



Użyteczność oznaczania Art v 1

u pacjentów z alergią na pyłki przed kwalifikacją do immunoterapii alergenowo swoistej

The utility of Art v 1 determination in patients with pollen allergy prior to qualification for allergen-specific immunotherapy

S U M M A R Y

Allergy to mugwort can affect up to 15% of Europeans. Meanwhile, antibodies to the Art v 1 molecule alone are found in approximately 95% of people with sensitization to mugwort. At the same time, mugwort is an extremely widespread species in our climate inhabiting fields as well as roadsides and meadows. Therefore, it follows that testing antibody levels to this protein may be particularly relevant and beneficial. Furthermore, Art v 1 as a marker allergen for mugwort makes it possible to determine whether a patient's symptoms are merely the result of a cross-reaction caused by sensitization to the pollen panallergen or whether they are due to a real primary sensitization to mugwort. This provides clinicians with valuable information to select the appropriate immunotherapy for the patient, thereby reducing the overall cost of therapy and minimising the risk of conducting long-term, ineffective immunotherapy.

Alergia na bylicę może dotyczyć nawet 15% Europejczyków. Natomiast przeciwciała wobec samej molekuly Art v 1 występują u około 95% osób z sensytyzacją na bylicę. Przy tym bylica jest niezwykle rozpowszechnionym gatunkiem w naszym klimacie zasiedlającym zarówno pola, jak i pobocza dróg oraz łąki. Stąd wynika, że badanie poziomu przeciwciał wobec tego białka może być szczególnie zasadne i korzystne. Ponadto Art v 1 jako alergen markerowy dla bylicy pozwala określić czy objawy pacjenta są jedynie skutkiem reakcji krzyżowej spowodowanej uczuleniem na panalergen pyłkowy czy też wynikają z realnej pierwotnej sensytyzacji na bylicę. To zaś daje klinicyście cenne informacje umożliwiające dobranie pacjentowi odpowiedniej immunoterapii i tym samym pozwala obniżyć całkowite koszty terapii oraz redukuje ryzyko prowadzenia długotrwałej, nieskutecznej immunoterapii.

Kowal K.: Użyteczność oznaczania Art v 1 u pacjentów z alergią na pyłki przed kwalifikacją do immunoterapii alergenowo swoistej. *Alergia*, 2023, 1; 39-42

Bylica pospolita (*Artemisia vulgaris*) to jedno z najbardziej rozpowszechnionych dzikich ziół będące ważną przyczyną alergii wziewnych na całym świecie. Stanowi główne źródło alergenów na półkuli północnej z rosnącym znaczeniem w Europie Wschodniej, Rosji i Azji Środkowej (1). W ostatnich latach wykazano, że pyłek bylicy jest także głównym wektorem endotoksyn przenoszonych drogą powietrzną (w szczególności LPS), które mogą być ważnym elementem indukującym uczulenie (1).

Częstość uczulenia na pyłki bylicy w Europie szacuje się na 3 do 15% (2). W Polsce bylica również stanowi jeden z najistotniejszych aeroalergenów. Badanie epidemiologiczne ECAP wykazało dodatnie wyniki punktowych testów skórnych wobec ekstraktu bylicy u ok.

16% badanych. Natomiast 5,5% badanych wykazywało także występowanie objawów klinicznych w sezonie jej pylenia (3). W przypadku bylicy ten sezon pylenia jest niestety najdłuższy. W zależności od analizowanego regionu pylenie bylicy może trwać od końca czerwca do drugiej połowy września (3).

Wśród uczulonych na bylicę, prym wiedzie należący do alergenów głównych Art v 1 z częstotliwością reaktywności IgE zależnej na poziomie 95% wśród uczulonych na bylicę. Diagnostyka uczuleń osób z alergią na pyłki nie należy do najłatwiejszych. Powodem tego są wszechobecne reakcje krzyżowe, które wynikają z alergii na panalergeny pyłkowe (4). Białka zwane panalergenami znajdują się w pyłkach różnych, nawet niezwiązanych taksonomicznie gatunków, ale pełnią



Prof. dr hab. n. med.
Krzysztof Kowal

Poradnia Alergologiczna
Uniwersytecki Szpital
Kliniczny i
Zakład Alergologii
i Immunologii
Doświadczalnej
UM w Białymstoku

Słowa kluczowe:

Art v 1, immunoterapia alergenowo swoista, bylica

Key words:

Art v1, allergen-specific immunotherapy, mugwort

w nich podobne funkcje. To właśnie dlatego te reagujące krzyżowo alergeny znajdują się w tak dużej liczbie różnych roślin (5-6).

Diagnostyka oparta na skórnych testach punktowych z wykorzystaniem ekstraktów, choć relatywnie tańsza, nie jest w stanie określić pierwotnego źródła uczulenia. Można to natomiast zbadać przy użyciu oznaczeń molekularnych, które pozwalają na rozróżnienie szerokiej reaktywności krzyżowej wynikającej z alergii na panalergen pyłkowy od pierwotnych uczuleń IgE-zależnych na tzw. alergeny markerowe.

Są one reprezentowane przez alergeny główne pyłków: Bet v 1 dla brzozy, Ole e 1 dla oliwki i jesionu, Phl p 1 dla traw klimatu umiarkowanego oraz Art v 1 dla bylicy. Wiąże się to ostatecznie z możliwością zastosowania dobrze dobranej i co za tym idzie skuteczniejszej dla uczulonego pacjenta immunoterapii (7).

Jednym z głównych alergenów bylicy jest Art v 1 – białko podobne do defensyny o masie 28 kDa (4).

Defensyny to wszechobecne w świecie roślin polipeptydy o szerokim spektrum działania. Wykazują liczne działania biologiczne, takie jak hamowanie syntezy białek, funkcji kanałów jonowych oraz aktywności α -amylazy i trypsyny. Ponadto upośledzają wzrost mikroorganizmów i pasożytów (8).

Bylica - charakterystyka znanych molekuł

Bylica (*Artemisia spp.*) to rodzaj składający się z ponad 350 gatunków o bardzo podobnym profi-

nym niezłym nosa uczulenie na bylicę stwierdzono również u przeszło 40% chorych (7).

Pyłek bylicy pospolitej, jest uważany za najistotniejszy alergen wywołujący alergię na przyprawę. Roślina ta jest jednym z najpowszechniejszych ziół o okresie kwitnienia od czerwca do września. Pod względem sposobu zapylania jest gatunkiem wiatropylnym, a ta grupa częściej jest odpowiedzialna za uczulenia niż gatunki owadopylne. Główne alergeny pyłku bylicy pospolitej to białko defensynopodobne (grupa v 1) i nsLTP (grupa v 3) (9).

Rośliny z rodzaju *Artemisia* są najbardziej rozpoznane na umiarkowanych i wilgotnych obszarach północnej półkuli oraz w basenie Morza Śródziemnego. Bylica pospolita (*Artemisia vulgaris*) występuje w siedliskach miejskich i wiejskich, na poboczach dróg, polach uprawnych, jak i terenach nie uprawianych przez człowieka (2).

Art v 1 należy do alergenów głównych bylicy pospolitej, a około 95% spośród osób uczulonych na bylicę reaguje właśnie na to białko. Ma ono masę 28 kDa i należy do białek podobnych do defensyny z regionem bogatym w poliprolinę. Białko jest glikolizowane. Zawiera reagujące krzyżowo determinanty węglowodanowe CCD, które są zdolne do wiązania ludzkich IgE, natomiast nie wiążą się z klinicznymi objawami alergii. Może to odgrywać ważną rolę w reaktywności krzyżowej alergenów z niepowiązanych ze sobą taksonomicznie źródeł i zaburzać wyniki testów diagnostycznych (4).

Defensyny to wszechobecne w świecie roślin polipeptydy kationowe należące do dużej nadrodziny peptydów przeciwdrobnoustrojowych. Wykazują liczne działania biologiczne, takie jak hamowanie syntezy białek, funkcji kanałów jonowych oraz aktywności α -amylazy i trypsyny. Upośledzają wzrost mikroorganizmów i pasożytów. Pośredniczą w stresie abiotycznym i tolerancji cynku. Zmieniają stan redoks kwasu askorbinowego (witaminy C) oraz pobudzają odczuwanie słodkiego smaku.

Niektóre z tych aktywności biologicznych, takie jak hamowanie wzrostu mikroorganizmów i indukcja słodkiego smaku, w połączeniu ze szkieletem, który zapewnia tym peptydom niesamowitą odporność na trudne warunki środowiskowe i potencjał do prostej substytucji aminokwasów, stwarzają

możliwość poprawy funkcji defensyn lub mogą wprowadzić nowe działania, nadając tym peptydom ogromne znaczenie biotechnologiczne i medyczne (8).

Art v 1 bylicy i jego homolog Amb a 4 ambrozji (*Ambrosia artemisiifolia*) wykazują znaczną reaktywność krzyżową wśród pacjentów z pyłkowicą. Badanie przeprowadzone na surowicach pacjentów uczulo-

1 Tab. Alergeny bylicy pospolitej uwzględnione w bazie alergen.org (10-11)		
Alergen	Grupa białek	Potencjalne reakcje krzyżowe
Art v 1	defensyny	Hel a 4 (słonecznik), Amb a 4 (ambrozja)
Art v 2	PR-1	Sola l (pomidor), Cuc m 3 (melon)
Art v 3	nsLTP	Act c 10 (kiwi), Hel a 3 (słonecznik), Pru p 3 (brzoskwinia), Par j 1 (pomurnik), Amb a 6 (ambrozja)
Art v 4	profiliny	Lyc e 1 (pomidor), Api g 4 (seler), Dau c 4 (marchew), Bet v 2 (brzoza), Phl p 12 (tymotka)
Art v 5	polkalcyny	Che a 3 (komosa), Amb a 9 (ambrozja), Bet v 4 (brzoza), Phl p 7 (tymotka)
Art v 6	PGL/ liazy pektynowe	Amb a 1 (ambrozja)

lu alergenowym i zdolności wywoływania reakcji IgE-zależnych. Częstość uczulenia na bylicę pospolitą wśród pacjentów z alergią w Niemczech wynosi od 26.1 do 27.4%, podczas gdy badanie przekrojowe przeprowadzone wśród młodzieży austriackiej wykazało częstość uczulenia na główny alergen Art v 1 na poziomie 7.2% (4). W Polsce wśród osób z sezonowym alergicz-



nych na ambrozję i bylicę pospolitą z Włoch ($n = 81$), Austrii ($n = 74$) i Kanady ($n = 8$) wykazało, że około 42% pacjentów uczulonych na Art v 1 reaguje również na Amb a 4. Wynik ten ukazuje znaczną reaktywność krzyżową między tymi alergenami (12).

U pacjentów uczulonych na bylicę pospolitą często zauważalna jest również współistniejąca alergia na słonecznik. Może to być spowodowane reaktywnością krzyżową pomiędzy alergenami bylicy i alergenami słonecznika takimi jak: Hel a 2 (profilina), Hel a 3 (nsLTP), Hel a 4 (defensyna) (10, 13).

Wykazano również reaktywność krzyżową między Art v 1 a nowymi alergenami defensynopodobnym: Api g 7 (seler) oraz Aes h 1 (nasiono kasztanowca). Kliniczna reaktywność na kasztanowiec wywołwana przez Aes h 1 jest uważana za konsekwencję pierwotnego uczulenia na Art v 1 (4). Także pyłki roślin z rodziny *Asteraceae*, do której należą między innymi *Artemisia absinthium* (piołun) i *Helianthus annuus* (słonecznik) posiadają struktury reagujące krzyżowo z Art v 1 (14).

Pacjenci uczuleni na bylicę, w tym Art v 1 mogą wykazywać objawy ze strony układu oddechowego, takie jak alergiczny nieżyt nosa i spojówek oraz astma (15).

Pyłek bylicy odgrywa również bardzo istotną rolę w alergii pokarmowej na przyprawę i warzywa z rodziny baldaszkowatych tj. anyż, curry, koper, kminek, marchew, lubczyk i seler (zespół seler-marchew-bylica). W związku z tym, mogą wystąpić także objawy zespołu alergii jamy ustnej, pokrzywka, a nawet kontaktowe zapalenie skóry jako choroba zawodowa wśród rzeźników (9).

Art v 1 w diagnozowaniu alergii i immunoterapii

Jedno z pierwszych badań ukazujących możliwość wykorzystania rekombinowanych alergenów w diagnostyce alergii opublikowano ponad 30 lat temu i dotyczyło alergii na pyłki brzozy (16). Od tego czasu liczba rekombinowanych alergenów dostępnych do wykorzystania w diagnostyce molekularnej alergii znacząco wzrosła, do tego stopnia, że diagnostyka in vitro oparta na rekombinowanych alergenach w postaci diagnostyki komponentowej pozwala na ustalanie profilów uczulenia pacjentów z alergią. Jedną z głównych zalet diagnozy opartej na oznaczaniu molekuł w porównaniu do diagnostyki opartej na ekstraktach alergenowych jest możliwość odróżnienia uczuleń krzyżowych od współistniejących alergii na inne źródła alergenowe (17-18). Dodatkowo testy alergenowe oparte na pojedynczych alergenach mogą być bardziej przydatne w identyfikowaniu alergenów odpowiedzialnych za alergię u pacjenta, co też pozwala na dopasowanie dokładniejszej i skuteczniejszej immunoterapii (19). Immunoterapia jest bardziej efektywnym kosztowo sposobem leczenia niż klasyczna farmakoterapia ze względu na to, że w leczeniu alergii jest to jedyna forma dająca długo utrzymujący się efekt. Immunoterapia trwa jednak kilka lat i dlatego tak bardzo ważne jest dokładne zidentyfikowanie odpowiednich alergenów, które uczu-

lają pacjenta, aby zaoszczędzić na dodatkowych kosztach i niepotrzebnych terapiach (20-21).

W 2017 roku zespół pod przewodnictwem Ulbosin Saltabayeva przeprowadził badanie na grupie 95 osób z Kazachstanu cierpiących na alergię indukowaną przez pyłki w celu porównania skuteczności dwóch form diagnostyki – skórnych testów punktowych (SPT) z ekstraktami pyłków lokalnych drzew, pyłków traw i pyłków chwastów oraz diagnostyki molekularnej z wykorzystaniem alergenów markerowych: nArt v 1, nArt v 3, rAmb a 1, rPhl p 1, rPhlp 5, rBet v 1. Następnie obliczono bezpośrednie i pośrednie koszty diagnostyki z użyciem SPT i diagnostyki molekularnej oraz bezpośrednie koszty immunoterapii w zależności od wykorzystanych testów. Na skutek wykonania SPT z mieszankami ekstraktów chwastów, drzew i pyłków traw oraz pojedynczymi ekstraktami pyłków bylicy, brzozy i tymotki, uzyskano porównywalne wyniki. Ponad 89% pacjentów wykazało pozytywne reakcje na mieszanki pyłków chwastów, drzew i traw i dlatego wydawało się, że są uczuleni na 3 różne źródła alergenów. Jednak prawdziwą kosensytyzację na pyłki chwastów i drzew wykazało 6%, a 4.2% na pyłki chwastów i traw. Podobne wyniki zaobserwowano dla SPT z pojedynczymi ekstraktami alergenów z pyłku bylicy, brzozy i tymotki. Jeden pacjent wydawał się być uczulony wyłącznie na bylicę pospolitą. Kiedy do badań wobec IgE pacjentów zastosowano alergeny markerowe z bylicy pospolitej (tj. Art v 1 oraz Art v 3), tymotki zwyczajnej (Phl p 1, Phl p 5) i pyłku brzozy (Bet v 1) to tylko 5.3% pacjentów okazało się autentycznie wrażliwych na bylicę, tymotkę i brzozę. Uczulonych jednocześnie na bylicę i brzozę było 13.7%, a 11.7% miało współuczulenie na bylicę i tymotkę. Większość pacjentów (tj. 69.4%) miała monosensytyzację na pyłek bylicy, co wykazano na podstawie wyłącznej reaktywności IgE na Art v 1 i/lub Art v 3. Okazało się zatem, że SPT i testy oparte na cząsteczkach alergenów doprowadziły do zasadniczo innego wyboru ekstraktów do immunoterapii. Zgodnie z wynikami skórnych testów punktowych aż 85 pacjentów (tj. 89.5%) pacjentów otrzymałoby immunoterapię z trzema różnymi ekstraktami alergenów obejmującymi pyłki chwastów, drzew i traw, podczas gdy zgodnie z diagnozą molekularną przepisanie trzech szczepionek do immunoterapii byłoby prawidłowe tylko dla 5 pacjentów (tj. 5.3%). Chociaż diagnostyka oparta na skórnych testach okazała się być tańsza to jednak diagnostyka molekularna była bardziej precyzyjna w wykrywaniu alergenów powodujących alergię. Charakteryzowała się również mniejszą ilością zabiegów immunoterapii potrzebnych w leczeniu w porównaniu z pacjentami diagnozowanymi przez skórne testy punktowe.

Całkowity koszt diagnozy i 3 letniego leczenia dla pacjentów poddanych diagnostyce molekularnej wyniósł średnio 521.77 EUR w porównaniu do 1 112.30 EUR dla pacjentów u których zastosowano diagnostykę ekstraktową (7).

Szerszy obraz diagnostyczny: skuteczniejsza i mniej kosztowa immunoterapia

Badanie przeprowadzone przez Saltabayeva w jednoznaczny sposób pokazuje, że diagnostyka molekularna pomimo wyższych kosztów diagnozy względem skórnych testów punktowych przekłada się ostatecznie na krótszą i dokładniejszą, mniej kosztowną immunoterapię. Dodanie Art v 1 do paneli diagnostycznych będzie miało również pozytywny wpływ na kontrolę alergii wywołanej wspomnianym alergenem pyłku bylicy, podobnie jak w przypadku innych alergenów (22).

Zalety dodania Art v 1 do paneli diagnostycznych

Współuczulenie na pyłki drzew, traw i chwastów stwierdza się u około 20% osób z alergią na pyłki. Rozpoznanie alergii jest trudne u pacjentów z uczuleniem na wiele pyłków. Reakcje wobec białek w różnych grupach pyłków (drzew, traw i chwastów) często opierają się na szerokich reakcjach krzyżowych. Powodem tego jest obecność w surowicy IgE skierowanych wobec panalergenów pyłkowych, które są prawdopodobnie obecne w każdym pyłku, niezależnie od ich znaczenia alergologicznego (4). Dotychczas znani przedstawiciele to wszystkie pomniejsze alergeny o dużym podobieństwie w obrębie swoich rodzin, które ewolucyjnie są silnie konserwatywnymi białkami: profiliny, polkalcyny czy cyklofiliny. Reprezentują one wysoce konserwatywne drugorzędne alergeny reagujące krzyżowo, obecne we wszystkich gatunkach pyłków, ale także w pokarmach roślinnych i innych organizmach. Pomimo tego, że rzadziej odgrywają istotną rolę kliniczną, mogą utrudniać interpretację wyników alergologicznych testów diagnostycznych z wykorzystaniem ekstraktów (23). W takich przypadkach ekstrakty nie są zbyt pomocne w diagnostyce, ani w punktowych testach skórnych, ani też w testach swoistych IgE, ponieważ tracą swoistość analityczną. Wszystkie ekstrakty roślinne potencjalnie zawierają silnie reagujące krzyżowo ze sobą panaalergeny, jednak zawartość tych białek w ekstraktach alergenowych nie

jest oznaczana. Podczas oznaczania przeciwciał IgE przeciwko naturalnym alergenom roślinnym (np. ekstraktem pyłkowym lub naturalnie oczyszczonym alergenem pyłkowym, takim jak nPhl p 4, Art v 1), należy również wziąć pod uwagę, że wiele białek to glikoproteiny i jako takie zawierają epitopy CCD, które powodują klinicznie nieistotną, serologiczną reaktywność krzyżową in vitro (24).

W tej sytuacji diagnostyka molekularna alergii pozwala na rozróżnienie szerokiej reaktywności krzyżowej swoistych dla alergenu IgE na panaalergeny pyłkowe (tj. profiliny Bet v 2 lub Phl p 12; polkalcyny Bet v 4 lub Phl p 7; cyklofiliny Bet v 7 lub Ole e 15) od pierwotnych uczuleń na tzw. alergeny markerowe reprezentowane przez alergeny główne pyłków: Bet v 1 (brzozy), Ole e 1 (oliwki), Phl p 1 (trawy) oraz Art v 1 (bylica).

Takie podejście pozwala na zmniejszenie liczby ekstraktów alergenowych – zakładając, że są one również istotne klinicznie – w immunoterapii alergenowej (tj. tylko wyciągi z pyłków drzew i/lub traw), szczególnie u pacjentów uczulonych na pyłki (23).

Podsumowanie

Liczne źródła sugerują, że oznaczanie przeciwciał skierowanych wobec Art v 1 u pacjentów z alergią na pyłki ma wiele zalet. Pozwala określić czy objawy wynikają z reakcji krzyżowych czy też z pierwotnej sensytyzacji na bylicę i z uwzględnieniem tej wiedzy odpowiednio zaplanować immunoterapię (4, 7, 23). Jest to o tyle istotne, że immunoterapia powinna trwać 3-5 lat. Natomiast forsowanie nieefektywnego leczenia przez długi czas może być bardzo obciążające psychicznie i finansowo dla pacjenta oraz może przyczyniać się do braku compliance u niego (25).

Również sama diagnostyka molekularna zapewnia więcej informacji na temat konkretnego przypadku niż testy skórne czy badania in vitro z krwi z użyciem ekstraktów alergenowych. Art v 1 to białko, które jest molekułą markerową alergii na bylicę, dlatego wzbogacenie panelu o to oznaczenie pozwala lepiej opisać profil alergenowy pacjenta (7, 23).

Prace nadesłano
6.04.2023
Zaakceptowano do
druku 14.04.2023

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

- Piśmiennictwo:** 1. Zabel M, Weber M i Kratzer B. Art v 1 IgE epitopes of patients and humanized mice are conformational. . J Allergy Clin Immunol. 2022, 150(4):920-930. 2. Stępałska D i Myszkowska D. Co-occurrence of Artemisia and Ambrosia pollen seasons against the background of the synoptic situations in Poland. . Int J Biometeorol. . 2017, 747-760., 61(4):. 3. Majkowska-Wojciechowska B. Pyłek roślin i alergeny sezonowe w Polsce. . Alergia Astma Immunologia. 2016, 21 (1): 5-15. 4. EAACI. Molecular Allergology User's Guide 2.0. brak miejsca : EAACI, 2022. 5. Hauser M, Roulias A i Ferreira F. Panallergens and their impact on the allergic patient. Allergy Asthma Clin Immunol. 2010, strona 6: 1-14. 6. Wawrzeńczyk A, Napiórkowska-Baran K i Wawrzeńczyk A. Panalergeny - źródło alergii pokarmowej. Alergia Astma Immunologia. 2019, strona 24 (4): 164-169. 7. Saltabayeva U i inni. Greater Real-Life Diagnostic Efficacy of Allergen Molecule-Based Diagnosis for Prescription of Immunotherapy in an Area with Multiple Pollen Exposure. Int Arch Allergy Immunol. 2017, strona 173(2):93-98. 8. de Oliveira CA i Moreira GV. Plant Defensins and Defensin-Like Peptides - Biological Activities and Biotechnological Applications . Current Pharmaceutical Design. 2011, str. 17(38). 9. Altmeyer P. <https://www.altmeyers.org/>. [Online] 2020. [Zacytowano: 04 04 2023.] <https://www.altmeyers.org/en/allergology/mugwort-pollen-allergy-133470>. 10. WHO/IUIS. allergen.org. [Online] 2020. [Zacytowano: 04 04 2023.] <http://allergen.org/search.php?allergenname=art+v&searchname=Search>. 11. Buczyłko K. Molekuly alergogene. I. Warszawa : Wydawnictwo Alergologiczne "Zdrowie", 2019. 12. Leonard R i inni. A new allergen from ragweed (Ambrosia artemisiifolia) with homology to art v 1 from mugwort. J Biol Chem. 2010, strona 285(35):27192-200. 13. Wopfner N i inni. The spectrum of allergens in ragweed and mugwort pollen. Int Arch Allergy Immunol. 2005, strona 138(4):337-46. 14. Gruber P i inni. Role of the polypeptide backbone and post-translational modifications in cross-reactivity of Art v 1, the major mugwort pollen allergen. Biol Chem. 2009, strona 390(5-6):445-51. 15. Deng S i Yin J. Mugwort Pollen-Related Food Allergy: Lipid Transfer Protein Sensitization and Correlation With the Severity of Allergic Reactions in a Chinese Population. Allergy Asthma Immunol Res. 2019, strona 11(1):116-28. 16. Valenta R i inni. Recombinant allergens for immunoblot diagnosis of tree pollen allergy. J Allergy Clin Immunol. 1991, strona 88:889-894. 17. Valenta R i inni. The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CRD and CRIT). Clin Exp Allergy. 1999, strona 29:896-904. 18. Canonica GW i inni. A WAO-ARIA-GA 2 LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics. World Allergy Organ J. 2013, str. 6:17. 19. Valenta R, Twaroch T i Swoboda I. Component-resolved diagnosis to optimize allergen-specific immunotherapy in the Mediterranean area. J Invest Allergol Clin Immunol. 2007, strona 17:36-40. 20. Jacobsen L i inni. Specific immunotherapy has long-term preventive effect of seasonal and perennial asthma: 10-year follow-up on the PAT study. Allergy. 2007, strona 62: 943-948. 21. Cox L. Allergy immunotherapy in reducing healthcare cost. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2015, strona 23:247-254. 22. Gromek W i inni. An innovative approach for better understanding of milk allergy. Journal of Education, Health and Sport. 2022, strona T. 12, nr 9, s. 150-159. 23. Kleine-Tebbe J, Ackermann-Simon J i Hanf G. Molecular allergy diagnosis using pollen marker allergens and pollen panallergens: Five patterns seen in multiple test reactions to pollen extracts. Allergol Select. 2021, strona 27; 5:180-186. 24. Kleine-Tebbe J i Jakob T. Molecular allergy diagnostics using IgE singleplex determinations: methodological and practical considerations for use in clinical routine: Part 18 of the Series Molecular Allergy. Allergol J Int. 2015, strona 24: 185- 197. 25. Senna G, Caminati M i Lockey RF. Allergen Immunotherapy Adherence in the Real World: How Bad Is It and How Can It Be Improved? Curr Treat Options Allergy. 2015 , strona 2:39-53.