergen-specific immunotherapy for atopic eczema: updated. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2012 Dec, vol.12(6), p.665-9.
130. ADINOFF, A.D., CLARK, R.A.E. The allergic nature of atopic dermatitis. *Immunol Allergy Parcxi*, 1989, p.17-28.
131. LEUNG, D.Y., HARBECK, R., BINA, P., et al. Presence of IgE antibodies to staphylococcal exotoxins on the skin of patients with atopic dermatitis. Evidence for a new group of allergens. *J Clin Invest*, 1993, vol.92, p.1374-1380.
132. LEUNG, D.Y., SCHLIEVERT, P.M. Superantigens in human disease: future directions in therapy and elucidation of disease pathogenesis. *Superantigeny: molecular biology, immunology and relevance to human disease*. Marcel Dekker, New York, 1997, p.581-602.
133. SKOV, L., OLSEN, J.V., GIORNO, R., et al. Application of Staphylococcal enterotoxin B on normal and atopic skin induces up-regulation of T cells by a superantigen-mediated mechanism. *J Allergy Clin Immunol*, 2000, vol.105, p.820-826.
134. NISSEN, D., PETERSEN, L.J., ESCH, R., et al. IgE-sensitization to cellular and culture filtrates of fungal extracts in patients with atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 1998 Sep, vol.81(3), p.247-55.
135. BROBERG, A., FAERGEMANN, J. Topical antimycotic treatment of atopic dermatitis in the head/neck area. A double-blind randomised study. *Acta Derm Venereol*, 1995 Jan, vol.75(1), p.46-9.

136. MANZINI, B.M., FERDANI, G., SIMONETTI, V., et al. Contact sensitization in children. *Pediatr Dermatol*, 1998 Jan-Feb, vol.15(1), p.12-7.
137. MORTZ, C.G., ANDERSEN, K.E. Allergic contact dermatitis in children and adolescents. *Contact Dermatitis*, 1999 Sep, vol.41(3), p.121-30.
138. PETRŮ, V., et al. *Dětská alergologie*. Praha. Mladá fronta, 2012.
139. KUO, I.H., Yoshida, T., De Benedetto, A., et al. The cutaneous innate immune response in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 2013 Feb, vol.131(2), p.266-78.
140. MC ALEER, M.A., IRVINE, A.D. The multifunctional role of filaggrin in allergic skin disease. *J Allergy Clin Immunol*, 2013 Feb, vol.131(2), p.280-91.
141. CORK, M.J., DANBY, S.G., VASILOPOULOS, Y., et al. Epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol*, 2009 Aug, vol.129(8), p.1892-908.
142. IRVINE, A.D., MC LEAN, W.H., LEUNG, D.Y. Filaggrin mutations associated with skin and allergic diseases. *N Engl J Med*, 2011 Oct 6, vol.365(14), p.1315-27.
143. BROWN, S.J., KROBOTH, K., SANDILANDS, A., et al. Intragenic copy number variation within filaggrin contributes to the risk of atopic dermatitis with a dose-dependent effect. *J Invest Dermatol*, 2012 Jan, vol.132(1), p.98-104.
144. BROCCARDO, C.J., MAHAFFEY, S., SCHWARZ, J., et al. Comparative proteomic profiling of patients with atopic dermatitis based on history of eczema herpeticum infection and *Staphylococcus aureus* colonization. *J Allergy Clin Immunol*, 2011 Jan, vol.127(1), p.186-93, 193.
145. DE BENEDETTO, A., RAFAELS, N.M., MC GIRT, L.Y., et al. Tight junction defects in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 2011 Mar, vol.127(3), p.773-86.
146. BURR, G.O., BURR, M.M. New deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *J Biol Chem*, 1929, vol.82, p.345-367.
147. HORROBIN, D.F. Essential fatty acid metabolism and its modification in atopic eczema. *Am J Clin Nutr*, 2000, vol.71(1 Suppl), p.367S-72S.
148. KAPOOR, R., MENON, C., HOFFSTAD, O., et al. The prevalence of atopic triad in children with physician-confirmed atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol*, 2008, vol.58, p.68-73.
149. LEUNG, D.Y. New insights into atopic dermatitis: role of skin barrier and immune dysregulation. *Allergol Int*, 2013 Jun, vol.62(2), p.151-61.



150. VAN STRIEN, R.T., KOOPMAN, P., KERKHOF, M., et al. Mite and Pet Allergen Levels in Homes of Children Born to Allergic and Nonallergic Parents: The PIAMA Study. *Environ Health Perspect*, 2002, vol.110, p.A693-8.
151. DAVIES, R.R., SMITH, L.P. Forecasting the start and severity of the hay fever season. *Clin Allergy*, 1973, vol.3, p.263–267.
152. DARSOW U, VIELUF D, RING J. Evaluating the relevance of aeroallergen sensitization in atopic eczema with the atopy patch test: a randomized, double-blind multicenter study. Atopy Patch Test Study Group. *J Am Acad Dermatol*, 1999, vol.40(2 Pt 1), p.187-193.
153. SAMOCHOCKI, Z., OWCZAREK, W., ZABIELSKI, S. Can atopy patch tests with aeroallergens be an additional diagnostic criterion for atopic dermatitis? *Eur J Dermatol*, 2006 Mar-Apr, vol.16(2), p.151-4.
154. BORALEVI, F., HUBICHE, T., LÉAUTÉ-LABRÈZE, C., et al. Epicutaneous aeroallergen sensitization in atopic dermatitis infants - determining the role of epidermal barrier impairment. *Allergy*, 2008 Feb, vol.63(2), p.205-10.
155. MAURER, D., EBNER, C., REININGER, B., et al. The high affinity IgE receptor mediates IgE-dependent allergen presentation. *J Immunol*, 1995, vol.154, p.6285-6290.
156. FUIANO, N., INCORVAIA, C. Dissecting the cause of atopic dermatitis in children: less foods, more mites. *Allergol Int*, 2012 Jun, vol.61(2), p.231-43.
157. WANG, I.J., LIN, Y.T., YANG, Y.H., et al. Correlation between age and allergens in pediatric atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2004 Oct, vol.93(4), p.334-8.
158. RICCI, G., DONDI, A., PATRIZI, A. Useful tools for the management of atopic dermatitis. *Am J Clin Dermatol*, 2009, vol.10(5), p.287-300.
159. FAURSCHOU, P., BING, J., EDMAN, G., et al. Comparison between sodium cromoglycate (MDI: metered-dose inhaler) and beclomethasone dipropionate (MDI) in treatment of adult patients with mild to moderate bronchial asthma. A double-blind, double-dummy randomized, parallel-group study. *Allergy*, 1994 Sep, vol.49(8), p.659-63.
160. VAN REIJSSEN, F.C., BRUIJNZEEL-KOOMEN, C.A.F.M., KALTHOFF, F.S., et al. Skin-derived aeroallergen-specific T-cell clones of TH2 phenotype in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 1992, vol.90, p.184-192.
161. GOODWIN, H. Eczema and Allergy: how useful is allergy testing? *Paediatr Nurs*, 2008 Dec, vol.20(10), p.25-30.

162. GØTZSCHE, P.C., JOHANSEN, H.K. House dust mite control measures for asthma: systematic review. *Allergy*, 2008 Jun, vol.63(6), p.646-59. Review.

163. HALKEN, S., HØST, A., NIKLASSEN, U., et al. Effect of mattress and pillow encasings on children with asthma and house dust mite allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 2003 Jan, vol.111(1), p.169-76.

164. MORGAN, W.J., CRAIN, E.F., GRUCHALLA, R.S., et al. Inner-City Asthma Study Group. Results of a home-based environmental intervention among urban children with asthma. *N Engl J Med*, 2004 Sep 9, vol.351(11), p.1068-80.

# 7 Přílohy

## *Příloha 1*

### **Informovaný souhlas:**

Vážení rodiče,

vaše dítě bylo zařazeno do studie, jenž si klade za cíl zlepšit diagnostiku alergií, které významně ovlivňují průběh a další vývoj atopického ekzému i dalších onemocnění podobného charakteru (např. astma, senná rýma). Kromě vyšetření, která běžně provádíme (kožní prick-testy, vyšetření krve na specifické protilátky), bude vaše dítě vyšetřeno tzv. náplastovými testy atopie (atopy patch testy). Jde o vyšetření podobné běžně používaným kožním prick-testům, alergen se však při nich aplikuje na kůži zad, kde se po přelepení náplastí ponechá celkem tři dny. Po dvou dnech provedeme sejmutí náplastí a odečteme výsledek a totéž zopakujeme o den později. V případě positivity se v místě aplikace alergenu vytvoří zarudnutí, pupínky, při silné reakci mohou vzniknout až puchýřky. Případné problémy bude samozřejmě řešit lékař našeho pracoviště.

Lékařem budete vyzváni, abyste vyplnili dotazník ukazující na výskyt zhoršení ekzému po kontaktu s vyšetřovanými alergeny. V průběhu 1 roku se bude jednou měsíčně určovat stav ekzému pomocí skórovacího systému a spotřeba mastí obsahujících kortikoidy, což by mělo odrážet tíži obtíží. Současně bude v určený čas všem dětem ve studii zaveden na dobu 6 týdnů režim snižující výskyt roztočů v domácím prostředí a následně budeme pomocí skórovacího systému sledovat, zda jsou tato opatření účinnější u pacientů s prokázanou přecitlivělostí na roztoče či nikoli. Pokud si to budete přát, je možné ze studie po dohodě s lékařem kdykoli vystoupit

Souhlasím s tím, aby mé dítě bylo zařazeno do této studie.

Datum

Podpis rodičů

## **DOTAZNÍK studie Atopy patch testy**

**Ústav imunologie a alergologie FN Plzeň-Lochotín**

**Jméno:** .....

**Rodné číslo:** .....

**1. Pozorujete zhoršování ekzému v dubnu nebo v první polovině května ?**

**ANO                      NE**

**2. Pozorujete zhoršování ekzému v druhé polovině května, v červnu nebo červenci ?**

**ANO                      NE**

**3. Pozorujete zhoršování ekzému při kontaktu s domácím prachem ?**

**ANO                      NE**

**Datum:** .....

**Podpis:** .....

**Příloha 3**

Jméno a příjmení dítěte: .....						Datum narození		
Týden od ..... do .....								
Užitý kortikoid	Pondělí	Úterý	Středa	Čtvrtek	Pátek	Sobota	Neděle	
Týden od ..... do .....								
Užitý kortikoid	Pondělí	Úterý	Středa	Čtvrtek	Pátek	Sobota	Neděle	
Týden od ..... do .....								
Užitý kortikoid	Pondělí	Úterý	Středa	Čtvrtek	Pátek	Sobota	Neděle	
Týden od ..... do .....								
Užitý kortikoid	Pondělí	Úterý	Středa	Čtvrtek	Pátek	Sobota	Neděle	
Týden od ..... do .....								
Užitý kortikoid	Pondělí	Úterý	Středa	Čtvrtek	Pátek	Sobota	Neděle	
Týden od ..... do .....								
Užitý kortikoid	Pondělí	Úterý	Středa	Čtvrtek	Pátek	Sobota	Neděle	
Týden od ..... do .....								
Užitý kortikoid	Pondělí	Úterý	Středa	Čtvrtek	Pátek	Sobota	Neděle	

#### ***Příloha 4***

Lůžko pacienta bude vybaveno protiroztočovými povlaky (© Protec'Som, France) na matraci, polštář a peřinu. Lůžkoviny se budou prát v pračce jednou za 2 týdny na 60°C. Po dobu sledování nebude dítě spát s matkou v posteli. Místnosti, kde se dítě vyskytuje, budou jednou týdně důkladně vysávány vysavačem s HEPA filtrem. Živá zvířata nebudou v domácím prostředí. Plyšová zvířata budou odstraněna, nebo prána v pračce jednou za 2 týdny na 60°C.

Pozn: protiroztočové povlaky (Protec'Som, France) – lze prát na 60°C, dle výrobce jsou dostatečná 2 praní ročně

## *Příloha 5*

### **Stanovení obsahu Der p 1 a Der f 1 ve vzorku pomocí sandwichové ELISA metody (Der p 1 ELISA kit (EL-DP1) a Der f 1 ELISA kit (EL-DF1), výrobce: © Indoor Biotechnologies Ltd., U.K.)**

1. Nakotování jamek mikrotitrační destičky anti Der p1, anti-Der f 1
  - Naředíme Anti-Der p 1 mAb 5H8 (nebo Anti-Der f 1, mAb 6H8) v poměru 1:1000 v 50 mM karbonáto-bikarbonátovém pufru (pH 9.6).
  - 100 µl naředěné mAb napipetujeme do jamek mikrodestičky
  - Inkubujeme přes noc při 4°C
  - Pomocí PBS-0.05% Tween 20, pH 7.4 (PBS-T) promyjeme 3x jamky.
  - Do každé jamky napipetujeme 100 µl 1% BSA-PBS-T
  - Inkubujeme 30 minut.
  - Pomocí PBS-0.05% Tween 20, pH 7.4 (PBS-T) promyjeme 3x jamky
2. Příprava standardů pro kalibrační křivku (250-0.49 ng/ml):
  - Do jamek A1,B1 napipetujeme 180 µl 1% BSA PBS-T
  - Do jamek A2-A12 a B2-B12 napipetujeme 100 µl 1% BSA PBS-T
  - Do jamek A1,B1 přidáme 20 µl standardu (Universal Allergen Standard 2500 ng/ml )
  - Do jamek A2,B2 přidáme 100 µl naředěného standardu z jamek A1 a B1
  - Do jamek A3,B3 přidáme 100 µl naředěného standardu z jamek A2 a B2 a takto pokračujeme až po jamky A10,B10
  - V jamkách A11,12, B11,12 zůstane pouze 100 µl 1% BSA PBS-T pro blank.
3. Naředění vzorků extrahovaného domácího prachu
  - Vzorky extrahovaného domácího prachu ředíme 1:10-1:80 použitím 1% BSA PBS-T
4. Postup ELISA metody
  - Do jamek nakotované mikrodestičky přidáme 100 µl naředěných standardů  
Der p 1 (nebo Der f 1), naředěných vzorků extrahovaného domácího prachu a blanku
  - Inkubujeme 1 hodinu při pokojové teplotě
  - Jamky promyjeme 3x pomocí PBS-T
  - Do každé jamky přidáme 100 µl zředěné biotinylované anti-Group 1 mAb 4C1. Roztok protilátky obsahuje 50% glycerolu a měl by být zředěn 1:1000 (tj. 10 µl/10 ml) v 1% BSA-PBS-T.
  - Inkubujeme 1 hodinu při pokojové teplotě.
  - Promyjeme jamky 3x pomocí PBS-T
  - Do každé jamky přidáme 100 µl zředěné streptavidin-peroxidázy (Sigma, 0.25 mg v 1 ml destilované vody. Streptavidin by měl být zředěn 1:1000 (tj. 10 µl/10ml) v 1% BSA PBS-T.
  - Inkubujeme 30 minut při pokojové teplotě.
  - Promyjeme jamky 3x pomocí PBS-T
  - Do každé jamky přidáme 100 µl TMB substrátu
  - Odečítáme při vlnové délce 405 nm (optická denzita 2.0-2.4 )  
výsledek je v ng/ml a ng/m<sup>2</sup> plochy lůžka

**SCORAD**  
EUROPEAN TASK FORCE  
ON ATOPIC DERMATITIS

Last Name  First Name

Date of Birth:    DD/MM/YY

Date of Visit:

INSTITUTION

PHYSICIAN

**Topical Steroid used:**

Potency (brand name)

Amount / Month  (6)

Number of flares / Month

45 (8.5)

45 18 45

9 9

45 (8.5)

45 18 45

(6) 9 9 (6)

Figures in parenthesis for children under two years.

**A: EXTENT** Please indicate the area involved:

**B: INTENSITY**

CRITERIA	INTENSITY
Erythema	<input type="text"/>
Edema/Papulation	<input type="text"/>
Coaling/crust	<input type="text"/>
Excoriation	<input type="text"/>
Uichenification	<input type="text"/>
Dryness II	<input type="text"/>

**MEANS OF CALCULATION**

INTENSITY (1/2) x (average representative area)

0= absence  
1= mild  
2= moderate  
3= severe

\* Dryness is evaluated on uninvolved areas

**C: SUBJECTIVE SYMPTOMS**  
PRURITUS+SLEEP LOSS

**SCORAD A/5+7B/2+C**

Visual analog scale (average for the last 3 days or nights)

PRURITUS (0 to 10)  0  10

SLEEP LOSS (0 to 10)  0  10

TREATMENT:

REMARKS: