

1.6. ROZTOCZE KURZU DOMOWEGO *Dermatophagoides sp.*

Streszczenie:

Roztocze kurzu domowego (rkd), to małe stawonogi, powszechnie występujące w ludzkich mieszkaniach, ksiązkach i postaniach. 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 pochodziły 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 oraz immunoterapia są zalecane dla zapobiegania uczuleniom.

1.6.A.

Fot.

Typowe siedlisko roztoczy kurzu domowego



Foto A. Szwed-Kowalska

1.6.B.

Fot.

Oznaczanie molekuł roztoczy wyjaśnia rozbieżności PTS wobec sIgE z ekstraktami

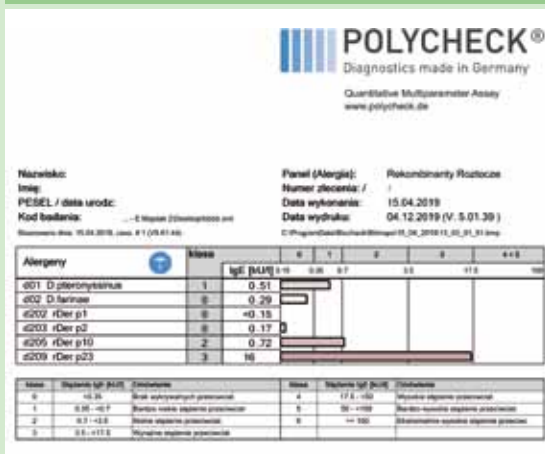


Foto K. Buczyjko

1.6.C.

Fot.

Główny alergen Der p 1.



Struktura 2as8 wygenerowana z zastosowaniem UCSF Chimera [www.cgl.ucsf.edu/chimera, http://fermi.utmb.edu.], [48].

1.6.D.

Fot.

Astma roztoczowa, dodatni wynik FENO potwierdza diagnozę, nawet przy prawidłowej spirometrii

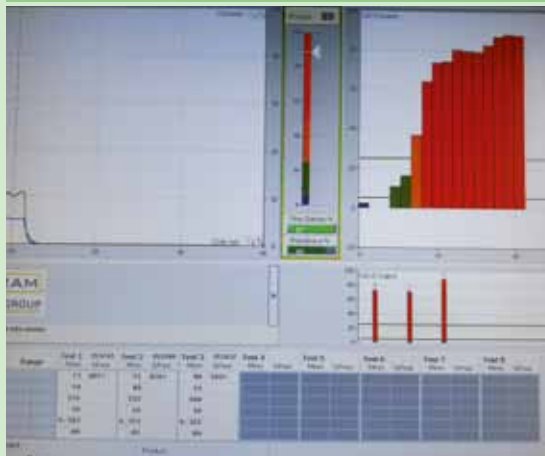


Foto K. Buczyjko

Biologia roztoczy

Roztocze 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 cari”, 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 Voorhosta 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]. Wytwarzając niezbędne im do życia białka, obecne następnie w odchodach, częściach ciała oraz jajeczkach, rkd stanowią główny czynnik wywoływania alergii u ludzi na całym świecie [3]. Warto zasygnalizować, że spokrewnione z rkd pozostają kleszcze (*Ixodida*), nużeńce i śwędziki (*Actiniedida*), świerzbowce (*Sarcoptidae*) oraz – co prawda mniej spokrewnione, lecz stwarzające ryzyko kliniczne 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 (poprawniej: skórozarłoczek 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 roztoczami, jak i z ligandami pochodzącymi z produktów bakterii i grzybów zależnych od roztoczy [11].

Poziom ekspozycji ma duże znaczenie kliniczne. Powszechnie występując w ludzkich mieszkaniach (w ponad 90%), rkd 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 skórozarłoczkiem 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 rozkruszkę 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 antyapoptotyczne na neutrofile osób zdrowych i z ANN poprzez szlak TLR4 / PKC delta / ERK / NF-kappa B. Odkrycie to przyczyniło się do rozwiązania patogenego mechanizmu chorób alergicznych wywołanych przez Dp i aktywację NF-kappa 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].

Jednak ten ogólny molekularny model alergii na rkd musi zostać ponownie przeanalizowany, ponieważ przybiera 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], w dużej mierze bez udziału IgE. Alergeny roztoczy można podsumować zgodnie z ich właściwością autoadiuwantową 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 anti-IgE mogą hamować, a także wywoływać aktywację granulocytów zasadochłonnych. Działają w sposób odmienny od terapeutycznych przeciwciał IgG anti-IgE, takich jak omalizumab. Przynajmniej częściowo próbuje się wyjaśnić, 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].

Analiza komponent alergicznych *D. pteronyssinus*

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 skórożarłoczka skrytego (Dp) [8]. Der p 1 i Der p 2 były długo dwoma 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 naturalne alergeny 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 obu 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 oraz 14 i 20 pochodziły 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 papainopodobnych [9]. Der p 1 należy do jednej z trzech grup alergenów kulek kałowych (inaczej peletek) skórożarłoczka skrytego o dominującej specyficzności w surowicy, 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. Przeciwieństwem dotychczasowego dogmatu, znacznie mniejsze było narażenie na 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 specyficznie 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 większości zaangażowane w układzie trawienia roztoczy, odgrywają krytyczną rolę w inicjacji i przewlekłej odpowiedzi aler-

1.6.1
Tab.Trzy dominujące, główne alergeny skórożarłoczek skrzytego (roztocza kurzu domowego *Dermatophagoides pteronyssinus*) [wg 9, 15, 16, 18, 19, 22, 24, 26] [modyfikacja K. B.]

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 lipopolisacharydów
Der p 23	pertyrofina	8000	74%	błona kulek kałowych	wiązanie chityny

gicznej, 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]. 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]. Druga główna grupa 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 nukleoporinami. Der p 2 ma homologię strukturalną z domeną MD-2 [18]. Domeny białka (albo zwoje białkowe) to fragmenty cząsteczki białka wyodrębnione ze względu na samostanną zdolność zachowania swojej struktury trójwymiarowej niezależnie od całej cząsteczki. Często domeny samoistnie związają 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 zliczania roztoczy pod mikroskopem, przy czym w ich analizie liczba roztoczy w próbkach kurzu z materacy była znacznie 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 1.6.1.

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].

1.6.2
Tab.Cztery alergeny roztoczy kurzu domowego klasy średniej
[wg 6, 9, 15, 26, 28, 29, 33, 34] [modyfikacja K. B.]

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?

Der p 4. α -amylaza, grupa 4 należy do alergenów średniej kategorii. Wyzwała odpowiedź IgE u niemal 40% uczulonych, poza alergenami głównymi [15]. Przy pomocy diagnostyki komponentowej 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 świerzbu, 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 spleątanej 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 Ca^{2+} , 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 roztocza *Blomia tropicalis* to podobna monomeryczna potrójna cząstka helikalna reagująca krzyżowo.

Der p 6. Chymotrypsyna to 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 proDer p 6 hamował aktywność proteoli-

tyczną 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 zawijają 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 1.6.2. prezentuje grupę alergenów pośrednich rkd.

Der p 8. GST (Glutathione-S-transferase) to 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 p 8 po absorpcji Dp [24]. Surowice od tajwańskich

astmatyków wykazywały 96% i 84% reaktywności 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 częstość 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 wyka-

zywali raczej selektywną reaktywność jedynie wobec Der p 10. Działanie uczulające Der p 10 było ogólnie 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].

Der p 11. Paramiozyna, czynność biologiczna: białko aktywności motorycznej (Motor Activity Proteins) bezkręgowców. Alergen o wysokiej masie cząsteczkowej. 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 elektronicznej, alergen umiejscowiono w mięśniu pod skórą ciał

1.6.3
Tab.

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

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 (apolipoporyna)
15	chitynaza	bd	jelito, peletki	hydrolaza glikozylowa
16	gelsolina	bd	ciało	wiązący 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

1.6.4
Tab.Zbiór 14 nowych alergenów *D. pteronyssinus* o nieustalonej ważności
[wg 15, 22, 25, 33, 34, 36, 37, 38] [modyfikacja K. B.]

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 lekkiej miozyny
Der p 27		sSerpine	serpina
Der p 28	HSP	Heat Shock Protein	białko szoku cieplnego
Der p 29		Cyclophilin	cyklofilina
Der p 30		Ferritin	ferytyna
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

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 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 związanych z rkd [33].

Der p 13. Białko wiążące kwasy tłuszczowe (Fatty acid-binding protein). Masa cząsteczkowa 15 kD, uczuła wziewnie, pochodzi z ciała roztoczy.

Der p 14. Grupa 14 alergenów RKD. Witelogenina, masa 177 kD. Wykazuje czynność apolipoporyn

(Apolipoporphorins). 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 anty-rkd IgE, a miana nie korelują z rozmiarem odpowiedzi na główne alergeny [34].

Der p 16. Panalergen gelsolina to alergen ciała roztoczy. Białko regulatorowe aktyny, dokładniej: wiążące 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 to mały alergen rkd [36]. Częstość występowania miana IgE dla Der p 15 i Der p 18 była niska (38%), a tylko jeden osobnik miał miano > 10 ng / ml. Średnie miana anty-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 ($p < 0,001$). Uczulenie na Der p15 i Der p 18 ma niewielki wpływ na miano przeciwciał anty-rkd IgE, a miana nie korelują z rozmiarem odpowiedzi klinicznej na główne alergeny [34]. rDer p 18 został wykryty i oczyszczony jako pofaladowane, 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 jelita rkd 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 roztocze [35].

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

Der p 20. Kinaza argininowa, jej nazwa pospolita 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] oraz Plo i 1 moli. Świerzbowce zostały uznane za duży kłopot w diagnostyce, ponieważ osoby nimi zainfekowane, a nawet tylko narażone na kontakt, posiadają wysokie miano IgE wiążące amylazę (Der p 4) oraz kinazę argininową (Der p 20) [22]. Powyżej Tabela 1.6.3 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. Posiada 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 obserwowano wysoką aktywność w teście degranulacji bazofilów. Tylko u nielicznych badanych stwierdzano silne wiązanie Der p 23 z IgE bez reakcji z Der p 1 i Der p 2 [15]. Pomimo, 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 tucznych niż Der p 1 [5]. Wyizolowany Der p 23 wykazał homologię sekwencji z perytrofinami, które zawierają domeny wiążące chitynę i są częścią matrycy perytroficznej wyścielającej 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 skórozarłoczek skrytego 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 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].

1.6.5
Tab.Zestawienie możliwości oznaczania komercyjnego ekstraktu roztoczy kurzu domowego *Dermatophagoides pteronyssinus* i jego poszczególnych molekuł w różnych testach [49-52] [oprac. Emilia Majsiak]

Ekstrakt i molekuły roztoczy kurzu domowego <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	ImmunoCAP®	Polycheck® Rekombinanty roztocze	ImmunoCAP® ISAC	FABER®	ALEX®
ekstrakt	+	+		+	+
Der p 1	+(n)	+(r)	+(n)	+(n)	+(r)
Der p 2	+(r)	+(r)	+(r)	+(n)	+(r)
Der p 5					+(r)
Der p 7				+(r)	+(r)
Der p 9				+(n)	
Der p 10	+(r)	+(r)	+(r)	+(r)	+(r)
Der p 11					+(r)
Der p 23		+(r)		+(r)	+(r)

+ – możliwe do oznaczenia; (r) – rekombinant; (n) – naturalny

Der p 25. 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. α 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 oraz 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 prote-

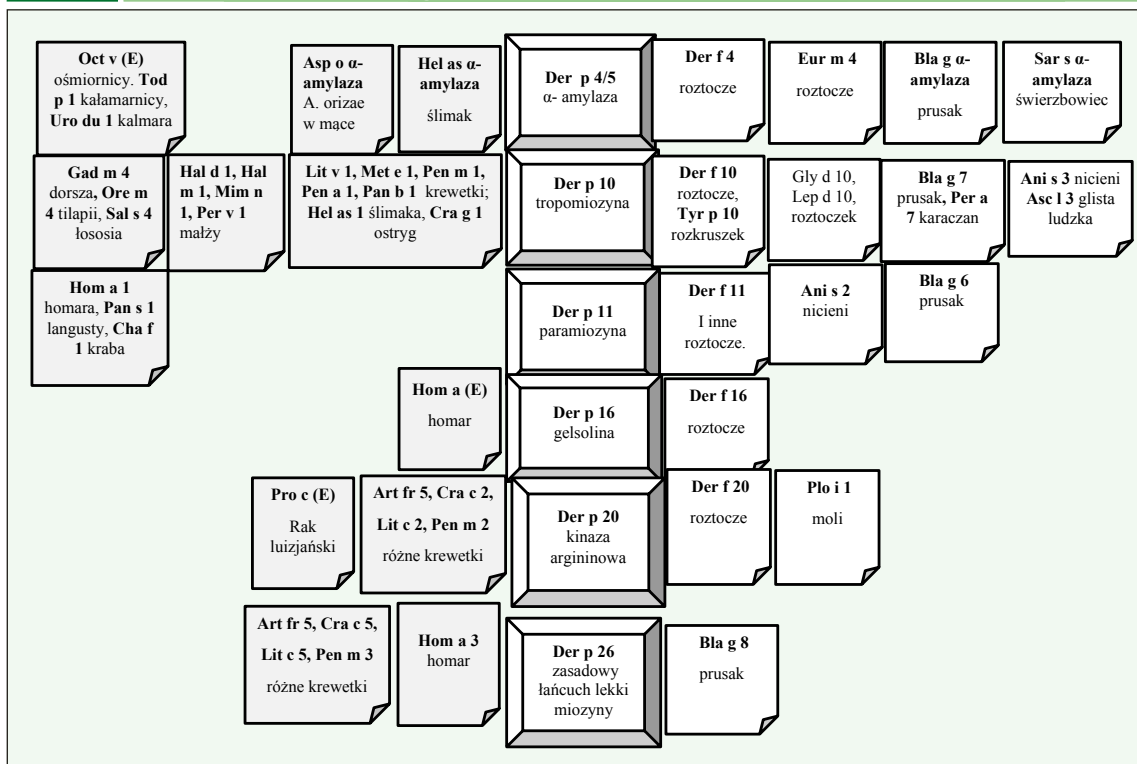
in). Pochodzi z całego ciała Dp, dociera do nosa i oskrzeli drogą wziewną. Czynność biologiczna zbliżona do perytrofiny. Alergenowość badana na izolowanych chromatograficznie białkach Der p 37 wykazała potrzebę dalszego oczyszczenia i ponownej oceny jakościowej dla wykluczenia wiązania krzyżowo reagujących 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 1.6.4. 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].

1.6.6

Tab.

Totem reakcji krzyżowych roztoczy *D. pteronyssinus*
[wg 22, 26, 31, 36, 43, 47] [oprac. K. B.]

Obrazy kliniczne alergii na roztocza kurzu domowego

Roztocza kurzu domowego to główny alergen w alergicznym nieżycie 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 niewykrywalnych 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 nieżytu 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 postaniach 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 na roztocza kurzu domowego

Klasyczne punktowe testy skórne (PTS), oparte o mieszaniny alergenowe, stanowią pierwszy krok potwierdzający uczulenie na rkd, co wystarcza do podjęcia akarasancji oraz leczenia objawowego i/lub przeciwwzapalnego. W obserwacjach własnych autora (K.B.) w porównaniu PTS z dwoma rkd (Dp oraz Df), równoczesne użycie antygenów 3 roztoczy spiżarniowych 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.

Oznaczanie sIgE

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, umożliwi 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. Problem ten zobrazowano na stronie tytułowej rozdziału 1.6.B wynikami oznaczeń z własnej praktyki. Rozbieżne poprzednio dane z panelu IgE (brak cech alergii na ekstrakt roztoczy) wobec PTS (wyraźnie dodatnie wyniki dla *D. pteronyssinus* i *D. farinae*), wyjaśnił test molekularny Polychex, gdzie silnie dodatni był właśnie komponent Der p 23 i słabiej Der p 10, przy praktycznie ujemnych IgE dla klasycznych ekstraktów z kulek kałowych roztoczy.

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]. Obecnie do komercyjnego oznaczania sIgE wobec alergenu roztoczy kurzu domowego i jego molekuł można użyć testów do pojedynczego oznaczania sIgE lub testów multiparametrowych, jak: ImmunoCAP®/ISAC, FABER® czy ALEX®. Testy multiparametrowe pozwalają na oznaczenia sIgE również wobec wielu homologów molekuł roztoczy wskazując na możliwe reakcje krzyżowe. Oprócz paneli zawierających niemal 300 alergenów możliwe są również kilkuparametrowe panele do diagnostyki molekularnej celowanej, np.: przed immunoterapią. Panelem takim jest wspomniany wcześniej Polychex® Rekombinanty roztocze, który zawiera ekstrakt *D. pteronyssinus* oraz ekstrakt *D. farinae* oraz istotne molekuły *D. pteronyssinus* do oznaczenia przed rozpoczęciem immunoterapii [49-52].

W tabeli 1.6.5. zestawiono możliwości oznaczania komercyjnego ekstraktu skórozarłoczka *D. pteronyssi* i jego poszczególnych molekuł w różnych testach.

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 1.6.5.

Profilaktyka, w tym akarosancja

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 zanieczyszczeń pokarmów. Najważniejsze w tym względzie okazało się roztocze spiżarniowe, ponieważ powodowało astmę zawodową na drodze wziewnej oraz anafilaksję po spożyciu zanieczyszczonych produktów. Akarosancja prowadzi do wytępienia (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 zainfestowane przez Df poddawano różnym wersjom prania, następnie liczono 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 ubocz-

ne [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 roztoczy dla SIT. Obserwacja trwająca ponad 22 lata dała pomyślny wynik, bez nawracających epizodów anafilaksji [43]. Lecznicze 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 dają odczuwanie podjęzykowe w kroplach (SLIT). Z najnowszych badań wynika uzasadnienie dla SIT (SLIT lub SCIT) z alergenami rkd. SCIT rkd wywołuje pobudzenie alergogeno 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 roztoczy, umożliwiającego terapię optymalnie dostosowaną do pacjenta [3]. ■

Piśmiennictwo:

1. Boczek J, Błaszczak C. Roztocze (Acari) Znaczenie w życiu i gospodarce człowieka. Wyd. SGGW Warszawa 2016 **2**. Solorz K. Alergogenne roztocza występujące w kurzu domowym. w: Alergia na roztocze. 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, Seiberter 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**. Bordas-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**. Khemilli S, Kwasigroch 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, Skotny A, Zbrojewicz E et al. Alergeny roztoczy. *Postepy Hig Med Dosw*. 2014; 68(0):369-374 **13**. Jacquet 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, Ramadan 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 aeroallergen 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 roztoczy w Alergia na roztocze. 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, Majsiaś E. Wybrane reakcje krzyżowe w alerghiach górnych dróg oddechowych i pokarmowych. *Alergologia Polska*. 2017, 4, 4, 139-145 **27**. Teifoori F, Shams-Ghahfarokhi 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 p1 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, Elliott 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**. Casset A, Mari A, Purohit A et al. Varying Allergen Composition and Content Affects the in vivo Allergenic 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 Venereol*. 2013 Jan 10. doi: 10.1111/jdv.12083. **42**. Arlian LG, Vyszenski-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, Tsoulis 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 **48**. Power, T.D., Ivanciuc, O., Schein, C.H. and Braun, W. Assessment of 3D models for allergen research. *Proteins* 81(4), 545-554, 2013. **49**. Digital Reporting System Professional (CDRS PRO) ze strony www.caam-allergy.com [dostęp dnia 04.02.2019] **50**. https://www.macroarraydx.com/downloads/alex_allergen_list_en.pdf [dostęp dnia 04.02.2019] **51**. <https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/IDD/Catalogs/499356.05-2015-Product-Catalog-121914.pdf> [dostęp dnia 04.02.2019] **52**. <http://polycheck.de/products/> [dostęp dnia 04.02.2019]