



**Dr n. farm.
Sławomir Białek**

Zakład Chemii
Klinicznej i Diagnostyki
Laboratoryjnej Katedry
Biochemii i Chemii
Klinicznej, WUM

Zakład Alergologii
i Immunologii Klinicznej,
SPCSK w Warszawie

Diagnostyka alergii IgE-zależnej w oparciu o komponenty alergenowe

Diagnosis of IgE-mediated allergy based on allergen components

S U M M A R Y

Diagnostic difficulties resulting from the imperfections of natural allergen extracts inspired to develop modern diagnostic technique based on highly purified allergen components or component allergen. Each allergen is composed of various proteins known. component capable of sensitizing allergen, and each component includes a plurality of epitopes that can be divided into one species-specific epitopes, and the identical amino acid structure of the epitopes derived from different species. Specific epitopes are responsible for primary sensitization, while the epitopes with similar structures are responsible for cross-reactions. Finding sensitization several epitopes is a strong indication of the occurrence of much more dangerous allergic reactions than only one epitope. In addition, molecular diagnosis of allergies allows an individual assessment of the risk of allergic symptoms and allows you to distinguish the original from allergy symptoms caused by cross-reactions. It should be noted, however, that the diagnosis of allergy should be based on a comprehensive evaluation of the results and their confrontation with data from the interview. The mere detection of allergen-specific IgE even a method for diagnosing a component, without the presence of clinical symptoms does not confirm an allergy or illness. Only goes to confirm that the body of such a person is allergic and that the symptoms of this condition may at some point reveal but not necessarily.

Trudności diagnostyczne wynikające z niedoskonałości naturalnych ekstraktów alergenowych stały się inspiracją do opracowania nowoczesnej techniki diagnostycznej opartej na wysoko oczyszczonych składnikach alergenowych czyli komponent alergenowych. Każdy alergen składa się z różnych białek tzw. komponent alergenowych zdolnych do uczulania, zaś każda komponenta zawiera wiele epitopów, które można podzielić na specyficzne dla jednego gatunku oraz epitopy o strukturze aminokwasowej identycznej do epitopów pochodzących z różnych gatunków. Epitopy specyficzne odpowiedzialne są za pierwotne uczulenie, natomiast epitopy o podobnej strukturze są odpowiedzialne za reakcje krzyżowe. Stwierdzenie uczulenia na kilka epitopów jest silnym wskazaniem na wystąpienie znacznie groźniejszych reakcji niż uczulenie tylko na jeden epitop. Ponadto diagnostyka komponentowa alergii umożliwia indywidualną ocenę ryzyka wystąpienia objawów alergicznych oraz pozwala na rozróżnienie uczulenia pierwotnego od objawów wywołanych reakcją krzyżową. Należy jednak podkreślić, że o rozpoznaniu alergii powinna decydować kompleksowa ocena wyników i ich konfrontacja z danymi z wywiadu. Samo wykrycie swoistych alergenowo przeciwciał IgE nawet metodą diagnostyki komponentowej, bez obecności objawów klinicznych nie potwierdza alergii czyli choroby. Potwierdza jedynie, że organizm takiej osoby jest uczulony i że objawy tego stanu mogą się w jakimś momencie ujawnić ale też wcale nie muszą.

Białek S.: Diagnostyka alergii IgE-zależnej w oparciu o komponenty alergenowe. *Alergia*, 2016, 4: 12-16

Słowa kluczowe:
Komponenta, epitop,
IgE swoiste, medycyna
personalizowana

Key words:
Components,
epitope, specific IgE,
personalized medicine

Oznaczenie IgE swoistych dla konkretnych alergenów jest podstawowym badaniem laboratoryjnym stosowanym w diagnostyce alergologicznej. Może być wykonywane u chorych w każdym wieku, u pacjentów u których nie można wykonać testów skórnych i nie można odstawić leków przeciwalergicznych.

Obserwowany dotychczas postęp w zakresie metod oznaczania IgE swoistych polegał na udoskonalaniu metody opracowanej w 1967 roku przez Bennicha i Johanssona. Metoda ta wykorzystywała klasyczną reakcję antygen-przeciwciała przeprowadzoną na fazy stałej, którą były krążki bibułowe wysycone ekstraktami alergenowymi. Modyfikacje tej metody polegały na zmianie rodzaju fazy stałej, typu

pomiaru, rodzaju przeciwciała wykrywającego, stosowanych kalibratorach i na wprowadzeniu automatyzacji.

Dzięki tym modyfikacjom znacznemu obniżeniu ulega granica wykrywalności IgE oraz istotnemu skróceniu uległ czas oczekiwania na wynik (1, 2).

Jednak wszystkie te metody oparte są na naturalnych ekstraktach alergenowych otrzymanych z surowców takich jak pyłki roślin, hodowle roztoczy kurzu domowego, pleśni, itp. Każdy ekstrakt zawiera szereg białek/glikoprotein, z których tylko część jest alergenami. Ekstrakty różnią się zawartością alergenów, co jest związane ze zmiennością źródła z których są pozyskiwane. Brunetto i wsp. wykazali aż 45-krotne różnice pomiędzy ekstraktami alergenów roztoczy kurzu domowe-

go tj. *Dermatophagoides pteronyssinus* i *Dermatophagoides farinae* otrzymanych przez dziewięciu różnych producentów (3). Kolejny problem dotyczący naturalnych ekstraktów, to brak możliwości rozróżnienia uczulenia pierwotnego od reakcji krzyżowej pomiędzy alergenami. Odróżnienie tych dwóch mechanizmów ma szczególnie istotne znaczenie w rosnącej populacji osób uczulonych na wiele czynników i determinuje sposób postępowania z pacjentem np. dobór odpowiedniego składu szczepionki alergenowej w przypadku leczenia uczuleń zagrażających życiu (4).

Trudności diagnostyczne wynikające z niedoskonałości naturalnych ekstraktów alergenowych stały się inspiracją do opracowania nowoczesnej techniki diagnostycznej opartej na wysoko oczyszczonych składnikach alergenowych czyli komponentach alergenowych (CRD – component resolved diagnostics). Jest to wysoce obiecująca metoda badawcza i diagnostyczna służąca do oznaczania IgE swoistych z wykorzystaniem pojedynczych epitopów alergenowych (5).

Budowa alergenów

Podstawą zrozumienia metody CRD jest poznanie właściwości alergenów. Alergenem może być każda struktura zawierająca białko. W podejściu konwencjonalnym oznaczano IgE swoiste dla konkretnego alergenu np. jabłka, pyłku tymotki łąkowej, sierści kota czy roztoczy kurzu domowego. Natomiast postęp badań molekularnych wymusza zmianę myślenia o alergenie. Obecnie wiadomym jest, iż każdy alergen składa się z różnych białek tzw. komponent alergenowych zdolnych do uczulania, zaś każda komponenta zawiera wiele epitopów, które można podzielić na specyficzne dla jednego gatunku oraz epitopy o strukturze aminokwasowej identycznej do epitopów pochodzących z różnych gatunków. Epitopy specyficzne odpowiedzialne są za pierwotne uczulenie, natomiast epitopy o podobnej strukturze są odpowiedzialne za reakcje krzyżowe – tabela 1 (6). Natomiast komponenty alergenowe są klasyfikowane do różnych rodzin białek według ich funkcji, struktury czy wrażliwości na działanie czynników fizykochemicznych – tabela 2 (7, 8).

Charakterystyka poszczególnych rodzin białkowych (komponent alergenowych) (6, 9)

Białka LTP

Białka stabilne, odporne na działanie temperatury i enzymy trawienne. Reakcje alergiczne mogą wystąpić po zjedzeniu termicznie przetworzonego pokarmu. Występujące objawy są silniejsze niż w przypadku zespołu alergii jamy ustnej, mogą mieć charakter ogólnoustrojowy.

Białka zapasowe

Białka stabilne, odporne na działanie temperatury. Alergia na epitopy z tej rodziny białek wiąże się z ryzykiem wystąpienia groźnych dla pacjentów reakcji uczuleniowych, nawet po spożyciu potraw gotowanych.

Białka PR-10, homologiczne z Bet v1

Białka z tej rodziny nie są odporne na wysoką temperaturę, zatem potrawy gotowane z produktów spożywczych

1
TABELA
Epitopy alergenowe odpowiedzialne za uczulenie pierwotne i reakcje krzyżowe

Alergen	Pierwotne uczulenie	Reakcje krzyżowe
ALERGENY POKARMOWE		
Orzech arachidonowy	Ara h1, Ara h2, Ara h3, Ara h6, Ara h9	Ara h8
Orzech laskowy	Cor a8, Cor a9	Cor a1, Cor a2, Cor a8, Cor a11
Orzech włoski	Jug r1, Jug r2, Jug r3, Jug r4	brak
Soja	Gly m5, Gly m6, Gly m2S	Gly m4
Pszenica	Tri a aA_T1, Tri a gliadin, Tri a19, omega-5 gliadin, HMW-glutenin, Tri a14	brak
Jabłko	brak	Mal d1
Brzoskwinia	Pru p3	Pru p1 Pru p4
Kiwi	Act d1, Act d2, Act d5	Act d1, Act d8
Seler	Api g1	Api g1
Marchewka	Dau c1	Dau c1, Dau c4
Białko jaja kurzego	Gal d1, Gal d2, Gal d3, Gal d4	Gal d5
Żółtko jaja kurzego	Gal d5	brak
Mleko	Bos d4, Bos d5, Bos d6, Bos d7	Bos d6
Dorsz i Karp	Gad c1 i Cyp c1	Gad c1 i Cyp c1
ALERGENY WZIEWNE		
Ambrozja	Amb a1	brak
Bylica	Art v1, Art v3	Art v3
Komosa	Che a1	brak
Babka lancetowata	Pla l1	brak
Tymotka łąkowa	Phl p1, Phl p5, Phl p6	Phl p4, Phl p7, Phl p11, Phl p12
Brzoza	Bet v1, Betv6	Bet v1, Bet v2, Bet v4
Lateks	Hev b1, Hev b3, Hev b5, Hev b6	Hev b5, Hev b6, Hev b8
Roztocza kurzu domowego	Der p1, Der p2, Der f1, Der f2	Der p10
Sierść kota	Fel d1, Fel d4	Fel d2, Fel d4
Sierść psa	Can f1, Can f2, Can f5	Can f3, Can f5
Sierść konia	Equ c1	Equ c3
<i>Alternaria alternata</i>	Alt a1, Alt a6	Alt a6
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Asp f1, Asp f2, Asp f3, Asp f4, Asp f6	Asp f6
OWADY		
Karaluch	Bla g1, Bla g2, Bla g4, Bla g5	Bla g7
Pszczola	Api m1, Api m4	CCDs
Osa	Ves v1, Ves v5	Ves v2, CCDs

zawierających epitopy z tej rodziny są często dobrze tolerowane. Dla tej rodziny białek charakterystyczne są epitopy o homologicznej strukturze do *Bet v1* głównego epitopu uczulającego pyłku brzozy. Wiąże się to z występowaniem miejscowych objawów takich jak zespół alergii jamy ustnej po spożyciu niektórych owoców np. jabłek, brzoskwini, warzyw (marchew, seler czy soja) oraz orzechów laskowych.

Profiliny

Epitopy zaklasyfikowane do tej rodziny białek wykazują dużą homologię w budowie cząsteczki. Reakcje krzyżowe występują nawet pomiędzy luźno spokrewnionymi gatunkami roślin. Występują we wszystkich pyłkach roślin, pokarmach pochodzenia roślinnego. Nieodporne są na działanie temperatury i enzymów trawiennych.

Białka wiążące wapń

Marker reakcji krzyżowych występujących pomiędzy pyłkami roślin. Białka te nie występują w pokarmach pochodzenia roślinnego.

Albuminy surowicy

Białka umiarkowanie odporne na temperaturę i enzymy trawienne. Obecne we krwi, mleku, mięsie (np. kurczak, wołowina), jajkach. Reakcje krzyżowe występują pomiędzy albuminą różnych gatunków zwierząt np. kot/pies czy kot/wieprzowina. Uczulenie na epitopy z tej rodziny białek mogą powodować objawy ze strony układu oddechowego, jak i pokarmowego.

Parwoalbuminy

Główny alergen ryb. Marker reakcji krzyżowych pomiędzy różnymi gatunkami ryb i płazów. Alergen odporny na działanie temperatury i enzymów trawiennych. Reakcje występują po spożyciu ugotowanego pokarmu.

Tropomiozyny

Białko włókien mięśniowych. Marker reakcji krzyżowych pomiędzy roztocznymi, skorupiakami a karaluchami. Białko odporne na działanie temperatury i enzymów trawiennych.

Lipokaliny

Stabilne białko występujące u zwierząt o ograniczonym zakresie reakcji krzyżowych pomiędzy gatunkami.

Determinanty węglowodanowe

Determinanty węglowodanowe to N- i O-glikany wchodzące w skład glikoprotein. Zawarta w nich ksyloza i fukoza wiążą się z rdzeniem determinanty poprzez N-acetyloglukozaminę. Wiązanie to jest wysoce immunogenne dla ludzkiego organizmu. Wytworzone wówczas przeciwciała anti-CCD w klasie IgE mogą reagować krzyżowo z wszystkimi alergenami zawierającymi glikany. Głównie są to alergeny pochodzenia roślinnego i jady owadów błonkoskrzydłych. Przeciwciała anti-CCD nie mają znaczenia klinicznego.

Rozróżnienie uczulenia pierwotnego od objawów wywołanych reakcją krzyżową stwarza możliwość oceny ryzyka wystąpienia reakcji alergicznej po ekspozycji alergenowej

oraz umożliwia niemal precyzyjne dobranie składu alergenowego szczepionki do immunoterapii swoistej. Ponadto w przypadku alergii pokarmowej istotną właściwością alergenów to stopień odporności na temperaturę i procesy trawienne. Alergeny stabilne które są odporne na działanie temperatury i procesów trawiennych mają zdolność silnego uczulenia i wywoływania groźnych dla życia objawów klinicznych. Natomiast alergeny tzw. labilne o niskim stopniu wrażliwości na temperaturę i nie odporne na procesy trawienne z reguły są lepiej tolerowane i wywołują łagodniejsze objawy (10, 11).

Diagnostyka komponentowa uczuleń na wybrane alergeny – interpretacja wyników

Orzech ziemny

Przykładem wykorzystania komponent alergenowych może być diagnostyka alergii na orzeszki ziemne. Diagnostyka oparta na ekstraktach naturalnych, które zawierają wszystkie alergeny orzecha ziemnego ma ograniczoną wartość predykcyjną, gdyż często są uzyskiwane wyniki dodatnie u osób, które tolerują orzechy ziemne. Przyczyną tego jest występowanie w orzechach ziemnych reagujących krzyżowo epitopów o niskim znaczeniu klinicznym. Obecnie znanych jest pięć istotnych klinicznie epitopów alergenowych występujących w orzechach ziemnych tj. *Ara h1*, *Ara h2*, *Ara h3*, *Ara h8* i *Ara h9*. Epitopy *Ara h1*, *Ara h2* i *Ara h3* charakteryzują się odpornością na działanie temperatury i procesy trawienne, należą do grupy białek zapasowych i są odpowiedzialne za pierwotne uczulenie powiązane z ryzykiem wystąpienia groźnych reakcji alergicznych. Pacjenci uczuleni na te trzy epitopy mogą silnie reagować po spożyciu orzeszka ziemnego z ryzykiem wystąpienia reakcji systemowej. Natomiast epitop *Ara h8* jest nieodporny na wysoką temperaturę, procesy trawienne i jest powiązany z wystąpieniem miejscowych reakcji alergicznych po spożyciu orzeszka np. zespół alergii jamy ustnej (OAS). Pacjenci z obecnymi przeciwciałami IgE swoistymi dla *Ara h8* mogą reagować krzyżowo na pyłki brzozy i pyłki drzew spokrewnionych z brzozą, gdyż epitop ten należy do rodziny białek homologów *Bet v1*. Ponadto wykazano występowanie jego reakcji krzyżowych z antygenem *Gly m4* soi. Natomiast najbardziej ryzykowne dla pacjenta jest uczulenie na *Ara h9*, gdyż ten epitop jest odporny na działanie wysokiej temperatury i procesy trawienne oraz jest powiązany zarówno z bardzo wysokim ryzykiem wystąpienia niebezpiecznych dla pacjenta reakcji anafilaktycznych, reakcji miejscowych, a także reakcji krzyżowych z alergenem brzoskwini i spokrewnionych z nią owoców (12-18).

Jajo kurze

Najważniejsze epitopy dla alergenu jaja kurzego to: *Gal d1* (owomukoid), *Gal d2* (owoalbumina), *Gal d3* (owotransferyna/konalbumina) i *Gal d4* (lizozym). Najistotniejszym klinicznie epitopem choć stanowi tylko 11% ogólnej ilości białek jaja kurzego jest *Gal d1*. Charakteryzuje się wysoką odpornością na temperaturę i enzymy trawienne, a ponadto zdolnością wywołania reakcji alergicznej już w znikomych ilościach. Wysokie stężenia IgE swoistego dla owomukoidu są typowe dla uporczywej alergii i wskazują na brak tolerancji



jaja surowego i obrobionego termicznie (np. ugotowanego czy w wypiekach). Z pozostałych epitopów istotną klinicznie jest również owoalbumina (*Gal d2*) stanowiąca 54% białek. Jest nieodporna na temperaturę i wysoce alergizująca. *Gal d3* conalbumina, stanowi 12% białek, jest nieodporna na temperaturę, ponadto występuje również w żółtku jajka. Natomiast *Gal d4* czyli lizozym stanowi 3,5% białek i jest używany jako konserwant bądź dodatek do produktów spożywczych. *Gal d4* jest alergenem zawodowym pracowników przemysłu spożywczego i farmaceutycznego (19-26).

Mleko

Okolo 2% dzieci jest uczulonych na główne białka mleka tj. kazeinę i serwatkę. Kazeina stanowi 80% białek mleka, pozostałe 20% to serwatka. Główne epitopy białek mleka krowiego to *Bos d4* (α -laktoglobulina), *Bos d5* (β -laktoglobulina), *Bos d6* (BSA), *Bos d* laktoferyna – białka serwatki oraz *Bos d8* – kazeina. Najistotniejszymi alergenami w mleku są kazeiny, β -laktoglobuliny i α -laktoglobuliny. Większość pacjentów uczulonych jest na kilka komponentów alergenu mleka. Pacjenci uczuleni na *Bos d4*, *Bos d5*, *Bos d6*, *Bos d* laktoferynę, posiadający wysokie stężenia swoistych IgE dla tych epitopów obarczeni są ryzykiem wystąpienia groźnych reakcji alergicznych. Natomiast obniżenie poziomów przeciwciał IgE będą sugerowały wzrost tolerancji na białka mleka. W przypadku uczulenia na komponent *Bos d8* pacjenci z niskimi poziomami przeciwciał IgE mogą tolerować produkty zawierające gotowane mleko. Dzieci często wyrastają z alergii na mleko – wczesne sygnały wzrostu tolerancji mogą być obserwowane poprzez okresowe oznaczenia poziomu przeciwciał IgE przeciwko *Bos d8*. Ponadto pacjenci uczuleni na komponent mleka *Bos d6* mogą być równocześnie uczuleni na wołowinę, ponieważ białko to występuje również w tym mięsie (27-32).

Ryby

Określenie profilu epitopów uczulających jest pomocne w ocenie ryzyka wystąpienia reakcji krzyżowych z innymi

pokarmami, co pozwala na uniknięcie konieczności wprowadzenia diet eliminacyjnych. Najlepszym przykładem jest alergia na ryby, ponieważ istnieje tu wysoka częstość reakcji krzyżowych pomiędzy parwalbuminami różnych gatunków ryb. Pacjenci uczuleni np. na jedną z nich np. *Gad c1* dorsza mogą reagować na cały wachlarz gatunków ryb. Jednakże niektóre osoby tolerują część gatunków, jednocześnie reagując alergią na inne, co jest skutkiem różnego stopnia ekspresji parwalbumin u poszczególnych gatunków. Rybą stosunkowo dobrze tolerowaną przez alergików jest miecznik, gdyż mięso tej ryby posiada mało parwalbuminy (33-36).

Jady owadów błonkoskrzydłych

Precyzyjna diagnoza uczulenia na jad owadów błonkoskrzydłych jest podstawą skutecznej immunoterapii. Wielu pacjentów wykazuje dodatnie wyniki testów skórnych na jady zarówno osy, jak i pszczoły (podwójna pozytywność), ale reaguje klinicznie tylko na jeden z nich. Jest to spowodowane obecnością reagujących krzyżowo determinant węglowodanowych o niskim znaczeniu klinicznym. Dzięki diagnostyce molekularnej możliwe jest dokładne potwierdzenie uczulającego czynnika. Głównymi alergenami właściwymi gatunkowo są *Ves v1* (fosfolipaza A1) i *Ves v5* (antygen 5) u osy oraz *Pol d5* gatunku *Polistes* i *Api m1* (fosfolipaza A2) w jadzie pszczelim. Wykonanie testów z poszczególnymi komponentami pozwala wykluczyć reaktywność krzyżową, pomagając w identyfikacji faktycznego uczulenia na jad jednego lub obu owadów. Dzięki temu możliwy jest dobór właściwego jadu(ów) do immunoterapii swoistej (37-41).

Mikromacierze (Alergochipy)

Metoda diagnostyki komponentowej alergii może być oparta o technikę mikromacierzy (biochipów czy alergochipów).

Umożliwia ona jednoczesne oznaczenie IgE swoistych dla wielu różnych epitopów alergenowych u tego samego pacjenta, w minimalnej ilości surowicy.

2

TABELA

Klasyfikacja różnych gatunkowo epitopów alergenowych do poszczególnych rodzin białek

Nazwa rodziny białek (komponent)	Epitopy alergenowe	Alergeny
Białka LTP	Ara h9, Cor a8, Pru p3, Par j2, Art v3	Orzech włoski, ziemny, laskowy; Brzoskwinia; Oliwka (drzewo); Bylica; Parietaria; Pszenica;
Białka zapasowe	Ara h1, Ara h2, Ara h3, Ara h6, Ara h7, Gly m5, Gly m6, Cor a9, Tri a19	Orzech ziemny, laskowy; Pszenica;
Białka PR-10, homologiczne z Bet v1	Bet v1, Ara h8, Gly m4, Cor a1, Pru p1, Api g1, Mal d1, Ac d8, Dau c1	Jabłko; Kiwi; Seler; Brzoskwinia; Orzech ziemny, laskowy; Soja
Profiliny	Bet v2, Pru p4, Hev b8, Phl p12	Tymotka; Brzoza; Lateks
Białka wiążące wapń	Bet v4, Phl p7	Tymotka; Brzoza
Albuminy surowicy	Fel d2, Can f3, Bos d6, Equ c3	Mleko; Wołowina; Jajko; Koń; Pies; Kot
Parwoalbuminy	Cyp c1, Gad c1	Dorsz, Karp
Tropomiozyny	Pen a1, Der p10, Ani s3	Krewetka; Roztocza kurzu domowego; Karaluch
Lipokaliny	Fel d1, Fel d4, Can f1, Can f2, Equ c1, Mus m1	Kot; Pies

Adres do korespondencji:
Dr n. farm.
Sławomir Białek
Zakład Chemii
Klinicznej i Diagnostyki
Laboratoryjnej Katedry
Biochemii i Chemii
Klinicznej, WUM
ul. Banacha 1,
02-097 Warszawa
e-mail: slawomir.bialek@wum.edu.pl

Pracę nadesłano
2016.12.20
Zaakceptowano
do druku 2016.12.21

Konflikt interesów nie występuje.

Obecnie tą techniką można wykonać oznaczenia swoistych IgE dla około 113 natywnych/rekombinowanych epitopów alergenowych z 51 źródeł. Jak na razie główną wadą jest wysoka cena i przez to brak powszechnej dostępności tej metody (42, 43).

Podsumowanie

Diagnostyka komponentowa alergii dzięki technice mikromacierzy pozwala na ustalenie profilu uczuleniowego pacjenta. Stwierdzenie uczulenia na kilka epitopów alergenowych jest silnym wskazaniem na wystąpienie znacznie groźniejszych reakcji niż uczulenie tylko na jeden epitop. Zatem molekularna diagnostyka alergii pozwala na spersonalizowaną diagnostykę pacjenta z objawami alergii. Umożliwia indywidualną ocenę ryzyka wystąpienia objawów alergicznych oraz pozwala na rozróżnienie uczulenia pierwotnego od objawów wywołanych reakcją krzyżową. Uzyskanie powyż-

szych informacji pozwala na wybór lepszej procedury postępowania z chorym np.: czy wymaga intensywnego leczenia przeciwalergicznego – czy wystarczy tylko unikanie kontaktu z badanym alergenem; czy może zostać poddany próbie prowokacyjnej z testowanym alergenem bez zbyt wysokiego ryzyka wystąpienia reakcji systemowej; czy pozwala na precyzyjne dobranie składu alergenowego szczepionki w celu przeprowadzenia immunoterapii swoistej.

Należy jednak podkreślić, że o rozpoznaniu alergii powinna decydować kompleksowa ocena wyników i ich konfrontacja z informacjami klinicznymi. Samo wykrycie swoistych alergenowo przeciwciał IgE nawet metodą diagnostyki molekularnej, bez obecności objawów klinicznych nie potwierdza alergii czyli choroby. Potwierdza jedynie, że dana osoba jest uczulona i że objawy tego stanu mogą się w jakimś momencie ujawnić ale też wcale nie muszą.

- Piśmiennictwo:** 1. Stanworth DR, Humphrey JH, Bennich H, Johansson SGO. Specific inhibition of the Prausnitz-Kustner reaction by an atypical human myeloma protein. *Lancet* 1967; 2: 330-332. 2. Johansson SGO, Bennich H, Wide L. A new class of immunoglobulins in human serum. *Immunology* 1968; 14: 265-272. 3. Brunetto B, Tinghino R, Braschi MC, Antonicelli L, Pini C, Iacovacci P. Characterization and comparison of commercially available mix extracts for in vivo diagnosis. *Allergy* 2010; 65(2): 184-190. 4. Panaszek B: Źródła alergenów reagujących krzyżowo i ich znaczenie kliniczne. *Allergia* 2010; 4: 32-38. 5. Canonica GW, Anstoege IJ, Pawankar R i wsp. A WAO – ARIA – GALEN consensus dokument on molecular – based allergy diagnostics. *World Allergy Organization Journal* 2013; 6: 1-17. 6. Sastre J: Molecular diagnosis in allergy. *Clin Exp Allergy* 2010; 40: 1442-1460. 7. Hoffmann-Sommergruber K, Mills EN: Food allergen protein families and their structural characteristics and application in component-resolved diagnosis: new data from the EuroPrevall project. *Anal Bioanal Chem* 2009; 395: 25-35. 8. Radauer C, Bublin M, Wagner S, Mari A, Breiteneder H: Allergens are distributed into few protein families and possess a restricted number of biochemical functions. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 847-52. 9. Balińska-Miśkiewicz W. Diagnostyka molekularna alergii pokarmowej. *Postępy Hig Med. Dośw.* 2014; 68: 754-767. 10. Łacwik P, Kupczyk M, Kunska P. Nowe metody diagnostyczne w alergologii – diagnostyka molekularna komponentów alergenowych i test aktywacji bazoofilów. *Terapia* 2013; 3(285): 73-78. 11. Białek S. Diagnostyka laboratoryjna chorób alergicznych. *Diagnosta laboratoryjna* 2011; 4(25): 7-10. 12. Astier C, Morisset M, Roitel O i wsp. Predictive value of skin prick tests using recombinant allergens for diagnosis of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 250-256. 13. Flinterman AE, van Hoffen E, den Hartog Jager CF i wsp. Children with peanut allergy recognize predominantly Ara h2 and Ara h6, which remains stable over time. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 1221-1228. 14. McDermott RA, Porterfield HS, El Mezayen R i wsp. Contribution of Ara h2 to peanut-specific, immunoglobulin E-mediated, cell activation. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 752-763. 15. Koppelman SJ, Wensing M, Ertmann M, Knulst AC, Knol EF. Relevance of Ara h1, Ara h2 and Ara h3 in peanut-allergic patients, as determined by immunoglobulin E Western blotting, basophil-histamine release and intracutaneous testing: Ara h2 is the most important peanut allergen. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 583-590. 16. Peeters KA, Koppelman SJ, van Hoffen E et al. Does skin prick test reactivity to purified allergens correlate with clinical severity of peanut allergy? *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 108-115. 17. Lewis SA, Grimshaw KE, Warner JO, Hourihane JO. The promiscuity of immunoglobulin E binding to peanut allergens, as determined by Western blotting, correlates with the severity of clinical symptoms. *Clin Exp Allergy* 2005; 35: 767-773. 18. Asero R. Detection and clinical characterization of patients with oral allergy syndrome caused by stable allergens in Rosaceae and nuts. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 83: 377-383. 19. Bernhisel-Broadbent J, Dintzis HM, Dintzis RZ, Sampson HA. Allergenicity and antigenicity of chicken egg ovomucoid (Gal d3) compared with ovalbumin (Gal d1) in children with egg allergy and in mice. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 1047-1059. 20. Benhamou AH, Caubet JC, Eigenmann PA i wsp. State of the art and new horizons in the diagnosis and management of egg allergy. *Allergy* 2009; 65: 283-289. 21. Quirce S, Maranon F, Umpierrez A, de las Heras M, Fernandez-Caldas E, Sastre J. Chicken serum albumin (Gal d5) is a partially heat-labile inhaled and food allergen implicated in the bird-egg syndrome. *Allergy* 2001; 56: 754-762. 22. Ando H, Moverare R, Kondo Y et al. Utility of ovomucoid specific IgE concentrations in predicting symptomatic egg allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 583-588. 23. Nowak-Węgrzyn A, Sampson HA, Sicherer SH, Shreffler WG, Noone S, Nowak-Węgrzyn A. Immunologic changes in children with egg allergy ingesting extensively heated egg. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 977-983. 24. Urisu A, Ando H, Morita Y et al. Allergenic activity of heated and ovomucoid-depleted egg white. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 171-176. 25. Jarvinen KM, Beyer K, Vila L, Bardina L, Mishoe M, Sampson HA. Specificity of IgE antibodies to sequential epitopes of hen's egg ovomucoid as a marker for persistence of egg allergy. *Allergy* 2007; 62: 758-765. 26. Boyano Martinez T, Garcia-Ara C, Diaz-Pena JM, Munoz FM, Garcia Sanchez G, Esteban MM. Validity of specific IgE antibodies in children with egg allergy. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 1464-1469. 27. Restani P, Ballabio C, Di Lorenzo C, Tripodi S, Fiocchi A. Molecular aspects of milk allergens and their role in clinical events. *Anal Bioanal Chem* 2009; 395: 47-56. 28. Wal JM. Bovine milk allergenicity. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004; 93: S2-S11. 29. Jarvinen KM, Beyer K, Vila L, Chatchatee P, Busse PJ, Sampson HA. B-cell epitopes as a screening instrument for persistent cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 293-297. 30. Chatchatee P, Jarvinen KM, Bardina L, Beyer K, Sampson HA. Identification of IgE- and IgG-binding epitopes on alpha(s1)-casein: differences in patients with persistent and transient cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 379-383. 31. Vila L, Beyer K, Jarvinen KM, Chatchatee P, Bardina L, Sampson HA. Role of conformational and linear epitopes in the achievement of tolerance in cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 1599-1606. 32. Nowak-Węgrzyn A, Bloom KA, Sicherer SH et al. Tolerance to extensively heated milk in children with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 342-347. 33. Van Do T, Hordvik I, Endresen C, Elsayed S. Characterization of parvalbumin, the major allergen in Alaska pollack, and comparison with codfish allergen M. *Mol Immunol* 2005; 42: 345-353. 34. Swoboda I, Bugajska-Schretter A, Verdino P et al. Recombinant carp parvalbumin, the major cross-reactive fish allergen: a tool for diagnosis and therapy of fish allergy. *J Immunol* 2002; 168: 4576-4584. 35. Bugajska-Schretter A, Eflman L, Fuchs T et al. Parvalbumin, a cross-reactive fish allergen, contains IgE-binding epitopes sensitive to periodate treatment and Ca2+ depletion. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 67-74. 36. Ma Y, Griesmeier U, Susani M et al. Comparison of natural and recombinant forms of the major fish allergen parvalbumin from cod and carp. *Mol Nutr Food Res* 2008; 52 (Suppl. 2): S196-S207. 37. de Graaf DC, Aerts M, Danneels E, Devereux B. Bee, wasp and ant venomics pave the way for a component-resolved diagnosis of sting allergy. *J Proteomics* 2009; 12: 145-154. 38. Henriksen A, King TP, Mirza O et al. Major venom allergen of yellow jackets, Ves v5: structural characterization of a pathogenesis-related protein superfamily. *Proteins* 2001; 45: 438-448. 39. Bilo BM, Rueff F, Mosbeck H, Bonifazi F, Oude-Elberink JN. Diagnosis of hymenoptera venom allergy. *Allergy* 2005; 60: 1339-1349. 40. Müller UR, Johansen N, Petersen AB, Fromberg-Nielsen J, Haeblerl G. Hymenoptera venom allergy: analysis of double positivity to honey bee and Vespsula venom by estimation of IgE antibodies to species-specific major allergens Api m1 and Ves v5. *Allergy* 2009; 64: 543-548. 41. Paull BR, Yunginger JW, Gleich GJ. Melittin: an allergen of honeybee venom. *J Allergy Clin Immunol* 1977; 59: 334-338. 42. Ferrer M, Sanz ML, Sastre J i wsp. Molecular diagnosis in allergology: application of the microarray technique. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2009; 19(1): 19-24. 43. Bonini M, Marcomini L, Gramiccioni C, Tranquilli C, Melioli G, Canonica GW, Bonini S. Microarray evaluation of specific IgE to allergen components in elite athletes. *Allergy* 2012; 67: 1557-1564.

- Piśmiennictwo ze str. 35:** 1. Lommatzsch M, Braun A, and Renz H. Neurotrophins in allergic airway dysfunction: what the mouse model is teaching us. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 992: p. 241-9. 2. Prakash Y, Thompson MA, Meuchel L i wsp. Neurotrophins in lung health and disease. *Expert Rev Respir Med* 2010; 4(3): p. 395-411. 3. Yao Q, Zaidi SI, Haxhiu MA i wsp. Neonatal lung and airway injury: a role for neurotrophins. *Semin Perinatol* 2006; 30(3): p. 156-62. 4. Watanabe T, Fajit ML, Trudeau JB i wsp. Brain-Derived Neurotrophic Factor Expression in Asthma. Association with Severity and Type 2 Inflammatory Processes. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2015; 53(6): p. 844-52. 5. Boule F, van den Hove DL, Jakob SB i wsp. Epigenetic regulation of the BDNF gene: implications for psychiatric disorders. *Mol Psychiatry* 2012; 17(6): p. 584-96. 6. Zheng F, Zhou X, Moon C i wsp. Regulation of brain-derived neurotrophic factor expression in neurons. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 2012; 4(4): p. 188-200. 7. Pang PT, Teng HK, Zaitsev E i wsp. Cleavage of proBDNF by tPA/plasmin is essential for long-term hippocampal plasticity. *Science* 2004; 306(5695): p. 487-91. 8. Mandel AL, Ozdener H, and Utermohlen V. Identification of pro- and mature brain-derived neurotrophic factor in human saliva. *Arch Oral Biol* 2009; 54(7): p. 689-95. 9. Mowla SJ, Farhadi HF, Pareek S i wsp. Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor. *J Biol Chem* 2001; 276(16): p. 12660-6. 10. Woo NH, Teng HK, Siao CJ i wsp. Activation of p75NTR by proBDNF facilitates hippocampal long-term depression. *Nat Neurosci* 2005; 8(8): p. 1069-77. 11. Egan MF, Kojima M, Callicott JH i wsp. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 2003; 112(2): p. 257-69. 12. Hariri AR, Goldberg TE, Mattay VS i wsp. Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance. *J Neurosci* 2003; 23(17): p. 6690-4. 13. Chen ZY, Patel PD, Sant G i wsp. Variant brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Met66) alters the intracellular trafficking and activity-dependent secretion of wild-type BDNF in neurosecretory cells and cortical neurons. *J Neurosci* 2004; 24(18): p. 4401-11. 14. Evinova A, Babusikova E, Straka S i wsp. Analysis of genetic polymorphisms of brain-derived neurotrophic factor and methyltetrahydrofolate reductase in depressed patients in a Slovak (Caucasian) population. *Gen Physiol Biophys* 2012; 31(4): p. 415-22. 15. Szczepankiewicz A, Rachel M, Sobkowiak P i wsp. Neurotrophin serum concentrations and polymorphisms of neurotrophins and their receptors in children with asthma. *Respir Med* 2013; 107(1): p. 30-6. 16. Yinli C, Jie H, Li Z i wsp. Association between brain-derived neurotrophic factor variants and asthma in Chinese Han children. *Acta Paediatr* 2013; 102(6): p. e247-50. 17. Zeilinger S, Pinto LA, Nockher WA i wsp. The effect of BDNF gene variants on asthma in German children. *Allergy* 2009; 64(12): p. 1790-4. 18. Szczepankiewicz A, Sobkowiak P, Rachel M i wsp. Multilocus analysis of candidate genes involved in neurogenic inflammation in pediatric asthma and related phenotypes: a case-control study. *J Asthma* 2012; 49(4): p. 329-35. 19. Szczepankiewicz A, Breborowicz A, Sobkowiak P i wsp. Association of BDNF gene polymorphism with asthma in Polish children. *World Allergy Organ J* 2010; 3(9): p. 235-8. 20. Szczepankiewicz A, Breborowicz A, Skibinska M i wsp. Association analysis of brain-derived neurotrophic factor gene polymorphisms in asthmatic children. *Pediatr Allergy Immunol* 2007; 18(4): p. 293-7. 21. Xie X, Zhu Y, Zhang J i wsp. Association between Val66Met polymorphisms in brain-derived neurotrophic factor gene and asthma risk: a meta-analysis. *Inflamm Res* 2015; 64(11): p. 875-83. 22. Jesenak M, Babusikova E, Evinova A i wsp. Val66Met polymorphism in the BDNF gene in children with bronchial asthma. *Pediatr Pulmonol* 2015; 50(7): p. 631-7. 23. Wang JY, Wang AL, Han W i wsp. Association between a functional single nucleotide polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene and risk of child asthma. *Genet Mol Res* 2015; 14(4): p. 16233-40. 24. Wang SY, Freeman MR, Sathish V i wsp. Sex Steroids Influence Brain-Derived Neurotrophic Factor Secretion From Human Airway Smooth Muscle Cells. *J Cell Physiol* 2016; 231(7): p. 1586-92. 25. Jin P, Andiappan AK, Quek JM i wsp. A functional brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene variant increases the risk of moderate-to-severe allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135(6): p. 1486-93 e8. 26. Folster-Holst R, Papakonstantinou E, Rudrich U i wsp. Childhood atopic dermatitis-Brain-derived neurotrophic factor correlates with serum eosinophil cationic protein and disease severity. *Allergy* 2016; 71(7): p. 1062-5.