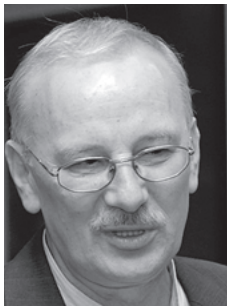


Alergeny roztoczy na przykładzie skórożarłoczek skrytego

Allergens of the mites on the *Dermatophagoides pteronyssinus* example.



Prof. dr hab. n. med.
Krzysztof Buczyłko

Kierownik NZOZ
Centrum Alergologii
w Łodzi

S U M M A R Y

The house-dust mite (HDM), commonly found in human dwellings, books and beds is an important source of inhalant and contact allergens. HDM are small arthropods that produce proteins, found in their feces, body parts, and eggs, that are major triggers in about 50 % of human allergies worldwide. Amongst the 37 mite allergen groups hitherto identified, using a combination of Der p 1 and Der p 2, majority of the *D. pteronyssinus* (Dp) allergic patients could be diagnosed. However, more than 50% of the patients also reacted with other allergens, like Der p 23 (main allergen), Der p 4- 5, 7, 21 (mid- tier allergens) and so called small or low investigated allergens (Der p 3, 6, 8-11, 13, 15-18, 20, 24-37). The majority of HDM-allergic patients may respond to just a small subset of proteins. Analyses confirmed the presence of mite allergens components in Dp and *D. farinae* extracts, with groups 2, 8, 10, 11, 14, and 10, 11 and 14 were prominent in bodies and groups 1, 6, 18, and 23 well represented in feces. The most common diseases associated with chronic exposure to these aeroallergens include: allergic rhinitis, asthma and atopic dermatitis. HDM aeroallergen avoidance has been promoted in order to prevent sensitization. Immunotherapy is effective.

Roztocza kurzu domowego (rkd), to małe stawonogi, powszechnie występujące w ludzkich mieszkaniach, książkach i pościeliach. Są ważnym źródłem alergenów wziewnych i kontaktowych. Rkd wytwarzają białka, które w ich odchodach, częściach ciała i jajach, stanowią główny czynnik chorobotwórczy u około 50% alergików na świecie. Według najnowszych badań wszyscy chorzy uczuleni na rkd posiadają IgE reagujące z alergenami obecnymi zarówno w ciałach jak i odchodach roztoczy, co koryguje niedawne przekonania. Spośród zidentyfikowanych dotąd 37 grup alergenów roztoczy kombinacja Der p 1 i Der p 2 pozwala na zdiagnozowanie większości pacjentów uczulonych na *D. pteronyssinus* (Dp). Jednak ponad połowa z nich reaguje także inne alergeny, takie jak Der p 23 (alergen główny), Der p 4- 5, 7, 21 (alergeny pośrednie) czy tzw. małe, słabo poznane alergeny Der p 3, 6, 8-11, 13, 15-18, 20, 24-37. Większość alergików reaguje na małe podzbiory białek rkd. Badania potwierdziły obecność komponent alergenów w klasycznych wyciągach Dp i *D. farinae*, przy czym grupy 2, 8, 10, 11, 14 i 10, 11 oraz 14 i 20 pochodzą z ciał rkd, zaś 1, 6, 18 i 23 z odchodów. Najczęstsze choroby związane z przewlekłym narażeniem na wymienione aeroalergeny obejmują: alergiczny nieżyt nosa, astmę i atopowe zapalenie skóry. Unikanie alergenów rkd jest zalecane dla zapobiegania uczuleniom. Immunoterapia jest skuteczna.

Buczyłko K.: Alergeny roztoczy na przykładzie skórożarłoczek skrytego (*Dermatophagoides pteronyssinus*). *Alergia*, 2019, 2; 22-30

„Pewnej nocy tatuś przyniósł ze swojego gabinetu wszystkie wielkie encyklopedia medyczne i umieścił je pod poduszką, za moimi plecami, żebym siedział wyprostowany, bo dusiłem się tak, że nie mogłem oddychać. (...) W rezultacie atak się nasilił.”

Marcel Proust

Podstawowe dane o biologii roztoczy

Roztocza kurzu domowego (rkd) ang. HDM (house dust mites) są małymi stawonogami (Arthropoda) należącymi do klasy: Pajączaki (*Arachnida*), podklasy Roztocze (*Acari*). Nazwa *Acari* pochodzi z greckiego i oznacza „a”, „car”, czyli „bez głowy”, gdyż część głowowa nie wyróżnia się wyraźnie w ich postaci [1]. Najczęściej w Polsce uczulają 2 gatunki z rodziny *Pyroglyphidae*: *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp- opisany w roku 1897), jako roztocze kurzu domowego oraz

Dermatophagoides farinae (Df- 1961). Oba zostały powiązane z alergiami dopiero w roku 1964 przez R. Voorhosa i wsp. Inne rkd znalezione w Polsce to *Euroglyphus mainei* (Em) i rzadki *Gymnoglyphus longior* (Gl). Wśród dalszych roztoczy, tak zwanych magazynowych, wymienia się z rodziny *Acaridae* (rozkruszkowatych) m.in.: *Acarus siro* (As) - rozkruszek mączny, *Tyrophagus putrescentiae* (Tp) - rozkruszek drobny, czy z rodziny *Glycyphagidae* (roztoczkowatych): *Lepidoglyphus destructor* (Ld) - roztoczek owłosiony czy *Glycyphagus domesticus* (Gd) - roztoczek domowy [2]. Rkd wytwarzając niezbędne im do życia białka, obecne następnie w odchodach, częściach ciała oraz jajeczkach, stanowią główny czynnik wywoływania alergii u ludzi na całym świecie [3]. Warto zasymalizować, że spokrewnione z rkd pozostają kleszcze (*Ixodida*), nużeńce i śwędziki (*Actiniedida*), świerzbowce (*Sarcoptidae*) oraz co prawda mniej spokrewnione, lecz stwarzające ryzyko kliniczne

Słowa kluczowe:
Alergeny ciała i kulek kałowych roztoczy, główne, pośrednie i małe komponenty, astma, wyprysk

Key words:
Mite body & fecal pellets allergens, main, mid-tier and small components, asthma, eczema.



reakcji krzyżowych owady (m.in. karaczany, wszy, pluskwy, komary, meszki, mrówki, muchy, gzy, pchły) [2], czy wreszcie skorupiaki i mięczaki [4]. Dotychczas znaleziono za pomocą analiz biochemicznych 527 białek w ciałach RKD oraz 157 w ich kulkach kałowych (fecal globe), nazywanych też peletkami [5].

Epidemiologia

Alergia stanowi rosnący problem zdrowia publicznego w wielu krajach [6]. Reakcja IgE- zależna na rkd jest podobna w różnym wieku oraz w odmiennych populacjach, co wykazano badając chorych z USA, Kanady, Europy czy Japonii [7]. Roztocza, w tym egzemplarze Dp (poprawnie skórożarłoczek skrytego), są ważnym źródłem alergenów odpowiedzialnych za uczulenie ponad 50% pacjentów z alergią na kuli ziemskiej [8]. Według innych autorów u ponad 20% światowej populacji uczulenie na rkd wywołuje typowe choroby uczuleniowe, takie jak alergiczny nieżyt nosa (ANN) i astma oskrzelowa atopowa [9]. Podobnie jest w krajach Azji, przykładowo około 40%- 60% koreańskich pacjentów cierpiących na alergię oddechową oraz ponad 40% pacjentów cierpiących na atopowe zapalenie skóry (AZS), jest uczulonych na rkd [10]. Według kolejnych badaczy Dp są jednymi z najczęstszych aeroalergenów na świecie i aż 85% astmatyków ma na nie uczulenie. Alergenność jest związana zarówno z samymi roztoczymi, jak i z ligandami pochodzącymi z produktów bakterii i grzybów zależnych od roztoczy [11]. Poziom ekspozycji ma duże znaczenie kliniczne. Rkd powszechnie występując w ludzkich mieszkaniach (w ponad 90% domów), są ważnym źródłem nie tylko alergenów wziewnych, lecz także kontaktowych [10]. To ostatnie spostrzeżenie jest niestety rzadko brane pod uwagę w praktyce alergologicznej w Polsce, mimo dostępnych zestawów do atopowego testu płatkowego m.in., ze skórożarłoczkiem skrytym.

Badania w naszym kraju wykazują zmienność występowania alergenów rkd w zależności od rodzaju pomieszczeń, typu ogrzewania, wilgotności, roślin, pory roku itp. [2]. W mieszkaniach z ogrzewaniem centralnym bytują zazwyczaj Dp, w domach wiejskich Df, w pomieszczeniach magazynujących rozkruski As [12].

Patogeneza alergii na roztocze kurzu domowego

Początkowo odpowiedź alergiczną Th2 zależną uznawano za spowodowaną jedynie przez epitopy alergenu dla komórek B i limfocytów T. Pierwotnie miało to prowadzić do promowania produkcji IgE swoistej dla alergenu, a wtórnie również interleukin- 4 (IL-4), -5 (IL-5) i 13 (IL-13) w celu rekrutacji komórek zapalnych [13]. Okazało się, że Dp ma działanie anty-apoptotyczne na neutrofile osób zdrowych i z ANN poprzez szlak TLR4 / PKC Δ / ERK / NF-κ B i to odkrycie przyczyniło się do rozwiązania patogenego mechanizmu chorób alergicznych wywołanych przez Dp i aktywację NF-κ B w sposób zależny od czasu [14]. Wkrótce potwierdzono, że alergenowe proteazy roztoczy degradują białka nabłonka, powodując osłabienie naturalnej bariery ochronnej i indukując odpowiedź immunologiczną. Proteazy wywołują także, niezależnie do IgE, uwalnianie prozapalnych cytokin: IL-4, interleukiny 6 (IL-6), interleukiny 8 (IL-8), eotaksyny i czynnika stymulującego wzrost kolonii granulocytów i makrofagów GM- CSF [12]. Ale ten ogólny molekularny model alergii na rkd musi zostać ponownie przeanalizowany, ponieważ przy-

bywa danych, że pobudzenie wrodzonych szlaków aktywacji immunologicznej przez alergeny nasuwa nowe odpowiedzi na pytanie: co powoduje, że alergen rkd jest alergenem? [13]. Aktywacja receptorów wrodzonego układu odpornościowego jest krytycznym krokiem w inicjacji odpowiedzi immunologicznych. Wykazano, że dominujące alergeny, także Dp, mają właściwości, które mogłyby pozwolić im na interakcję z receptorami lektyny typu C, aby sprzyjać odpowiedziom Th2 zależnym, a wiele z nich wiąże lipidy i glikany, które mogą łączyć się z ligandami w celu naśladowania wzorców mikrobiologicznych związanych z patogenem [15]. Aktywność enzymatyczna czterech proteaz znajdujących się w roztoczu Dp bierze udział w patogenezie alergii [16]. Alergeny roztoczy można podsumować zgodnie z ich właściwością auto- adiuwantową i / lub ich powinowactwem do substancji wspomagających: enzymów proteolitycznych, białek wiążących lipidy, białek wiążących chitynę i alergenów niezwiązanych z aktywnością adiuwantopodobną [10].

W rzeczywistości więc rkd są nośnikami nie tylko dla uczulających białek, ale również mikrobiologicznych związków adiuwantowych i są w stanie stymulować wrodzone szlaki przekazywania sygnałów prowadzące do alergii [13].

Naturalnie występujące autoprzeciwiactwa IgG anty-IgE mogą hamować, a także wywoływać aktywację granulocytów zasadochłonnych. Działają w sposób odmienny od terapeutycznych przeciwciał IgG anty-IgE, takich jak omalizumab. Może to przynajmniej częściowo wyjaśniać, dlaczego niektóre osoby atopowe wytwarzające IgE swoiste dla alergenu nigdy nie wykazują objawów klinicznych i dlaczego terapia omalizumabem przynosi korzyści kliniczne w ciężkiej postaci astmy atopowej [17]. Większość chorych z alergią na rkd reaguje nawet na małe podzbiory ich białek[3].

Dermatophagoides pteronyssinus

Analiza komponent alergicznych

Zestaw białek występujących w organizmie roztoczy (proteom) jest wciąż ubogo opisany, przy czym najwięcej wiadomo o alergenach [5]. Wprowadzenie technik biologii molekularnej do badań alergologicznych pozwoliło do roku 2013 zidentyfikować ponad 20 grup alergenów skórożarłoczek skrytego (Dp) [8]. Der p 1 i Der p 2 były długo 2 głównymi spośród denominowanych (znanych i nazwanych) do niedawna alergenów, rozpoznawanymi przez ponad 80% IgE alergików Dp w Europie [18]. Według bazy Allergome.org do dnia 07.12.18 oficjalnie uznano 22 naturalnych alergenów roztoczy Dp oraz kilkadziesiąt ich wariantów. Ponadto dotychczas stworzono dwie hybrydy: Der p P1-P2, Der p P2- P1. Obecnie zidentyfikowano kolejne grupy alergenów roztoczy [9]. Odróżnia się już 37 odrębnych alergenów w gatunkach Dp i Df roztoczy, przy czym aktualnie 3 grupy (1, 2, 23) stanowią alergeny główne. Spodziewane są kolejne odkrycia [5]. Określa się, że Der p 4, Der p 5, Der p 7 i Der p 21 są alergenami średniej klasy (inaczej pośrednimi, am. mid-range, ang. mid-tier allergens), na które reaguje ponad 50% z uczulonych na rkd. Tzw. małe lub mało zbadane alergeny Der p 3, 6, 8-11, 13, 15-18, 20, 24-37 są wciąż analizowane. Większość uczulonych na rkd reaguje na małe podzbiory białek. Badania potwierdziły obecność alergenów w wyciągach Dp i D.farinae, przy czym grupy

2, 8, 10, 11, 14 i 10, 11 oraz 14 i 20 pochodzą z ciał rkd, zaś 1, 6, 18 i 23 z odchodów [15]. Poniżej szersze omówienie poszczególnych komponent Dp/Der p z punktu widzenia potrzeb alergologa–praktyka.

Der p 1 (d 202)

Proteaza cysteinowa, jak większość alergenów roztoczy Dp [18]. Ma duże znaczenie kliniczne w alergologii. Dotyczy 63–97 % uczulonych na rkd. [15]. Cała grupa 1 alergenów Dp to proteazy cysteinowe należące do rodziny papaino- podobnych [9]. Der p 1 należy do jednej z trzech grup alergenów kulek kałowych (inaczej peletek) skórozarłoczek skrytego o dominującej specyficzności w surowicy (ang., serodominant), obok grupy 2 oraz 23. Pojęcie serodominacji wprowadził w swoim celnym rozróżnieniu W. R. Thomas, dla podkreślenia znaczenia stężenia alergenu w surowicy chorego, a nie tylko częstości jego występowania wśród alergików, co wg IUIS opisuje się pojęciem alergenu głównego [15]. Dominujący alergen Der p 1 stwierdzono w powietrzu wewnątrz pomieszczeń w stężeniu 0,05–0,2 ng/m³, w większości w postaci dużych cząsteczek. W przeciwieństwie do dotychczasowego dogmatu znacznie mniejsze było narażenie a Der p 1 w łóżku [19]. Niedawno wykazano, że proteazy grupy 1 ściśle regulują aktywność proteolityczną grup 1, 3, 6 i 9 poprzez kompleksy wewnątrzkomórkowe lub międzykomórkowe mechanizmy molekularne [9]. Der p 1 w postaci rekombinowanej lub w naturalnym kontekście ekstraktu rkd specyficznym rozszczepia wszystkie zymogeny, stanowiąc tym samym główny aktywator zarówno proteaz cysteinowych, jak i serynowych roztoczy. To odkrycie sugeruje, że Der p 1 może być cennym celem w zwalczaniu alergii na Dp [16]. Wymienione proteazy, skądinąd w większo-

Reakcje krzyżowe: Aca s 1 (rozkruszek mączny); Amb a 11 (ambrozja); Blo t 1 (*Blomia tropicalis*); Cyn d CP (cynodon palczasty – trawa); Eur m 1; (*Euroglyphus maynei*); Phl p CP (tymotka łąkowa- trawa); Tyr p 1 (*Tyrophagus putrescentiae*) [22].

Der p 2

Glikoproteina lizosomalna wiążąca cholesterol. Znaczenie kliniczne bardzo duże, reaguje 80 % chorych [23]. Drugą główną grupą alergenów roztoczy wykazuje czynność biologiczną związaną z transportem białek między cytoplazmą a jądrem. Należy do drugiej rodziny kompleksu poru jądrowego (NPC2 – Nuclear pore complex 2) [15]. Pory jądrowe to otwory w podwójnej błonie jądrowej, służące do transportu dużych cząsteczek (np. mRNA, tRNA, wirusów) z jądra do cytoplazmy i odwrotnie, przez białka zwane nukleoporynami. Der p 2 ma homologię strukturalną z domeną MD-2 [18]. Domeny białka (albo zwoje białkowe) to fragmenty cząsteczki białka wyodrębnione ze względu na samoistną zdolność zachowania swojej struktury trójwymiarowej niezależnie od całej cząsteczki. Często domeny samoistnie zwijają się (ang. folding) z nowo wyprodukowanego łańcucha białka. Te same domeny często są obserwowane w różnych białkach. Domena MD-2 jest utożsamiana z czwartym receptorem Toll- podobnym (TLR4), którego ligandem jest lipopolisacharyd (LPS) [18]. W przypadkach AZS wykazano zwiększone występowanie Der p 2 oraz protein ciał rkd, które rzadziej powodują uczulenie, lecz wykazują większą skłonność do wiązania sIgE. Zjawisko to uznano za nowy kierunek badań naukowych [15]. Zdaniem Liao i wsp. [24] dobra korelacja pomiędzy stężeniem sIgE, a liczbą roztoczy w ocenie akarologicznej, pozwala na wykorzystanie pomiaru Der p 2 w surowicy zamiast bezpośredniego zliczenia roztoczy pod mikroskopem, przy czym w ich analizie liczba roztoczy w próbkach kurzu z materacy była znamiennej wyższa niż w dywanach, a całkowita ilość rkd okazała się większa latem, niż w innych porach roku [24]. Całkowita absorpcja aktywności wiążącej IgE przez Dp wskazuje, że nadwrażliwość na Tp może wynikać z reaktywności krzyżowej, a nie podwójnego uczulenia wobec Dp i Tp. Miana wiążące IgE alergenów z grupy 2 były dobrze skorelowane, a aktywność wiązania Tyr p 2 mogła zostać zaabsorbowana przez Der p 2, co sugeruje, że alergeny grupy 2 są głównym krzyżowo reaktywnym alergenem Dp i Tp [25]. Łącznie Der p 1 i Der p 2 identyfikują pomiędzy 63 i 97% pacjentów uczulonych na ekstrakty Dp, co potwierdzają badania wykonane w Europie, Ameryce Północnej i Japonii [15]. Reakcje krzyżowe z Der f 2, Aca s 2; Blo t 2; Eur m 2; Gly d 2; Tyr p 2 [26]. Zestawienie alergenów głównych rkd przedstawia tabela 1.

1 Tab. Trzy dominujące, główne alergeny RKD [wg 9, 15, 16, 18, 19, 22, 24, 26 modyfikacja KB]

Grupa alergenów	Nazwa biochemiczna	Masa cząsteczkowa	Wiązanie IgE	Miejsce pochodzenia	Aktywność biologiczna
Der p 1	Proteaza cysteiny	25 000	80-100%	Kulki kałowe	Proteoliza
Der p 2	Białko domeny ML NPC2	14 000	80-100%	Kulki kałowe (peletki)	Wiązanie lipidów w tym lipopoli-sacharydów
Der p 23	Perytrofina	8000	74%	Błona kulek kałowych	Wiązanie chityny

ści zaangażowane w układzie trawienia roztoczy, odgrywają krytyczną rolę w inicjacji i przewlekłej odpowiedzi alergicznej, zwłaszcza poprzez aktywację wrodzonych szlaków immunologicznych [9]. W badaniach krystalograficznych Der p 1 oraz Der f 1 wykazały 81% identyczności [15]. Uczulenie na co najmniej jedną swoistą cząsteczkę (Der p 1, 2, Der f 1, 2) stwierdzono u 32,7 % chorych. sIgE wobec grupy 2 roztoczy jest prawie zawsze reaktywne krzyżowo [20].

Liczba uczuleń na specyficzne komponenty wzrasta wraz z ciężkością choroby oraz wiekiem. Uczulenie na Der p 1 i Der p 2 u dzieci poniżej 5 roku życia jest czynnikiem predykcyjnym wystąpienia astmy w wieku szkolnym [21].

Der p 3

Należy do małych alergenów z grupy 3, pochodzi z jelita Dp. Strukturalnie to tripsyna, czynnościowo -jedna z proteaz serynowych. Większość proteaz jest syntetyzowana w nieaktywnej postaci, zwanej zymogenem, która składa się z propeptydu i domeny proteazy. Propeptyd jest zwykle zaangażowany w prawidłowe fałdowanie i specyficzne hamowanie enzymu. Propeptyd alergenu Der p 3, zawiera motyw bogaty w prolinę, który jest niezwykle dla proteazy podobnej w aktywności do tripsyny [9]. Der p 4. Alfa amylaza. Grupa 4 nale-



ży do alergenów średniej kategorii. Wyzwała odpowiedź IgE u niemal 40% uczulonych, poza alergenami głównymi [15]. Przy pomocy diagnostyki komponentowej (KRD) możliwe było zidentyfikowanie nowego alergenu karaczana *Blattella germanica* (α -amylaza Blattella 53 kDa), który może uwrażliwiać odpowiedni odsetek populacji osób z astmą i alergią na rkd [27], ale także reagować nieoczekiwanie z immunoglobuliną E dla α -amylazy świerzb, obecną w surowicach osób, które miały taki kontakt. [15]. Der p 5. Należy do grupy 5, której przypisuje się aktywność chymotrypsyny [9]. Der p 5 może indukować odpowiedź u około 40 % pacjentów i należy do alergenów pośrednich, obejmując część reakcji IgE, poza alergenami głównymi [15]. Posiada trzy helikalne wiązki z zagiętą N-końcową helisą, która łączy się w splecionej strukturze dimerycznej z dużą hydrofobową wnęką. To wgłębienie może brać udział w wiązaniu ligandów, które z kolei mogą być odpowiedzialne za przesunięcie odpowiedzi immunologicznej z tolerancji na zapalenie alergiczne [6].

Der p 5

Wywiera niezależną od proteazy aktywację linii komórkowej ludzkiego nabłonka dróg oddechowych A549, która obejmuje mobilizację Ca²⁺, a także prowadzi do wytwarzania określonych cytokin. Alergeny obecne w ekstraktach rkd mogą wyzwać zależne od proteazy i niezależne od proteazy ścieżki sygnałowe w komórkach A549 [28]. Blo t 5 to podobna monomeryczna potrójna cząstka helikalna reagująca krzyżowo z roztocza *Blomia tropicalis*.

Der p 6

Chymotrypsyna, Grupa 6 alergenów rkd. Czynność biologiczna: proteaza serynowa [22]. Zymogen proDer p 6 wytworzono w *Pichia pastoris* w celu wyjaśnienia mechanizmu jego aktywacji przez proteazy roztoczy. Badano również rolę propeptydu w hamowaniu enzymatycznej aktywności Der p 6. Propeptyd pro-Der p 6 hamował aktywność proteolityczną Der p 6, ale po rozszczepieniu był degradowany przez proteazę. Proteazy Der p 6 zostały zlokalizowane w obrębie jelita środkowego roztoczy [16].

Der p 7

Grupa 7 alergenów może indukować odpowiedź u około 40 % pacjentów i należy do alergenów pośrednich, obejmując znaczną część reakcji IgE poza alergenami głównymi [15]. Der p 7 jest homologiczny do Der f 7 pod względem sekwencji aminokwasowej i ogólnej struktury 3D, ale ze znaczącymi różnicami w regionie proksymalnym do epitopu IgE i stabilnością termiczną [29]. Określono strukturę krystaliczną Der f 7, która pokazuje wydłużoną i zakrzywioną cząsteczkę składającą się z dwóch arkuszy β , jednej 4-niciowej i drugiej 5-niciowej, które zawiązują się wokół długiej helisy C-terminalnej. Ogólnie Der f 7 jest podobny do Der p 7, ale kluczowa różnica została stwierdzona w regionie pętli beta 1- beta 2 [29] Reaguje krzyżowo z Aca s 7; Blo t 7; Gly d 7; Lep d 7; Tyr p 7[26]. Tabela 2 prezentuje grupę alergenów pośrednich rkd.

Der p 8

GST (Glutathione-S-transferase), grupa 8 białek rkd. Komponent uzyskany z ciała roztoczy. Czynność biologiczna:

transferaza S glutationu. Alergeny z grupy 8 roztoczy zostały zidentyfikowane jako ważny alergen roztoczy, karaluchów i grzybów [24]. Istnieje podobieństwo Der p 8, do jej homologów w *Suidasia medanensis*, Ld, Gd i *Aleuroglyphus ovatus* (odpowiednio 64, 65, 53, 53 i 50%). Rekombinowany Der f 8 związany z surowicami od 40,9% pacjentów uczulonych na roztocza [30]. Rekombinant Per a 5 (rPer a 5) może być przydatny do dalszych badań nad zrozumieniem roli podobnych komponent naturalnych w alergii. GST z różnych stawonogów może wywoływać podobne reakcje alergiczne [31]. Wykazano, że surowice badanych w 45,3% miały specyficzne IgE przeciwko rTyr p8. Jednak tylko 17,9% surowic miało swoiste IgE przeciwko rTyr p8 po absorpcji Dp. [24]. Surowice od tajwańskich astmatyków wykazywały 96% i 84% reaktywność IgE odpowiednio do natywnego Der p 8 i rekombinowanego Der p 8. Der p 8 może być przydatny do diagnozy i opracowania nowych immunoterapii. Mimo wysokiej częstości uczulenia na roztocza GST wśród osób z alergią, miana IgE są zwykle niskie [24].

Der p 9

Grupa 9 alergenów rkd. Kolagenaza serynowa, czynność biologiczna- proteaza serynowa albo kolagenolityczna proteaza serynowa (Collagenolytic Serine Proteases, Serine Protease). Znaczenie kliniczne małe [9]. Reakcje krzyżowe z Der f 9, Blo t 9 [26].

Der p 10

Tropomiozyna. Czynność biologiczna: białko skurczu mięśni (Muscle Contraction Proteins). Natywny komponent Der p 10 (nDer p 10) podobnie jak rekombinowany (rDer p 10) mają α -helikalne epitopy wiążące IgE. Der p 10 jest rozpoznawany przez 15,2% pacjentów z alergią na rkd [4]. Wykazano, że rDer p 10 towarzyszy częściej alergii pokarmowej [32]. Tropomiozyny reprezentują klinicznie istotne alergeny owoców morza, ale rola Der p 10 w alergii roztoczowej wciąż nie została szczegółowo zbadana [4]. Pacjenci z wynikami Der p 10 ujemnymi byli pierwotnie uczuleni na Der p1 i / lub Der p 2, przy czym pacjenci z Der p10 dodatnimi reagowali na kilka innych alergenów lub wykazywali raczej selektywną reaktywność jedynie wobec Der p 10. Działanie uczulające Der p 10 było ogólnie

2 Tab.		Cztery alergeny roztoczy kurzu domowego klasy średniej [wg 6, 9, 15, 26, 28, 29, 33, 34 zmodyfikowano KB]			
Grupa średnich alergenów RKD	Nazwa biochemiczna	Masa cząsteczkowa	Wiązanie IgE	Miejsce pochodzenia	Aktywność biologiczna
4	Amylaza	56 000	40%	Kulki kałowe	Hydrolaza glikozydowa
5	Chymotrypsyna	14 000	30- 40%	Kulki kałowe	Wiązania hydrofobowe?
7	Białko podobne do wiążącego LPS	21000	40%	Niejasne	Wiązania hydrofobowe?
21	Nieznane homologi grupy 5	14000	30%	Jelito	Wiązania hydrofobowe?

niskie, ale można było zidentyfikować pacjentów, którzy cierpieli na klinicznie istotną alergię na rkd z powodu izolowanego uczulenia na Der p 10. Tacy pacjenci mogą wymagać uwagi, gdy rozważana jest immunoterapia alergenem [4].

Tropomiozyny występują ponadto w nicieniach, jak Anisakis simplex (nAni s 3), krewetkach (n Pen m 1) czy karaluchach (Per a 7).

Rzeczywiste uczulenie na co najmniej jeden swoisty dla karalucha komponent (Bla g 1, 2, 5) było bardzo rzadkie (0,6 % przypadków) i prawie zawsze towarzyszyło temu współuczulenie na inne molekuly nie pochodzące z karaluchów. Nadwrażliwość na wziewną tropomiozynę odnotowano rzadko, u 2,2 % pacjentów (Der p 10 w 1,9 % oraz Bla g 7 w 1,5 % przypadków) [20].

paramiozyny jest trudne do oceny, z powodu niestabilności zarówno formy natywnej, jak i rekombinowanej tego białka. Po przyjęciu tego zastrzeżenia wiązanie paramiozyny z IgE uchwycono u 5% surowic chorych z astmą, natomiast 60% osób z AZS [15]. Ocenia się, że rDer p11 może być przydatnym serologicznym markerem alergenowym do identyfikacji podgrupy pacjentów z alergią roztoczą cierpiących na AZS związany z rkd [33].

Der p 13

Białko wiążące kwasy tłuszczowe (Fatty acid-binding protein). Masa cząsteczkowa 15 kD, uczula wziewnie, pochodzi z ciała roztoczy.

Der p 14

Grupa 14 alergenów RKD. Witelogenina, masa 177 kD. Wykazuje czynność apolipoporyn (Apolipoporphins). Grupa 14 zawiera duże białka wiążące lipidy (large lipid binding proteins-LLBP) [15]. Stwierdzono wysoką reaktywność Der p 14 z sIgE oraz limfocytami T uczulonych osób. [22] lecz nadal wymaga to badań [15].

Der p 15

Chitynaza. Występuje w przewodzie pokarmowym roztoczy. Uczulenie na Der p15 i Der p 18 ma niewielki wpływ na miano przeciwciał anti-rkd IgE, a miana nie korelują z rozmiarem odpowiedzi na główne alergeny [34].

Der p 16

Panalergen -Gelsolina, alergen ciała roztoczy. Białko regulatorowe aktywno- dokładniej wiążący lipidy regulator mikrotubul. Reaguje krzyżowo z Der f 16 oraz z gelsoliną homara amerykańskiego, muszki owocowej (Drosophila melanogaster) [22].

Der p 17

Białko z motywem ręki EF. Pochodzenie – ciało rkd. Czynność: wiązanie jonów wapnia. Reaguje krzyżowo z Der f 17 [22].

Der p 18

Chitynaza. Mały alergen RKD [36]. Częstość występowania miana IgE dla Der p15 i Der p 18 była niska (38%), a tylko jeden osobnik miał miano > 10 ng / ml. Średnie miana anti-Der p 15 i Der p18 wynosiły odpowiednio 1,2 i 2,6 ng / ml, tj około 10 do 20 razy mniej niż odpowiedź na główne alergeny Der p 1 i Der p 2 (p <0,001) Uczulanie na Der p15 i Der p 18 ma niewielki wpływ na miano przeciwciał anti-rkd IgE, a miana nie korelują z rozmiarem odpowiedzi klinicznej na główne alergeny [34]. rDer p 18 został wykryty i oczyszczony jako pofalowane, biologicznie aktywne białko. Posiada słabą zdolność wiązania chityny oraz częściową reakcję krzyżową z Der f 18 uzyskanym z D. farinae. Alergen ten jest głównie zlokalizowany w macierzy perytroficznej jelitarkd i w niskim stężeniu w peletkach kałowych. W Austrii reakcje IgE na Der p 18 ujawnia 10 % chorych, co potwierdzono testem aktywacji bazofilów, dlatego komponent ten powinien być włączony do zestawu diagnostycznego alergii na eozotocze [35].

3

Tab.

Dwanaście grup małych alergenów roztoczy [wg 15, 24, 30, 33, 34, 35, 38 modyf. K. Buczyko]

Grupa małych alergenów	Nazwa biochemiczna	Wiązanie IgE	Miejsce pochodzenia	Aktywność biologiczna
3	Trypsyna	16-100%	Jelito środkowe	Proteaza serynowa
6	Białko podobne do chymotrypsyny	39-41%	Jelito środkowe	Proteaza serynowa
8	Transferaza S glutationu	40- 75%	Ciało	Transferaza glutationu
9	Proteaza kolagenolityczna	92%	bd	Proteaza serynowa
10	Tropomiozyna	15,2%	Mięśnie	Białko mięśni
11	Paramiozyna	5% Astma 60% AZS	Mięsień pod skórą	Białko mięśni
13	Białko wiążące kwasy tłuszczowe	bd	Jaja roztoczy	Przenoszenie lipidów (apolipoforyna)
15	Chitynaza	bd	Jelito, peletki	Hydrolaza glikozyłowa
16	Gelsolina	bd	Ciało	Wiążący lipidy regulator mikrotubul
17	Białko z motywem ręki EF	bd	Ciało	Wiązanie jonów wapnia
18	Białko wiążące chitynę	10- 38%	Jelito, peletki	Podobna do chitynazy
20	Kinaza argininy	bd	bd	Podtrzymywanie ATP

Der p 11

Paramiozyna. Czynność biologiczna: białko aktywności motorycznej (Motor Activity Proteins) bezkręgowców. Alergen o wysokiej masie cząsteczkowej, Der p 11. Analiza sekwencji wykazała, że Der p 11 ma wysoką homologię do paramiozyny z innych roztoczy oraz kleszczy i bezkręgowców. Stosując przeciwciała wzbudzone przeciwko rDer p 11 w mikroskopii elektronowej, alergen umiejscowiono w mięśniu pod skórą ciała roztoczy, ale nie w kale. Der p 11 jest głównym alergenem dla pacjentów cierpiących na atopowe zapalenie skóry (AZS), podczas gdy jest to mniej istotny alergen dla pacjenta cierpiącego na alergię dróg oddechowych [33]. Wiązanie IgE do grupy 11 alergenów czyli



Der p 19

Grupa 19 rkd, jest reprezentowana głównie przez komponent Blo t 19 tropikalnego roztocza *Blomia tropicalis* [22].

Der p 20

Kinaza argininowa. Nazwa pospolita kinaza argininy ilustruje jej funkcję biologiczną. Grupa 20 alergenów roztoczy, podobnie jak grupa 4, wykazuje reakcje krzyżowe z wyciągami świerzbowca (*Scabies*). Stanowi mały alergen RKD, z ryzykiem reakcji krzyżowych z innym małym alergenem - Der p 10 oraz z owocami morza [15]. Świerzbowce zostały uznane za duży kłopot w diagnostyce, ponieważ osoby nimi zainfekowane, a nawet tylko narażone na kontakt, posiadają wysokie miana IgE wiążące amylazę (Der p 4) oraz kinazę argininową (Der p 20) [22]. Poniżej Tabela 3 obejmująca małe alergeny rkd.

Der p 21

Grupa 21 alergenów indukuje odpowiedź u około 40% badanych uczulonych na alergeny pośrednie. Miano IgE jest proporcjonalne do towarzyszącej reakcji wobec Der p 1 i/lub 2 [15].

Der p 22

Białko podobne do MD-2 (MD-2 like protein). Reaguje krzyżowo z Der f 2, jest zbliżone do grupy 2, ale tylko z 42% identycznością aminokwasów. Alergenność nieznana, opisano Der f 2 w genomie Df [36].

Der p 23

Białko podobne do perytrofiny (Peritrophin-like proteins). Należy do III klasy chitynaz. Nowy, główny alergen rkd, który jest rozpoznawany przez ponad 42% [wg 5] do 87% [wg15] pacjentów z alergią na Dp, ma wysoką aktywność i musi być uważany za ważny składnik immunoterapii specyficznej. Masa 8 kD [33]. Znaczenie kliniczne duże. Miano wiązania z sIgE było podobne do Der p 1 oraz 2, ponadto zaobserwowano wysoką aktywność w teście degranulacji bazofilów. Tylko u nielicznych badanych stwierdzano silne wiązanie Der p 23 z IgE bez reakcji z Der p 1 ani Der p 2 [15]. Pomimo tego, że u pacjentów uczulonych na rkd poziom sIgE dla Der p 23 jest średnio 5 razy niższy w porównaniu z Der p 1 i Der p 2, alergen ten wydaje się być 10-krotnie silniejszym aktywatorem komórek tłuszcznych niż Der p 1 [5]. Wyizolowany Der p 23 wykazał homologię sekwencji z perytrofinami, które zawierają domeny wiążące chitynę i są częścią matrycy perytroficznej wyściełającej jelita stawonogów i jamę środkową Dp, a także występują na powierzchni peletek kałowych. Mówiąc dokładniej stanowi część chitynowej błony perytroficznej kulki łajna (dung ball), kontrolującej trawienie i chroniącej jelito przed procesami trawienia. Stwierdzany w małych ilościach w wyciągach rkd. Wpływ komponenty Der p 23 na diagnozę był początkowo kwestionowany i wymagał potwierdzenia obecności w powietrzu, którym oddychał chory. Okazało się, że reaguje z IgE 74% pacjentów z alergią Dp na poziomach porównywalnych do dwóch głównych alergenów, Der p 1 i Der p 2 [37]. Pogłębiona charakterystyka głównego alergenu skórożartoczek Der p 23 wymagała stworzenia jego rekombinowanego odpowiednika, ponieważ naturalny alergen jest trudno uzyskać z peletek kałowych [38]. Dostępne prace wykazują, że poziom sIgE dla Der p 23 może stanowić

istotną informację odnośnie progresji choroby i alergen ten może być uważany za marker ciężkości astmy u osób z alergią na rkd. Komponent Der p 23 może pomóc zidentyfikować do 5% więcej pacjentów uczulonych na ekstrakt rkd w porównaniu

4 Tab. Zbiór 14 nowych alergenów D. pteronyssinus o nieustalonej ważności [wg 15, 22, 25, 33, 34, 36, 37, 38 zmodyfikowano i uzupełniono K.Buczylko]

Alergen	Skrót	Nazwa międzynarodowa	Nazwa biochemiczna polska
Der p 14	LLTP	Large lipid transfer protein	Duże białko przenoszące lipidy
Der p 22		MD-2 like protein	Białko podobne do MD-2
Der p 24		Ubiquinol-cytochrome C reductase binding protein	Białko wiążące reduktazę ubikwinołu-cytochromu C
Der p 25		Triosephosphate isomerase	Izomeraza triozofosforanowa
Der p 26		Myosin alkali light chain	Zasadowy łańcuch lekki miozyny
Der p 27		Serpin	Serpina
Der p 28	HSP	Heat Shock Protein	Białko szoku cieplnego
Der p 29		Cyclophilin	Cyklofilina
Der p 30		Ferritin	Ferrytyna
Der p 31		Cofilin	Kofilina
Der p 32		Pyrophosphatase	Pirofosfataza
Der p 33		Alpha-tubulin	Alfa tubulina
Der p 36*		Profilin?	Białko wiążące aktynę
Der p 37*	PLP	Petrotrophic-like protein	Białko podobne do petrotrofiny

do chorych diagnozowanych tylko na Der p 1 i Der p 2. Der p 23 reaguje krzyżowo z Blo t 12 i Der f 23 (wspólne białko wiążące domenę chityny) [15]. Zbieżność sekwencji grup aminokwasowych Der p 23 oraz odpowiadającego mu homologu Der f 23 zawartego w Df wynosi 87%.

Der p 24

Grupa 24 alergenów rkd. Der p 24 to białko wiążące reduktazę ubikwinołu- cytochromu C. (Ubiquinol-Cytochrome C Reductase binding Protein). Złożona nazwa dobrze opisuje czynność biologiczną alergenu, który w niewielkich ilościach występuje w ciele roztoczy i wymaga dalszych badań [15].

Der p 25-33

Izomeraza triozofosforanowa (Triosephosphate isomerase). Der p 26. Zasadowy łańcuch lekki miozyny (Myosin alkali light chain), ma duże znaczenie w alergii krzyżowej z bezkręgowcami. Der p 27 Serpina (Serpin), Der p 28. Białko szoku cieplnego (HSP- Heat Shock Protein), Der p 29. Cyklofilina (Cyclophilin), Der p 30. Ferrytyna (Ferritin), Der p 31 Kofilina (Cofilin), Der p 32 Pirofosfataza (Pyrophosphatase), Der p 33. Alfa tubulina, niedawno opisana, wymaga dalszych badań [15].

Der p 36

Pochodzi z ciała roztoczy, prawdopodobnie jest to profilina, białko wiążące aktynę. Przynajmniej tak jest w Tyr p 36, Blo t 36. Rola biologiczna w rkd Der p 36 i Der f 36 oraz Eur m 36 nieznana [36].

Der p 37

Grupa 37 roztoczy, Białko podobne do petrotrofiny (PLP-Petrotrophic-like protein). Pochodzi z całego ciała Dp, dociera do nosa i oskrzeli drogą wziewną. Czynność biologiczna zbliżona do perytrofiny. Alergenowość badana na izolowanych chromatograficznie białkach Der p 37 wykazała potrzebę dalszego oczyszczenia i ponownej oceny jakościowej dla wykluczenia wiązania krzyżowo reagujących determinant węglowodanowych CCD. W rDer p 37 ujawniono słabe wiązanie do łańcuchów lekkich miozyny oraz fosfatazy i ferrytyny [36].

Alergeny o nieustalonej ważności (Grupy 14, 22, 24-33, 36-37*) zebrano w Tabeli 4. Gwiazdką* oznaczono świeżo odkryte alergeny, nieobecne jeszcze w bazie allergome.org

Ocenia się, że 20 do 47% chorych posiada IgE wobec alergenów z grup 4, 5, 7, 13, 15, 21 oraz 23. Według najnowszych badań wszyscy chorzy posiadają IgE reagujące z alergenami obecnymi w ciałach (grupy 2, 8, 10, 11, 14 i 20) oraz odchodach (grupy 1, 6, 18, 23) roztoczy, co koryguje niedawne przekonania [7].

Obrazy kliniczne alergii na rkd

Roztocza kurzu domowego to główny alergen w alergicznej nieżytu nosa (ANN) i astmie oskrzelowej atopowej [14], ale także w niektórych formach alergii pokarmowych i skórnych [23]. Także niektórzy polscy badacze wymieniają, jako skutek ekspozycji na roztocza, także atopowe zapalenie skóry (AZS) [12]. Pojawia się coraz więcej doniesień, że uczulenie na rkd powoduje przewlekłe zapalenie minimalne oraz, po bardziej masywnym kontakcie, wywołuje silne zaostrzenia zapalenia w obrębie skóry i błony śluzowej dróg oddechowych osób atopowych skutkujące rozwojem AZS, a także ANN i astmą [13].

Atopowe zapalenie skóry

Niedawno wykazano, że alergia na rkd u chorych z AZS ma szczególne powinowactwo do reakcji IgE zależnych wobec alergenów ciała roztoczy, zwłaszcza dla komponent Der p 2, 10, 11 oraz 14, niemal nie wykrywalnych u pacjentów z chorobami oddechowymi [33]. Opisana konstelacja komponent przypuszczalnie oznacza zły prognostyk dla ustępowania wyprysku wraz z dorastaniem [15].

Alergiczny nieżyt nosa

Alergeny roztoczy z rodziny *Pyroglyphidae* są najczęstszymi i najsilniejszymi źródłami wieloletniej astmy i nieżyty nosa [18]. Reakcje krzyżowe w ANN związane z innymi roztoczami ilustruje następujące badanie. Wśród uczulonych na rkd było 81 osób (81/82) wrażliwych na Dp i 34 osoby (34/82) wrażliwe na Tp. Wśród osób nadwrażliwych na Tp, 97% było również uczulonych na Dp. W analizie hamowania wiązania IgE, 59% osób miało aktywność wiążącą IgE Tp, która została całkowicie wchłonięta przez Dp, zwłaszcza składniki o MW przy 16 kDa [24].

Astma oskrzelowa

Długotrwały kontakt z alergenami rkd może powodować u osób wrażliwych uchwytne w badaniu wysokorozdzielczą tomografią komputerową pogrubienie ścian oskrzeli, zmniejszenie

ich światła, zwłaszcza w szczytach płuc, a także skurcz drobnych oskrzeli wywołujący duszność. Fakty te stwierdzono u chorych z ciężką astmą, do której przyczyniła się nadmierna ilość roztoczy w poślaniach i pomieszczeniach pacjentów [39]. Alergeny rkd indukują odpowiedź zapalną w płucach z powodu uwalniania cytokin, chemokin i dodatkowych mediatorów [28]. Mysie modele w badaniach nad astmą niedawno przełączyły się z zastosowania zastępczej albuminowej albuminy jajowej wraz z adiuwantem na ekstrakt rkd. Przyspieszyło to zrozumienie, w jaki sposób odporność adaptacyjna i wrodzona generuje patologię dolnego odcinka dróg oddechowych. Zrozumienie szlaków molekularnych, które wywołują patologię związaną z rkd, prawdopodobnie ujawni nowe cele interwencji terapeutycznej [11]. Pomiar sIgE może pomóc w identyfikacji czynników ryzyka, które powodują astmę u pacjentów.

Opracowanie i zastosowanie zindywidualizowanych testów opartych na alergenach molekularnych było kluczowym postępowaniem w dokładnym diagnozowaniu i kontrolowaniu pacjentów z alergią [27]. Ostatnio zbadano w Chinach surowice 57 chorych z astmą uczulonych na wiele alergenów. Według wyników ISAC najczęściej uczulały komponenty roztoczy nDer f 1 (71.9%), rDer f 2 (73.7%), nDer p 1 (70.2%) oraz rDer p 2 (66.7%), podczas gdy rDer p 10 i inne występowały do 10%. Chorzy z AOA z ANN byli uczuleni na więcej alergenów niż astmatycy bez nieżyty nosa [32].

Diagnostyka alergii związanej z RKD**Punktowe testy skórne (PTS)**

Klasyczne punktowe testy skórne (PTS) oparte o mieszaniny alergenowe stanowią pierwszy krok potwierdzający uczulenie na rkd, co wystarcza do podjęcia akarosanacji oraz leczenia objawowego i/lub przeciwwzapalnego. W obserwacjach własnych autora (KB) w porównaniu PTS z Dp oraz Df, użycie antygenów 3 roztoczy spizarniowych pozwoliło na ustalenie właściwego rozpoznania u dodatkowej grupy około 1/3 badanych, oraz w tym samym odsetku poszerzyło diagnozę przyczynową, lub u uczulonych wyłącznie na Dp i Df, nie miało istotnego znaczenia.

Diagnostyka komponentowa

Natomiast u chorych kwalifikowanych przez alergologa do odczulania, zalecana jest identyfikacja właściwego czynnika uczulającego na poziomie diagnostyki komponentowej [26]. Użycie kombinacji Der p 1 plus Der p 2, umożliwia rozpoznanie co najmniej 97% spośród osób uczulonych na Dp. Tym niemniej ponad połowa z nich reaguje także z innymi alergenami rkd, wobec których reaktywność IgE występuje ze zmienną częstością [24]. Przeciwciała swoiste dla kilku alergenów Dp (Der p 1, 2, 5, 7, 10 i 21) wykorzystano do analizy ekstraktów od 10 różnych producentów metodą immunoblottingu. Tylko Der p 1 i Der p 2 wykryto we wszystkich ekstraktach, ale ich stężenia i stosunki wykazały dużą zmienność (Der p 1: 6,0-40,8 mikrogram/ml, Der p 2: 1,7-45,0 mikrogram/ml). Co najmniej 1 z 4 alergenów (tj. Der p 5, 7, 10 i 21) nie został wykryty w 8 z badanych ekstraktów [40]. Niedawne badania jasno wskazują, że rDer p 23 jest znacznie bardziej właściwy do diagnostyki komponentowej alergii niż ekstrakt rkd.



5
Tab.

Najważniejsze reakcje krzyżowe roztoczowo-pokarmowe i zbliżone D. pteronyssinus [wg 22, 26, 31, 36, 43, 47 zmodyfikowano i uzupełniono K.Buczylko]

Inne roztocza	Dermatophagoides pteronyssinus	Karaluchy	Komponenty alergenów pokarmowych		Pasożyty/inne bezkręgowce
Der f 4 Eur m 4	Der p 4/5 α- amylaza	Bla g α- amylaza karalucha	α- amylaza Hel as ślimaka	α- amylaza z Aspergillus orizae, jako ulepszacz mąki	α- amylaza świerzbu
Der f 10 Gly d 10 Lep d 10 Blo t 10 Tyr p 10	Der p 10 Tropomiozyna	Bla g 7 prusaka; Per a 7 kara- czana	Cha f 1 kraba; Cra g 1 ostrygi; Gad m 4 dorsza; Hal d 1, Hal m 1 małży; Hel as 1 ślimaka; Hom a 1 homara; Lit v 1, Met e 1 krewetek, Mim n 1 przegrzebka; Oct v ośmiornicy; Ore m 4 tilapii; Pen a 1, Pen m 1 krewetki tygryskiej, Pan b 1 krewetki północnej, Per v 1 małży zielonej; Pan s 1 langusty; Sal s 4 lososia; Tod p 1 kalamarnicy; Tur c 1; Uro du 1 kalmara; Ven ga 1 małży;		Ani s 3 nicieni (sushi) Lep s 1 rybika cukrowego Asc l 3 glisty ludzkiej, Chi k 10 ochotki (pokarm dla rybek)
Der f 11 i inne roztocza, kleszcze	Der p 11 Paramiozyna	Bla g 6 prusaka	Bezkręgowce		Ani s 2 nicieni
Der f 16,	Der p 16 Gelsolina	bd	Hom a Homara amerykańskiego		bd
Der f 20	Der p 20 Kinaza argininowa	bd	Pen m 2 krewetki tygryskiej, Cra c 2 krewetki północnej, Lit v 2 krewetki białej, Pro c raka luizjańskiego,		
bd	Der p 26 Zasadowy łańcuch lekki miozyny	Bla g 8 pru- saka	Art fr 5 krewetki słonowodnej, Cra c 5 krewetki północnej; Hom a 3 homara; Lit v 3 krewetki białej; Pen m 3 krewetki tygryskiej		

Analiza mikromacierzy molekuł alergenowych

Analizę mikromacierzy molekuł alergenów można uznać za odpowiednie narzędzie badawcze do badań przesiewowych IgE na dużą skalę u niemowląt i dzieci z AZS [41]. Z praktycznego punktu widzenia epidemiologia molekularna umożliwiła lepszy wybór cząsteczek alergenów przydatnych w diagnostyce [18]. Badania nad wiązaniem Dp przez IgE wykazują, że 50–70% odpowiedzi na klasyczną mieszaninę Dp, zależy od reakcji z Der p 1, 2 oraz 23, które wspólnie wywołują odpowiedź u niemal wszystkich chorych z objawami alergii na roztocze. Pozostała część reaguje na jeden lub wszystkie alergeny pośrednie Der p 4, 5, 7 i/lub 21 [15].

Dospojówkowa próba prowokacyjna

Ocena przydatności dospojówkowej próby prowokacyjnej (DSPP) u chorych nadwrażliwych na roztocze ujawniła 100% zgodności z PTS. Na podstawie krzywej ROC ustalono, że optymalne stężenie alergenu podawanego dospojówkowo wynosi 10 mg/ml. Próba korelacji między wielkością bąbla skórniego, a nasileniem odczynu w obrębie spojówek wykazała słabą zależność [15]. W procesie diagnozowania należy pamiętać o ryzyku reakcji krzyżowych. Aktualne dane na ten temat zebrano w tabeli 5.

Profilaktyka, w tym akarosacja

Opisano wielokrotnie zależność pomiędzy poziomem alergenu, a rozwojem alergii u osób specyficznie uczulonych, stąd promowanie unikania kontaktu z aeroalergenami może zapobiegać zaostrzeniom choroby i sprzyjać remisjom [24]. Należy podkreślić znaczenie roztoczy jako kontaminacji pokar-

mów. Najważniejsze w tym względzie okazały się roztocze spizarniowe ponieważ powodowały astmę zawodową na drodze wziewnej oraz anafilaksję po spożyciu zanieczyszczonych produktów. Akarosacja prowadzi do wyępienia (lub choćby obniżenia stężenia) szczególnie tych alergenów, które na razie rzadko stosuje się do leczenia. Arlian i wsp. [42] podjęli próbę ustalenia skuteczności prania w maszynach pralniczych pod kątem usuwania żywych roztoczy i ich alergenów. Pościel i ubrania zainfekowane przez Df poddawano różnym wersjom prania, następnie liczone przetrwałe roztocze oraz oceniano stężenie alergenów głównych. Pranie z detergentem zabijało i usuwało 60% Df, a z detergentem i wybielaczem- 80% żywych roztoczy. Jak chodzi o antygen – 79 % Der f 1 zostało usunięte w czasie prania w ciepłej wodzie z samym detergentem, a 98 % dopiero po dodaniu do detergentu wybielacza.

Immunoterapia

Diagnoza i immunoterapia alergii na rkd nadal opiera się na naturalnych ekstraktach alergenów [40]. Specyficzna immunoterapia (SIT) z użyciem ekstraktów rkd jest skuteczna, lecz preparaty te nie są w pełni wystandaryzowane, a podczas przedłużonego przebiegu leczenia mogą wystąpić poważne skutki uboczne [8]. Ryzyko takie ilustruje przypadek 21-letniego pacjenta z astmą, który przeżył 4 epizody anafilaksji w ciągu 22 dni. Dane z wywiadu sugerowały, że epizody były spowodowane przez rkd, co potwierdzały badania kurzu w miejscu zaostrzeń, wysokie miano sIgE, PTS (+) dla Dp/Df z uogólnioną pokrzywką 2 godziny po teście. Podobna reakcja wystąpiła po pierwszych dawkach SIT rkd, mimo osłony lekami przeciwhistaminowymi. Pokrzywka wymagała dalszego

rozcieńczenia ekstraktu roztozczy dla SIT. Obserwacja trwająca ponad 22 lata dała pomyślny wynik, bez nawracających epizodów anafilaksji [43]. Lecznice ekstrakty rkd różnią się znacznie wzajemną zawartością Der p 1 i Der p 2, chociaż ostatnio zostały wprowadzone wystandaryzowane tabletki do terapii podjęzykowej, w których stosunek Der p 1: Der p 2 jest bliski jedności [44]. Leczenie tabletką podjęzykową zawierającą rkd przez 1 rok powodowało znaczące zmniejszenie dni zaostrzeń ANN w grupie aktywnej do 5%, wobec placebo 11%. Jednocześnie wzrastała znamienne liczba dni ze słabymi objawami, z 16% w grupie placebo, do 34% w aktywnej [45]. Po 3 latach leczenia SCIT rkd nastąpiło znaczące zmniejszenie objawów i poprawa jakości życia zależnej od choroby. Poprawa w stosunku do wartości wyjściowych utrzymywała się do końca obserwacji czyli 5 lat, z przewagą wśród dzieci wobec dorosłych. Większej poprawie sprzyja wcześniejsze podjęcie SIT [21]. Podobne dobre efekty dake odczulanie podjęzykowe w kroplach (SLIT). Z najnowszych badań wynika uza-

sadnienie dla SIT (SLIT lub SCIT) z alergenami rkd. SCIT rkd wywołuje pobudzenie alergenowo- swoistych komórek Treg (asTreg) z jednoczesnym hamowaniem subpopulacji komórek dysfunkcyjnych [46].

Rekombinowane alergeny rkd można wytwarzać w określonych stężeniach i stałej jakości, co pozwala na opracowywanie szczepionek o zmniejszonej aktywności alergicznej i zachowanej immunogenności, które mogą polepszyć SIT [8]. W tym kontekście można rozważać nowe koncepcje immunoterapii oparte na genetycznie modyfikowanych hipoalergicznym wariantach głównych alergenów, stosowanych samodzielnie lub w połączeniu [18] czy też konwersję Der p 23, w hipoalergiczną szczepionkę [38].

Postępy w rozwoju metod biochemicznych dają szansę stworzenia kompletnego panelu komponent alergenów roztozczy, umożliwiającą terapię optymalnie dostosowaną do pacjenta [3].

Prace nadesłano

20.04.2019

Zaakceptowano do

druku 26.04.2019

Konflikt interesów nie występuje. Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

- Piśmiennictwo:** 1. Boczek J, Blaszkak C. Roztozce (Acari) Znaczenie w życiu i gospodarce człowieka. Wyd. SGGW Warszawa 2016 2. Solorz K. Alergogenne roztozcy występujące w kurzu domowym. w: Alergia na roztozce. Red. B. Majkowska-Wojciechowska, Mediton, Łódź 2005, 40-50 3. Cui Y, Wang Q, Jia H. Consideration of methods for identifying mite allergens. Clin Transl Allergy. 2018 Apr 27;8:14. doi: 10.1186/s13601-018-0200-4. eCollection 2018. 4. Resch Y, Weghofer M, Seiberler S et al. Molecular characterization of Der p 10: a diagnostic marker for broad sensitization in house dust mite allergy. Clin Exp Allergy 2011; 41(10):1468-1477 5. Bordes-Le Floch V, Le Mignon M, Bussières L et al. A combined transcriptome and proteome analysis extends the allergome of house dust mite Dermatophagoides species. PLoS One. 2017 Oct 5;12(10):e0185830. doi: 10.1371/journal.pone.0185830 6. Khemili S, Kwasiagoch JM, Hamadouche T et al. Modelling and Bioinformatics Analysis of the Dimeric Structure of House Dust Mite Allergens from Families 5 and 21: Der f 5 Could Dimerize as Der p 5. J Biomol Struct Dyn 2012; 29(4):663-675 7. Batard T, Baron-Bodo V, Martelet A et al. Patterns of IgE sensitization in house dust mite-allergic patients: implications for allergen immunotherapy. Allergy. 2016 Feb;71(2):220-9. doi: 10.1111/all.12796 8. Vrtala S, Huber H, Thomas WR. Recombinant House Dust Mite Allergens. Methods 2014, 66/1; 67-74 9. Dumez ME, Herman J, Campisi V et al. The Proline-Rich Motif of the proDer p 3 Allergen Propeptide Is Crucial for Protease-Protease Interaction. PLoS ONE 2013; 8(9):e68014 10. Jeong KY, Park JW, Hong CS. House dust mite allergy in Korea: the most important inhalant allergen in current and future. Allergy Asthma Immunol Res 2012; 4(6):313-325 11. Gregory LG, Lloyd CM. Orchestrating house dust mite-associated allergy in the lung. Trends Immunol 2011; 32(9):402-411 12. Siwak E, Skolny A, Zbrojewicz E et al. Alergeny roztozczy. Postępy Hig Med Dosw 2014; 68(0):369-374 13. Jaquet A. Innate Immune Responses in House Dust Mite Allergy. ISRN Allergy 2013; 2013(0):735031 14. Kim EH, Lee JS, Lee NR et al. Regulation of Constitutive Neutrophil Apoptosis Due to House Dust Mite Allergen in Normal and Allergic Rhinitis Subjects. PLoS ONE 2014; 9(9):e105814 15. Thomas WR. Hierarchy and molecular properties of house dust mite allergens. Allergol Int. 2015;64(4):304-11 16. Herman J, Thelen N, Smargiasso N et al. Der p 1 is the primary activator of Der p 3, Der p 6 and Der p 9 the proteolytic allergens produced by the house dust mite D. pteronyssinus. Biochim Biophys Acta 2014; 1840(3):1117-1124 17. Chan YC, Ramadani F, Santos AF "Auto-anti-IgE": Naturally occurring IgG anti-IgE antibodies may inhibit allergen-induced basophil activation. J Allergy Clin Immunol 2014; 134(6):1394-1401.e4 18. Bessot JC, Pauli G. Mite allergens: an overview. Eur Ann Allergy Clin Immunol 2011; 43(5):141-156 19. Tovey, E.R., Willenborg, C.M., Crisafulli, D.A., Rimmer, J., and Marks, G.B. Most personal exposure to house dust mite allergen occurs during the day. PLoS One. 2013; 8: e69900 20. Panzner P, Vachová M, Vlas T et al. Cross-sectional study on sensitization to mite and cockroach allergen components in allergy patients in the Central European region. Clin Transl Allergy. 2018 Jun 4;8:19. doi: 10.1186/s13601-018-0207-x. eCollection 2018. 21. Huang Y, Wang C, Cao F et al. Comparison of Long-term Efficacy of Subcutaneous Immunotherapy in Pediatric and Adult Patients With Allergic Rhinitis. Allergy Asthma Immunol Res. 2019; 11(1):68-78 22. Majkowska-Wojciechowska B. Reakcje krzyżowe alergenów roztozczy w: Alergia na roztozce. Red. B. Majkowska-Wojciechowska, Mediton, Łódź 2005, 188-192 23. Pevec B, Pevec MR, Markovic AS et al. House dust mite allergy-living with the invisible roommates. Acta Med Croatica 2012; 66(2):95-103 24. Liao EC, Lin YH, Tsai JJ. Detection of group 2 Dermatophagoides pteronyssinus allergen for environmental monitoring of dust mite infestation. Biosci Trends 2013; 7(2):82-88 25. An, S., Chen, L., Long, C et al. Dermatophagoides farinae allergens diversity identification by proteomics. Mol Cell Proteomics. 2013; 12: 1818-1828 26. Buczyłko K, Majsiaek E. Wybrane reakcje krzyżowe w alerghiach górnych dróg oddechowych i pokarmowych. Alergologia Polska. 2017;4, 4, 139-145 27. Teifoori F, Shams-Ghaharokhi M, Postigo I et al. Identification of the main allergen sensitizers in an Iran asthmatic population by molecular diagnosis. Allergy Asthma Clin Immunol 2014; 10(1):41-47 28. Kauffman HF, Tamm M, Timmerman JA et al. House dust mite major allergens Der p 1 and Der p 5 activate human airway-derived epithelial cells by protease-dependent and protease-independent mechanisms. Clin Mol Allergy 2006; 4(1):5-12 29. Tan KW, Jobichen C, Ong TC et al. Crystal Structure of Der f 7, a Dust Mite Allergen from Dermatophagoides farinae. PLoS ONE 2012; 7(9): e44850 30. Cui YB, Zhou Y, Wang N et al. Expression, cloning, and IgE-binding of the full-length dust mite allergen Der f 8. Immunol Res 2014; 60(1):60-68 31. Wei JF, Yang H, Li D et al. Preparation and identification of Per a 5 as a novel american cockroach allergen. Mediators Inflamm 2014; 2014(0):591468 32. Hu H, Luo W, Wu Z et al. A pilot study on the allergen-specific IgE to molecular components on polysensitized mite allergic asthmatic patients in Guangzhou, China. Mol Immunol. 2018 Nov 24;105:38-45. doi: 10.1016/j.molimm.2018.11.004 33. Banerjee S, Resch Y, Chen KW et al. Der p 11 is a Major Allergen for House Dust Mite Allergic Patients Suffering from Atopic Dermatitis. J Invest Dermatol 2015; 135(1):102-109 34. Hales BJ, Elliot CE, Chai LY et al. Quantitation of IgE Binding to the Chitinase and Chitinase-Like House Dust Mite Allergens Der p 15 and Der p 18 Compared to the Major and Mid-Range Allergens. Int Arch Allergy Immunol 2013; 160(3):233-240 35. Resch Y, Blatt K, Malkus U et al. Molecular, Structural and Immunological Characterization of Der p 18, a Chitinase-Like House Dust Mite Allergen. PLoS One. 2016 Aug 22;11(8):e0160641. doi: 10.1371/journal.pone.0160641 36. Chan, T.F., Ji, K.M., Yim, A.K et al. The draft genome, transcriptome, and microbiome of Dermatophagoides farinae reveal a broad spectrum of dust mite allergens. J Allergy Clin Immunol. 2015; 135: 539-548 37. Weghofer M, Grote M, Resch Y et al. Identification of Der p 23, a Peritrophin-like Protein, as a New Major Dermatophagoides pteronyssinus Allergen Associated with the Peritrophic Matrix of Mite Fecal Pellets. J Immunol 2013; 190(7):3059-3067 38. Banerjee S, Weber M, Blatt K et al. Conversion of Der p 23, a New Major House Dust Mite Allergen, into a Hypoallergenic Vaccine. J Immunol 2014; 192(10):4867-4875 39. Liu L, Li G, Sun Y et al. Airway wall thickness of allergic asthma caused by weed pollen or house dust mite assessed by computed tomography. Respir Med. 2014 Dec 9. pii: S0954-6111(14)00418-1. doi: 10.1016/j.rmed.2014.11.011 40. Cassat A, Mari A, Purohit A et al. Varying Allergen Composition and Content Affects the in vivo Allergic Activity of Commercial Dermatophagoides pteronyssinus Extracts. Int Arch Allergy Immunol 2012; 159(3):253-262 41. Ott H, Weissmantel S, Kennes LN et al. Molecular microarray analysis reveals allergen- and exotoxin-specific IgE repertoires in children with atopic dermatitis. J Eur Acad Dermatol Venerol. 2013 Jan 10. doi: 10.1111/jdv.12083 42. Ariani LG, Vyszynski-Moher DL, Morgan MS. Washing dust mites and their allergens from clothing and bedding. Abstracts of XXII Congress EAACI Allergy as a global problem 2003,7-11 June Paris, poster 1404 43. Gomes da Silva AC. House dust mite anaphylaxis: report of a case with 22-year follow-up. Braz J Allergy Immunol 2014; 2(4):161-168 44. Nolte H, Plunkett G, Grosch K et al. Major allergen content consistency of SQ house dust mite sublingual immunotherapy tablets and relevance across geographic regions. Allergy, Asthma, & Immunology. 2016;117(3):298-303. 45. Demoly P, Kleine-Tebbe J, Rehm D. Clinical benefits of treatment with SQ house dust mite sublingual tablet in house dust mite allergic rhinitis. Allergy. 2017; 72(10):1576-1578. 46. Boonpiyathad T, Sokolowska M, Morita H et al. Der p 1-specific regulatory T cell response during house dust mite allergen immunotherapy. Allergy. 2018 Nov 28. doi: 10.1111/all.13684 47. Rosenfield L, Tsouli MW, Milio K et al. High rate of house dust mite sensitization in a shrimp allergic southern Ontario population. Allergy Asthma Clin Immunol, 13 (2017 Jan 19), p. 5, 10.1186/s13223-017-0177-x eCollection 2017.PMID: 28115965

- Piśmiennictwo ze str 42:** 1. Cheetham SW, Gruhl F, Mattick JS i wsp. Long noncoding RNAs and the genetics of cancer. Br J Cancer 2013; 108(12): p. 2419-25. 2. Vausort M, Wagner DR, and Devaux Y. Long noncoding RNAs in patients with acute myocardial infarction. Circ Res 2014; 115(7): p. 668-77. 3. Yang X, Yang J, Wang J i wsp. Microarray analysis of long noncoding RNA and mRNA expression profiles in human macrophages infected with Mycobacterium tuberculosis. Sci Rep 2016; 6: p. 38963. 4. Wang P, Xue Y, Han Y i wsp. The STAT3-binding long noncoding RNA Inc-DC controls human dendritic cell differentiation. Science 2014; 344(6181): p. 310-3. 5. Qiao YQ, Huang ML, Xu AT i wsp. LncRNA DQ786243 affects Treg related CREB and Foxp3 expression in Crohn's disease. J Biomed Sci 2013; 20: p. 87. 6. Xia F, Dong F, Yang Y i wsp. Dynamic transcription of long noncoding RNA genes during CD4+ T cell development and activation. PLoS One 2014; 9(7): p. e011588. 7. Zhang H, Nestor CE, Zhao S i wsp. Profiling of human CD4+ T-cell subsets identifies the TH2-specific noncoding RNA GATA3-AS1. J Allergy Clin Immunol 2013; 132(4): p. 1005-8. 8. Luo S, Lu JY, Liu L i wsp. Divergent lncRNAs Regulate Gene Expression and Lineage Differentiation in Pluripotent Cells. Cell Stem Cell 2016; 18(5): p. 637-52. 9. Chen X and Zhang N. Downregulation of lncRNA NEAT1_2 radiosensitizes hepatocellular carcinoma cells through regulation of miR-101-3p/WEE1 axis. Cell Biol Int 2019; 43(1): p. 44-55. 10. Huang S, Dong D, Zhang Y i wsp. NEAT1 regulates Th2 cell development by targeting STAT6 for degradation. Cell Cycle 2019; 18(3): p. 312-319. 11. Tsitsiou E, Williams AE, Moschos SA i wsp. Transcriptome analysis shows activation of circulating CD8+ T cells in patients with severe asthma. J Allergy Clin Immunol 2012; 129(1): p. 95-103. 12. Austin PJ, Tsitsiou E, Boardman C i wsp. Transcriptional profiling identifies the long noncoding RNA plasmacytoma variant translocation (PVT1) as a novel regulator of the asthmatic phenotype in human airway smooth muscle. J Allergy Clin Immunol 2017; 139(3): p. 780-789. 13. Zhu YJ, Mao D, Gao W i wsp. Peripheral whole blood lncRNA expression analysis in patients with eosinophilic asthma. Medicine (Baltimore) 2018; 97(8): p. e9817. 14. Qi X, Chen H, Huang Z i wsp. Aberrantly expressed lncRNAs identified by microarray analysis in CD4(+)T cells in asthmatic patients. Biochem Biophys Res Commun 2018; 503(3): p. 1557-1562. 15. Zhang XY, Zhang LX, Tian CJ i wsp. LncRNAs BCYRN1 promoted the proliferation and migration of rat airway smooth muscle cells in asthma via upregulating the expression of transient receptor potential 1. Am J Transl Res 2016; 8(8): p. 3409-18. 16. Zhang XY, Tang XY, Ma LJ i wsp. Schisandrin B down-regulated lncRNA BCYRN1 expression of airway smooth muscle cells by improving miR-150 expression to inhibit the proliferation and migration of ASMC in asthmatic rats. Cell Prolif 2017; 50(6). 17. Zhang XY, Tang XY, Li N i wsp. GAS5 promotes airway smooth muscle cell proliferation in asthma via controlling miR-10a/BDNF signaling pathway. Life Sci 2018; 212: p. 93-101. 18. Wang S, Mo M, Wang J i wsp. Platelet-derived growth factor receptor beta identifies mesenchymal stem cells with enhanced engraftment to tissue injury and pro-angiogenic property. Cell Mol Life Sci 2018; 75(3): p. 547-561. 19. Keenan CR, Schuliga MJ, and Stewart AG. Pro-inflammatory mediators increase levels of the noncoding RNA GAS5 in airway smooth muscle and epithelial cells. Can J Physiol Pharmacol 2015; 93(3): p. 203-6. 20. Ma Z, Teng Y, Liu X i wsp. Identification and Functional Profiling of Differentially Expressed Long Non-Coding RNAs in Nasal Mucosa with Allergic Rhinitis. Tohoku J Exp Med 2017; 242(2): p. 143-150. 21. Ma Y, Shi L, and Zheng C. Microarray analysis of lncRNA and mRNA expression profiles in mice with allergic rhinitis. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 2018; 104: p. 58-65. 22. Wang X, Bao K, Wu P i wsp. Integrative Analysis of lncRNAs, miRNAs, and mRNA-Associated ceRNA Network in an Atopic Dermatitis Recurrence Model. Int J Mol Sci 2018; 19(10).