

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Astma bronchiální v dětském věku
Bakalářská práce

2022

Lucie Korbová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lucie Korbová**
Osobní číslo: **C19241**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Astma bronchiale v dětském věku**
Téma práce anglicky: **Pediatric Asthma Bronchiale**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- 1) Nastudujte pomocí odborné literatury problematiku týkající se imunopatologické reakce I. typu – tzv. časně přecitlivělosti a imunopatologické reakce IV. typu – tzv. pozdní přecitlivělosti.
- 2) Uveďte přehled a stručnou charakteristiku nejvýznamnějších alergických chorob.
- 3) Popište způsob klasifikace astmatu na základě jeho subfenotypů.
- 4) Metody diagnostiky alergických onemocnění – základní přehled s uvedením principů a zhodnocení výsledků.
- 5) V práci se zaměřte na onemocnění Astma bronchiale s důrazem na projevy již v dětském věku. Popište patogenezi, klinické příznaky a léčbu tohoto onemocnění.
- 6) Detailněji popište studie, které zmiňují vlivy životního stylu a životního prostředí, patogenů na vznik a progresi onemocnění. Uveďte a diskutujte studie ověřující vliv průběhu těhotenství, porodu, genetické zátěže v rodině, složení stravy v kojeneckém a batolecím věku.
- 7) Vypracujte literární rešerši o těchto vlivech v členění do kapitol dle doporučené osnovy. Jako zdroje informací používejte odborné články z hodnotných odborných časopisů českých i zahraničních (anglický jazyk). Informace přehledně zpracujte, použijte obrázky, schémata a grafy. Zaměřte se na popis a zhodnocení vědeckých výsledků dosažených v posledních 10 letech.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2021**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlašuji:

Práci s názvem Astma bronchiale v dětském věku jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 14.6.2022

Lucie Korbová v.r.

Poděkování

Chtěla bych poděkovat své vedoucí prof. RNDr. Zuzaně Bílkové, PhD. za vedení a cenné rady při psaní bakalářské práce a svým nejbližším za podporu.

ANOTACE

Práce se zabývá tématem astma bronchiale v dětském věku se zaměřením na léčbu, diagnostiku a rizikové faktory rozvoje onemocnění. V práci jsou také vysvětleny základní informace o imunitním systému související s onemocněním. Popsány jsou mechanismy a typy onemocnění astma bronchiale. Uvedeny jsou také detailnější popisy několika studií dokládající podíl rizikových faktorů na rozvoj astma bronchiale.

KLÍČOVÁ SLOVA

patogeneze, rizikové faktory, léčba, diagnostika onemocnění

TITLE

Pediatric Asthma Bronchiale

ANNOTATION

The bachelor thesis deals with the topic of pediatric asthma bronchiale. It is focused on the treatment, the diagnostics and the risk factors for the development of the illness. In the bachelor thesis is also given the explanation to the basic information about the immune system with relation to the disease. In the bachelor thesis are described the mechanisms and types of asthma bronchiale. In the bachelor thesis is also given the detailed description of several studies that are documenting the important role of the risk factors in the development of asthma bronchiale.

KEYWORDS

pathogenesis, risk factors, treatment, diagnostics of the disease

Obsah

Seznam ilustrací.....	9
Seznam zkratek.....	10
Úvod.....	13
1. Patologické reakce spjaté s hypersenzitivitou imunitního systému.....	15
1.1 Imunopatologická reakce I. typu.....	15
1.2 Imunopatologická reakce IV. typu.....	17
2. Základní přehled alergických onemocnění horních a dolních cest dýchacích.....	19
2.1 Alergická rýma.....	19
2.2 Astma bronchiale.....	20
<i>Remodelace dýchacích cest.....</i>	21
3. Astma bronchiale a imunitní systém.....	23
3.1 Subfenotypy astmatu.....	23
3.2 Patogeneze eozinofilního astmatu.....	25
3.2.1 Buněčná imunita.....	25
3.2.2 Humorální složky.....	26
3.3 Patogeneze neozinofilního astmatu.....	28
3.3.1 Buněčná imunita u neozinofilního AB.....	28
3.3.2 Humorální složky imunity u neozinofilního AB.....	29
4. Astma bronchiale v dětském věku.....	30
4.1 Rizikové faktory pro vznik astma bronchiale.....	30
4.1.1 Složení mikrobiomu.....	30
4.1.2 Vztah předčasného porodu s rozvojem astma bronchiale.....	34
4.1.3 Nedostatek vitamínu D.....	35
4.1.4 Polutanty v životním prostředí.....	36
4.1.5 Vliv pasivního kouření.....	38
4.1.6 Vliv stresu na rozvoj astma bronchiale.....	39
4.1.7 Vliv kvality výživy a obezita.....	40
4.1.8 Vliv infekcí horních a dolních cest dýchacích na rozvoj AB.....	42
4.1.9 Reaktivní formy kyslíku.....	43
4.1.10 Změny na úrovni epigenetických regulací.....	43

4.2	Léčba astma bronchiale v dětském věku.....	44
4.2.1	Kortikosteroidy	45
4.2.1	Bronchodilatancia	46
4.2.2	Antileukotrieny	46
4.2.3	Specifická alergenová imunoterapie.....	47
4.2.4	Biologická léčba.....	47
5.	Diagnostika alergických onemocnění.....	49
5.1	<i>In vivo</i> kožní testy.....	49
5.1.1	Skin prick testy.....	49
5.1.2	Prick to prick test.....	50
5.1.3	Atopický epikutánní test	50
5.2	<i>In vitro</i> laboratorní testy.....	50
5.2.1	Stanovení eozinofilů	50
5.2.2	Stanovení celkového IgE	51
5.2.3	Vyšetření specifických protilátek IgE ze séra.....	51
5.2.4	Test aktivace bazofilů (BAT).....	52
5.3	Diagnostika astma bronchiale v dětském věku	53
5.3.1	Spirometrie.....	53
5.3.2	Bronchodilatační test.....	54
5.3.3	Bronchokonstrikční test.....	54
5.3.4	Vrcholová výdechová rychlost.....	55
5.3.5	Impulzní oscilometrie	55
5.3.6	Oxid dusnatý ve vydechaném vzduchu.....	57
5.3.7	Stanovení periostinu.....	58
6.	Vybrané studie dokládající podíl rizikových faktorů na rozvoji astma bronchiale	59
6.1	Vliv životního prostředí na rozvoj astma bronchiale	59
6.2	Vliv životního stylu matky na rozvoj astma bronchiale u potomka.....	59
6.3	Respirační onemocnění a rozvoj astma bronchiale u dětí v raném věku	60
6.4	Vliv kvality výživy na rozvoj astma bronchiale.....	61
6.5	Vliv předčasného porodu na rozvoj astma bronchiale	63
	Závěr	64
	Použitá literatura	65

Seznam ilustrací

Obrázek 1 Senzibilizace organismu a mechanismus alergické reakce, převzato z: EIRINGHAUS et al., 2019.....	17
Obrázek 2 Subfenotypy astmatu, převzato z: BUSSE, 2019	24
Obrázek 3 Patogeneze astma bronchiale, převzato z: BAGNASCO et al., 2016	24
Obrázek 4 Imunomodulační vlivy vitamínu D na buňky imunitního systému, které se účastní astmatu. Převzato z: HALL a AGRAWAL, 2017	36
Obrázek 5 Princip biologické léčby, převzato z: PELAIA et al., 2020	48
Obrázek 6 Výdechoměr, převzato z: https://www.netmedik.cz/vydechomery/	55
Obrázek 7 Impulzní oscilometr, převzato z: KOMAROW et al., 2011, upraveno	56
Obrázek 8 Grafy impulzní oscilometrie a spirometrie u zdravé osoby, u osob s distální a proximální obstrukce a u osoby s obstrukční plicní nemocí, převzato z: KOMAROW et al., 2011	57

Seznam zkratek

AB	Astma bronchiale
ACE	Enzym angiotenzin konvertáza (z angl. Angiotensin-Converting Enzyme)
BAT	Test aktivace bazofilů (z angl. Basophil Activation Test)
BCG	Bacillus Calmette–Guérin
C3a	Složka komplementu C3
C5a	Složka komplementu C5
cAMP	Cyklický adenosinmonofosfát
CCL19	Ligand chemokinů se sekvencí C-C (z angl. C-C Motif Chemokine Ligand 19)
CD	Diferenciační antigen (z angl. Cluster of Differentiation)
CRTH2	Receptor pro Prostaglandin D2 (z angl. Chemoattractant Receptor-Homologus Molecule Expressed on Th ₂ Cells)
CXCL	Chemokiny s C-X-C sekvencí (z angl. C-X-C Motif Chemokine)
CYS LT	Cysteinované leukotrieny
DAMP	Molekulární vzory spojené s nebezpečím (z angl. Damage-Associated Molecular Patterns)
DNA	Deoxyribonukleová kyselina (z angl. Deoxyribonucleic Acid)
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EPO	Eosinofilní peroxidáza
ET-1	Endotelin 1
FeNO	Frakční koncentrace oxidu dusnatého (z angl. Fractioned Exhaled Nitric Oxide)
FEV1/FVC	Poměr jednosekundové vitální kapacity plic k usilovné vitální kapacitě plic (z angl. Forced Expiratory Volume in one second / Forced Vital Capacity)
FGF	Fibroblastový růstový faktor (z angl. Fibroblast Growth Factor)
FOXP3	Gen Forkhead box P3
GITR	Receptor tumor nekrotizujícího faktoru indukovaný glukokortikoidy (z angl. Glukokortikoid-Induced Tumor Necrosis Factor Receptor)
GM-CSF	Granulocyty a makrofágy stimulující faktor (z angl. Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor)
HB-EGF	Heparin-vázající epidermální růstový faktor (z angl. Heparin-Binding Epidermal Growth Factor-Like Growth Factor)

HLA	Lidský leukocytární antigen (z angl. Human Leucocyte Antigen)
ICAM-1	Intercelulární adhezivní molekula 1 (z angl. Intercellular Adhesion Molecule 1)
ICOS	Indukovatelný kostimulátor (z angl. Inducible Costimulatory Molecule)
IFN γ	Interferon gamma
IgA	Imunoglobulin A
IgE	Imunoglobulin E
IGF-1	Inzulinu podobný růstový faktor-1 (z angl. Insulin-like Growth Factor 1, somatomedin C)
IgG	Imunoglobulin G
IgM	Imunoglobulin M
IL	Interleukin
ILC	Přirozené lymfoidní buňky (z angl. Innate Lymphoid Cells)
LPS	Lipopolysacharid
LTC4	Leukotrien C4
LTD4	Leukotrien D4
LTE4	Leukotrien E4
MBP	Hlavní bazický protein eozinofilních granulí (z angl. Human Eosinophil Major Basic Protein)
M-CSF	Makrofágy stimulující faktor (z angl. Macrophage Colony-Stimulating Factor)
MHC	Hlavní histokompatibilní komplex (z angl. Major Histocompatibility Complex)
MMPs	Metaloproteinázy (z angl. Matrix metalloproteinases)
NF- $\kappa\beta$	Transkripční faktor kappa beta (z angl. Nuclear factor kappa beta)
NLRP3	Nod-Like Receptor Family Pyrin Domain Containing 3
PAMP	S patogenem asociované molekulární vzory (z angl. Pathogen-Associated Molecular Patterns)
PDGF	Destičkový růstový faktor (z angl. Platelet Derived Growth Factor)
PEF	Vrcholová výdechová rychlost (z angl. Peak Expiratory Flow)
PGD2	Prostaglandin D2
RNA	Ribonukleová kyselina (z angl. Ribonucleic Acid)
ROR γ	RAR-příbuzný orhan receptor gamma (z angl. RAR-Related Orphan Receptor Gamma)

ROS	Reaktivní formy kyslíku
RTK	Tyrosinkinázový receptor (z angl. Receptor Tyrosine Kinases)
SASP	Sekreční fenotyp asociovaný se senescencí (z angl. Senescence Associated Secretory Phenotype)
SCFA	Mastné kyseliny s krátkým řetězcem (z angl. Short Chain Fatty Acids)
Tc	CD8+ lymfocyt
TGF	Transformující růstový faktor (z angl. Transforming Growth Factor)
Th	CD4+ lymfocyt
TIMP	Tkáňové inhibitory metaloproteináz (z angl. Tissue Inhibitors Of Metalloproteinases)
TLR	Receptory ze skupiny toll receptorů (z angl. Toll-Like Receptor)
TNF	Tumor nekrotizující faktor (z angl. Tumor Necrosis Factor)
Treg	Regulační T lymfocyty
TSLP	Stromální lymfopoetin thymu (z angl. Thymic Stromal Lymphopoietin)
UV	Ultrafialové světlo
VCAM-1	Molekula vaskulární buněčné adheze (z angl. Vascular Cell Adhesion Molecule)
VEGF	Vaskulární endotelový růstový faktor (z angl. Vascular Endothelial Growth Factor)

Úvod

Astma bronchiale je chronické zánětlivé onemocnění dýchacích cest, které se objevuje v jakémkoliv věku a jehož prevalence v České republice je 8 %. Celosvětový počet pacientů s astma bronchiale se odhaduje na více než 300 milionů. V dětském věku je toto onemocnění častější u chlapců, zatímco v dospělosti se astma bronchiale vyskytuje častěji u osob ženského pohlaví. U dětí je astma bronchiale nejčastější chronické onemocnění. Za preastmatické stavy jsou považované alergická rýma a atopická dermatitida. Alergická rýma má v populaci prevalenci až 30 %, prevalence atopické dermatitidy v České republice je cca 10 %. Prevalence všech těchto onemocnění v populaci vzrůstá.

Astma bronchiale negativně zasahuje do života pacientů, protože tito pacienti např. nejsou schopni fyzických výkonů obvyklých pro danou část populace, děti kvůli exacerbacím zameškávají ve škole atd.

Astma bronchiale je nevléčitelné onemocnění, u něhož je cílem léčby dosáhnout kontroly nad onemocněním s minimem příznaků a minimem exacerbací. Probíhá neustálý vývoj nových léčiv, která mají zcela nový nebo poupravený mechanismus účinků. U vývoje léčiv je vždy cílem snazší a účinnější léčba s nižší frekvencí a menší závažností vedlejších účinků (např. menší negativní účinky na pozornost, soustředěnost atd.). Tato nová léčiva jsou neustále uváděna na trh, díky čemuž je dostupných stále více účinných léků, které je možné v léčbě astma bronchiale využít. Úmrtnost na astma bronchiale v České republice zůstává i přes narůstající prevalenci onemocnění v populaci díky neustále se vyvíjející terapii nízká. V posledních deseti letech se na trh uvedlo např. spoustu preparátů pro biologickou léčbu astmatu (např. Dupixent (dupilumab) v roce 2017).

Výrazným vývojem prošla antihistaminika. První antihistaminika se na trhu objevila ve čtyřicátých letech dvacátého století. Antihistaminika 1. generace ovšem prostupovala hematoencefalickou bariérou a nebyla zcela selektivní k H1 receptoru, a proto způsobovala velké množství vedlejších účinků. Mezi tyto nežádoucí účinky patřila únava, zhoršená koncentrace a spavost, které při dlouhodobém užívání výrazně ovlivňovaly celkovou kvalitu života pacienta, ať u školou povinných dětí nebo u dospělých. V osmdesátých letech minulého století byla na trh uvedena antihistaminika druhé generace, která již přes hematoencefalickou bariéru téměř nepřestupují a nepůsobí tedy sedativně. Tato generace antihistaminik má také větší rozsah mechanismů působení a delší dobu účinku. Antihistaminika druhé generace kromě jiného

také zabraňují např. uvolňování mediátorů ze žírných buněk nebo chemotaxi eozinofilů. Antihistaminika třetí generace mají oproti druhé generaci rychlejší nástup účinků.

Biologická léčba se podává hlavně pacientům s těžkým astmatem, u nichž léky první volby nemají požadovaný efekt, protože tato léčba je velmi nákladná. Mezi protizánětlivými léky první volby stále zůstávají kortikosteroidy. Těm je však snaha se zvláště u dětí s lehčím průběhem astma bronchiale vyhnout kvůli jejich negativnímu účinku na růst. Těmto dětem se ordinují hlavně antileukotrieny. Léčbu je ovšem zvláště u dětí nutné neustále přehodnocovat.

Současné studie se zaměřují také na nové možnosti diagnostiky a předvídání exacerbací a to např. pomocí analýzy organických látek ve vydechovaném vzduchu.

1. Patologické reakce spjaté s hypersenzitivitou imunitního systému

Imunopatologické reakce jsou různého typu a liší se mechanismem reakce, mezi tzv. hypersenzitivní reakce patří imunopatologická reakce I. a IV. typu.

1.1 Imunopatologická reakce I. typu

Imunopatologická reakce I. typu je časnou přecitlivělostí a k jejím projevům dochází v řádu minut. Uplatňují se při ní hlavně IgE protilátky namířené proti danému alergenu, žírné buňky a bazofily. Alergeny jsou antigeny z vnějšího prostředí, které jsou neškodné, ale organismus alergika na ně reaguje jako by škodlivé byly. Z chemické podstaty jsou alergeny nejčastěji proteiny nebo glykoproteiny. Nejčastěji se setkáváme s alergeny inhalačními např. pyl, prach, srst (Ferenčík, 2005), potravinovými např. vejce, pšenice, kravské mléko (Šetinová, 2020) nebo kontaktními, které působí přes kůži např. nikl, latex, složky krémů (Machová, 2006). Velmi časté jsou také alergie na léky např. na penicilin, kyselina acetylsalicylová, analgetika (Viktorinová, 2008) nebo na bodnutí hmyzem (Braunová, 2001).

Žírné buňky jsou zodpovědné za projevy alergie, jelikož po jejich aktivaci dochází k uvolnění jejich granul obsahujících histamin a heparin do nejbližšího okolí. Žírné buňky mají na svém povrchu 2 typy receptorů důležitých z pohledu alergií. Vysokoafinní receptory pro Fc fragment protilátek typu IgE, na které se váží protilátky typu IgE vznikající při imunopatologické reakci I. typu produkované B lymfocyty. Dalšími jsou pro fragmenty komplementu C3a a C5a neboli anafylatoxiny. Anafylatoxiny aktivují mastocyt přímo ihned po navázání C3a nebo C5a složky komplementu. Receptory pro Fc fragment protilátek typu IgE aktivují žírnou buňku až ve chvíli, kdy antigen přemostí minimálně dvě IgE protilátky na nich navázané.

Bazofily patří mezi granulocyty a vyvíjí se v kostní dřeni. V periferní krvi se jich ze všech leukocytů nachází nejméně a to pouhé 1 %. Jejich granula obsahují taktéž heparin a histamin. Jejich aktivace probíhá na stejném principu jako aktivace žírných buněk.

IgE protilátky jsou protilátky primárně určené k ochraně před parazity, které se ale uplatňují také při alergických reakcích. Jsou produkovány plazmatickými buňkami poté, co dojde k jejich izotypovému přesmyku, na kterém se podílejí T lymfocyty.

K projevům časné přecitlivělosti dochází až při opakovaném setkání senzibilizovaného organismu s daným alergenem. První setkání je bezpříznakové a dochází při něm k senzibilizaci.

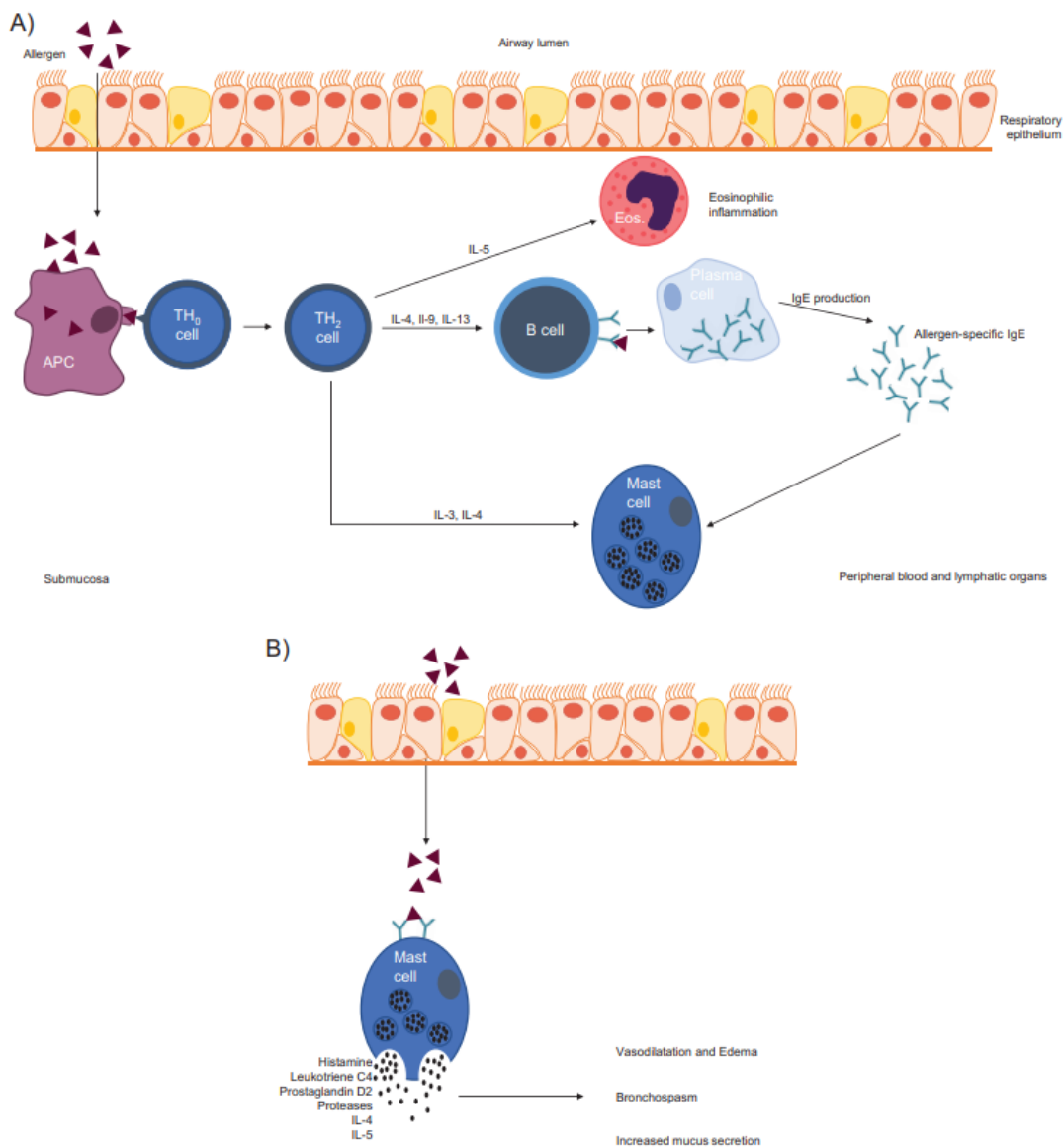
Ve fázi senzibilizace se daný antigen dostane do kontaktu se sliznicí respiračního nebo zažívacího traktu či s kůží, na což zareagují antigen prezentující buňky, mezi které řadíme makrofágy a dendritické buňky. Ty migrují do lokálních lymfatických uzlin a fragmenty antigenu vystaví na svém povrchu. Na předložený fragment antigenu se naváže naivní pomocný T lymfocyt, který se touto vazbou mění na Th₂ lymfocyt. Tento Th₂ lymfocyt začne produkovat cytokiny IL-4, IL-5 a IL-10. (viz Obr.1)

V prostředí interleukinu 4 dochází k izotypovému přesmyku produkce protilátek B lymfocytu z IgM na IgE. Tyto vznikající protilátky IgE se váží na receptory na povrchu žírných buněk a bazofilů. Interleukin 5 stimuluje produkci eozinofilů a aktivuje eozinofily.

Při opakovaném setkání senzibilizovaného organismu s daným antigenem dochází k přemostění IgE protilátek na povrchu mastocytů a k aktivaci žírné buňky. Dochází k degranulaci žírné buňky a ke klinickým projevům alergie.

Histamin působí především na sliznici bronchů a endotel cév. Klinické projevy mohou být lokální, projevující se např. kopřivkou, nebo systémové, mezi které patří např. anafylaktický nebo astmatický záchvat. Histamin vazbou na H1 receptory způsobuje bronchokonstrikci, edém a nadprodukcí hlenu. V cévách způsobuje vazodilataci, díky které dochází k snadnějšímu průniku tekutiny z kapiláry do intersticia, s tím souvisí otok postižené tkáně a systémově se tato změna projeví poklesem krevního tlaku a tachykardií. Histamin způsobuje svědivou vyrážku. Dále způsobuje zvýšenou chemotaxi eozinofilů a překrvení nosní sliznice, které se projevuje zejména u alergické rýmy (Yamauchi a Ogasawara, 2019; Kunešová, 2020). Heparin působí jako kofaktor antitrombinu III a snižuje adhezivitu trombocytů k endotelu, čímž působí proti srážení krve.

Pozdní fáze imunopatologické reakce I. typu nastává přibližně po 6 hodinách od kontaktu s antigenem. Uplatňují se v ní leukotrieny, prostaglandiny a tromboxany, které syntetizovala žírná buňka po své aktivaci, ke které došlo přemostěním protilátek. Výchozím substrátem je kyselina arachidonová a k syntéze dochází za využití enzymu lipooxygenázy. Tyto látky působí podobně jako histamin. Leukotrieny vyvolávají bronchokonstrikci, jelikož působí na hladké svaly podél bronchů a působí chemotakticky, prostaglandiny způsobují vazodilataci.



Obrázek 1 Senzibilizace organismu a mechanismus alergické reakce, převzato z: EIRINGHAUS et al., 2019

1.2 Imunopatologická reakce IV. typu

Imunopatologická reakce IV. typu je reakcí pozdní přecitlivělosti, při níž k reakci dochází cca za 48 hodin. Hlavní roli v této reakci hrají T lymfocyty. T lymfocytů jsou dva typy a to cytotoxické (Tc, CD8+) a pomocné (Th, CD4+) a při imunopatologické reakci IV. typu reagují na neškodné antigeny. Antigenem jsou bakterie, plísně, kovy, latex, chemikálie atd. Imunopatologická reakce IV. typu se projevuje převážně jako kontaktní dermatitida.

Th lymfocyty syntetizují a uvolňují cytokiny, které stimulují nebo inhibují další buňky imunitního systému, podílí se na izotypovém přesmyku B lymfocytů. Stejně se chovají i při pozdní přecitlivělosti, kdy ale reagují na tělu neškodné antigeny.

Antigen (hapten, který se musí např. v kůži navázat na bílkovinu, aby se stal antigenním) pronikne do těla, dendritická buňka na svém povrchu vystaví jeho fragment a migruje do lokální lymfatické uzliny. Na tento fragment antigenu vystavený na povrchu dendritické buňky na HLA II molekule se naváže naivní Th lymfocyt. Po jeho navázání dendritická buňka uvolní cytokin IL-12. Toto cytokinové prostředí umožní vyvinutí naivního Th lymfocytu v Th₁ lymfocyt. Tato efektorová buňka začne produkovat IL-2 a IFN γ . IL-12 zajistí proliferaci Th₁ lymfocytů, IFN γ aktivuje makrofágy. Aktivované makrofágy produkují prozánětlivé cytokiny (TNF, IL-1, IL-6), které umožní buňkám imunitního systému migrovat na postižené místo. Aktivovaný makrofág začne také produkovat lysozomální enzymy, kyslíkové radikály a složky komplementu, což vede k poškození tkáně. Tato kaskáda reakcí se projeví otokem, začervenaním, indurací a případně teplotou.

Tc lymfocyty se váží na HLA I molekuly. Tc lymfocyt se naváže na buňku napadenou virem nebo nádorově pozměněnou buňku (fyziologicky) a začne produkovat perforiny a granzymy. Perforiny naruší buněčnou membránu buňky, díky čemuž se do buňky dostanou granzymy a ty indukují apoptózu postižené buňky. Při imunopatologické reakci IV. typu se toto děje patologicky v reakci na neškodné antigeny např. u kontaktních dermatitid vyvolaných alergií na kovy např. na nikl, chrom (Machová, 2006).

Patologicky se výše popsaná reakce uplatňuje také v chronických systémových onemocněních jako je např. roztroušená skleróza (Pavelek a Vališ, 2015).

2. Základní přehled alergických onemocnění horních a dolních cest dýchacích

Alergie můžeme dělit podle orgánu, ve kterém alergeny působí a vyvolávají dané alergické příznaky. Postihovaný orgán se odvíjí od místa vstupu alergenu do organismu. Mezi nejčastější typ alergií v populaci patří alergická onemocnění dýchacích cest, které se projevují jako alergická rýma (rhinitida) nebo jako astma bronchiale (Ferenčík, 2005).

2.1 Alergická rýma

Jedná se o nejčastější alergické onemocnění v České republice, kterým na našem území trpí 5-25 % populace (Bystroň, 2015). Rhinitis je považována za preastmatický stav (Vernerová, 2012) vyvolaný imunopatologickou reakcí I. typu (viz 1.1) na inhalační alergeny (Beard, 2014), mezi které patří proteiny a glykoproteiny nacházející se na částech vzduchu (Eifan et al., 2016). U malých dětí trpících alergickou rýmou je vysoká šance, že se u nich později rozvine astma bronchiale. Turzíková (2012) ve svém článku uvádí, že na našem území trpí rhinitis až 80 % astmatiků a z osob trpících alergickou rýmou má 10 – 40 % projevy astmatu.

Jedná se o zánět nosní sliznice, jehož hlavními příznaky jsou ucpaný nos, svědění v nose, vodnatý výtok z nosu, záchvatovité kýchaní a časté jsou také defekty čichu. Alergická rýma se může projevovat také na sliznici spojivek a nosohltanu a to zarudnutím, svěděním, pálením sliznice a také slzením a drážděním k suchému kašli (Bystroň, 2015).

Spousta inhalačních alergenů usnadňuje senzibilizační fázi svými proteázami, které narušují těsné spoje mezi buňkami epitelu dýchacích cest a poškozují epiteliální buňky, čímž usnadní alergenu kontakt s imunitním systémem. Poškozené epiteliální buňky vylučují TSLP, IL-33 a IL-25 (Eifan et al., 2016).

K projevům klinických příznaků rané fáze dochází po pár minutách od expozice alergenu po degranulaci žírných buněk a tyto příznaky ustávají do hodiny od posledního kontaktu s daným alergenem (Beard, 2014). Kýchaní je způsobeno podrážděním trigeminálního nervu v nosní sliznici histaminem (Okubo et al., 2020). Histamin také stimuluje žlázy nosní sliznice ke zvýšené produkci hlenu (Akhouri a House, 2022) a způsobuje vazodilataci a zvyšuje permeabilitu cévní stěny, čímž způsobuje výtok z nosu (Okubo et al., 2020) a způsobuje svědění.

Leukotrieny a prostaglandiny způsobují edém a hypersekreci hlenu ze žlázek nosní sliznice, což spolu s účinky histaminu způsobuje pocit ucpaného nosu (Eifan et al., 2016).

V pozdní fázi přetrvává klinický příznak ucpaného nosu a rozvíjí se zánět sliznice. Dochází také k migraci leukocytů na místo zánětu, kterou způsobují mediátory a cytokiny vyprodukované během setkání organismu s alergenem (Sin a Togias, 2011).

Alergická rýma může ovlivňovat kvalitu života, jelikož narušuje kvalitu spánku a postižený člověk je méně výkonný a přes den ospalý (Hoyte a Nelson, 2018).

2.2 Astma bronchiale

Astma bronchiale (AB) je chronický zánět dýchacích cest, jehož se účastní hlavně eozinofily, žírné buňky (Ferenčík, 2005) a T lymfocyty. Tento zánět se v dýchacích cestách nachází i v době, kdy se neprojevuje žádnými klinickými příznaky (Petrů, 2008). Mezi příznaky patří reverzibilní obstrukce průdušek, což má za následek ztížené dýchání, záchvaty pískotu a dušnosti, tlak na hrudi a kašel (Kašák, 2010). Mezi spouštěče astmatických záchvatů patří např. kouření (včetně pasivního), cvičení, alergeny, infekce dýchacích cest, polutanty, výrazné změny teplot, smích, pláč, stres a úzkost (<https://www.webmd.com/asthma/guide/bronchial-asthma>).

AB je onemocnění, které se může objevit v kterémkoliv věku (Kašák, 2010), a na jehož vzniku se podílí genetické faktory, ale také vlivy zevního prostředí. Mezi vnější faktory patří například respirační infekce, alergeny, kouření apod. Genetickým faktorem je dědičná predispozice ke zvýšené produkci protilátek typu IgE, protože rozvoj astmatu má blízký vztah k atopickým onemocněním (Pohl, 2001). AB je onemocnění nevyлéčitelné, u něhož je hlavním cílem terapie dostat onemocnění pod kontrolu. Pokud je astma nekontrolované, má dopad na kvalitu života a může způsobit až smrt. V České republice je odhadovaná prevalence astmatu 8 % (Kašák, 2010).

Mezi preastmatické stavy patří atopická dermatitida a rhinitis. Lidé trpící alergickou rýmou mají 3 – 4x vyšší riziko rozvoje astmatu. Je předpokládáno několik mechanismů, které vedou k rozvoji AB z rhinitidy, mezi které patří např. atopická predispozice a virová onemocnění. Dále pak dýchání pusou, které je u alergické rýmy často upřednostňováno. Do průdušek se tak dostává teplotně a vlhkostně neupravený vzduch bez NO (který má protektivní účinky) produkovaného nosní sliznicí, který obsahuje spoustu alergenních a iritačních částic (Krčmová

a Novosad, 2013). AB můžeme rozdělit na eozinofilní, které je častější, a neeozinofilní (Licari et al., 2019). Nebo podle obtíží dělíme astma na intermitentní, lehké perzistující, středně těžké perzistující a těžké perzistující astma (Kašák, 2010).

Remodelace dýchacích cest

Dýchací cesty pacientů s astmatem jsou charakteristické svým zúžením a zvýšenou tloušťkou jejich stěny. Obojí je výsledkem remodelace dýchacích cest, jež je definována jako sekvence chronických strukturálních změn, které vedou ke ztluštění stěny dýchacích cest, poškození epitelu, subepiteliální fibróze, zvýšenému ukládání extracelulární matrix, hypertrofii a hyperplazii hladkého svalstva a zvýšené vaskularitě (Michalik et al., 2018).

Ztluštění subepiteliální vrstvy je způsobeno zvýšeným ukládáním proteinů extracelulární matrix (kolagenu I, III a V a elastinu, fibronektinu a lamininu), které jsou produkovány buňkami hladké svaloviny dýchacích cest, fibroblasty a myofibroblasty (Michalik et al., 2018).

TGF- β produkovaný makrofágy, fibroblasty, lymfocyty, eozinofily, žírnými buňkami a epiteliálními buňkami dýchacích cest, zvyšuje produkci extracelulární matrix (Yamauchi a Inoue, 2007).

Důležitá je rovnováha mezi produkcí a degradací extracelulární matrix. Degradace je závislá na metaloproteinázách (MMPs). Tkáňové inhibitory metaloproteináz (TIMPs) inhibují MMPs tím, že se na ně vážou. Nerovnováha může vést ke zvýšené degradaci extracelulární matrix nebo její akumulaci. Eozinofily produkují oba faktory. IL-5 indukuje v eozinofilech tvorbu MMP-9 (Kariyawasam a Robinson, 2007). MMP-9 štěpí kolagen typu IV, který je součástí bazální membrány, čímž napomáhá remodelaci, subepiteliální fibróze a ukládání kolagenu III a V. TGF- β a IL-13 podporují produkci TIMP-1 (Yamauchi a Inoue, 2007). TIMP-1 je ve zvýšené míře produkován alveolárními makrofágy u astmatiků (Homer a Elias, 2005).

Zvýšená vaskularita je způsobená nadprodukcí několika růstových faktorů jako VEGF, FGF a angiogeninu. Eozinofily produkují všechny tyto 3 faktory. VEGF také podporuje zánět a cévní a tkáňovou přestavbu (Lee et al., 2004).

Myofibroblasty jsou mezenchymální buňky, které jsou kontraktilní a metabolicky aktivní, vznikající z fibroblastů (Lo et al., 2015; Michalik et al., 2018). Myofibroblasty se podílejí na remodelaci bronchiální stěny díky své kontraktilitě a sekreci růstových faktorů (Burgess et al.,

2016). Myofibroblasty produkují zánětlivé mediátory, cytokiny, chemokiny a růstové faktory (GM-CSF, IL-6, IL-1, IL-8, TGF- β) (Zhang et al., 1996).

Na přeměně fibroblastu na myofibroblast se podílí humorální látky a mechanické namáhání. Mezi humorální faktory patří např. TGF- β , PDGF, interleukiny (Michalik et al., 2018). IL-4 a IL-13 mohou přímo působit na plicní fibroblasty a indukovat myofibroblastický přechod (Saito et al., 2003). IL-5, IL-25, TNF- α a IL-33 působí na tuto změnu nepřímo (Michalik et al., 2018).

Dochází také k hypertrofii a hyperplazii hladkého svalstva dýchacích cest. Buňky hladkého svalstva v dýchacích cestách tvoří GM-CSF, IL-5, IL-8, ICAM-1 a VCAM-1 (Tagaya a Tamaoki, 2007). Při zvýšeném počtu buněk se tedy těchto faktorů bude produkovat více a všechny tyto mediátory také působí dále na remodelaci dýchacích cest a na eozinofilní zánět.

Dále je také prokázána hyperplazie pohárkových buněk (Tagaya a Tamaoki, 2007). Tyto buňky obsahují 13 genů pro tvorbu mucinových receptorů, z nichž nejvýznamnější je gen MUC5AC (Fahy, 2001). IL-13 zvyšuje počet těchto pohárkových buněk a způsobuje nadměrnou expresi genu MUC5AC, čímž zvyšuje produkci hlenu (Tagaya a Tamaoki, 2007).

Autofagie

Autofagie je vnitrobuněčný proces rozkládání nepotřebných nebo poškozených makromolekulových součástí buňky pomocí lysozomů. Jedná se o proces důležitý pro udržení homeostázy, dochází k ní také v reakci na buněčný stres.

Studie naznačují, že IL-4 může indukovat autofagii. Zvýšená autofagie byla spojena s ukládáním extracelulární matrix, remodelací dýchacích cest a jejich hyperreaktivitou (Sachdeva, 2019).

3. Astma bronchiale a imunitní systém

AB je charakterizováno jako chronický zánět dýchacích cest, mezi jehož klinické příznaky patří zúžení dýchacích cest (projevující se pískoty a dušností) a kašel (Nakamura et al., 2020).

3.1 Subfenotypy astmatu

AB se rozděluje dle fenotypů, což je rozdělení na základě viditelných charakteristik, jež jsou výsledkem dědičných a enviromentálních vlivů (Kuruvilla et al., 2019). Nyní také stále častěji AB klasifikujeme dle endotypů, které astma rozřazují dle patofyziologických mechanismů na molekulární a buněčné úrovni (Popovic-Grle et al., 2021). Toto rozdělení se v literatuře často mísí a jako fenotypové rozdělení astmatu je v jedné studii uváděno to, co je v jiné vedeno jako rozdělení endotypové.

Dlouho převládalo dělení na neatopické „vnitřní“ a atopické „vnější“ (Kuruvilla et al., 2019). Hlavní dělení AB dle endotypu je dle hladiny Th₂ lymfocytů na astma s vysokou hladinou Th₂ lymfocytů a na astma s nízkou hladinou Th₂ lymfocytů (non-Th₂) (Popovic-Grle et al., 2021). Astma s vysokou hladinou Th₂ lymfocytů jinak také označujeme jako eozinofilní a non-Th₂ astma jako neeozinofilní (Kuruvilla et al., 2019).

V České republice se doporučuje AB klasifikovat do tří skupin. Na eozinofilní alergické (které je IgE mediované), na eozinofilní nealergické (které není IgE mediované) a na neeozinofilní (Krčmová a Novosad, 2014). (viz Obr. 2)

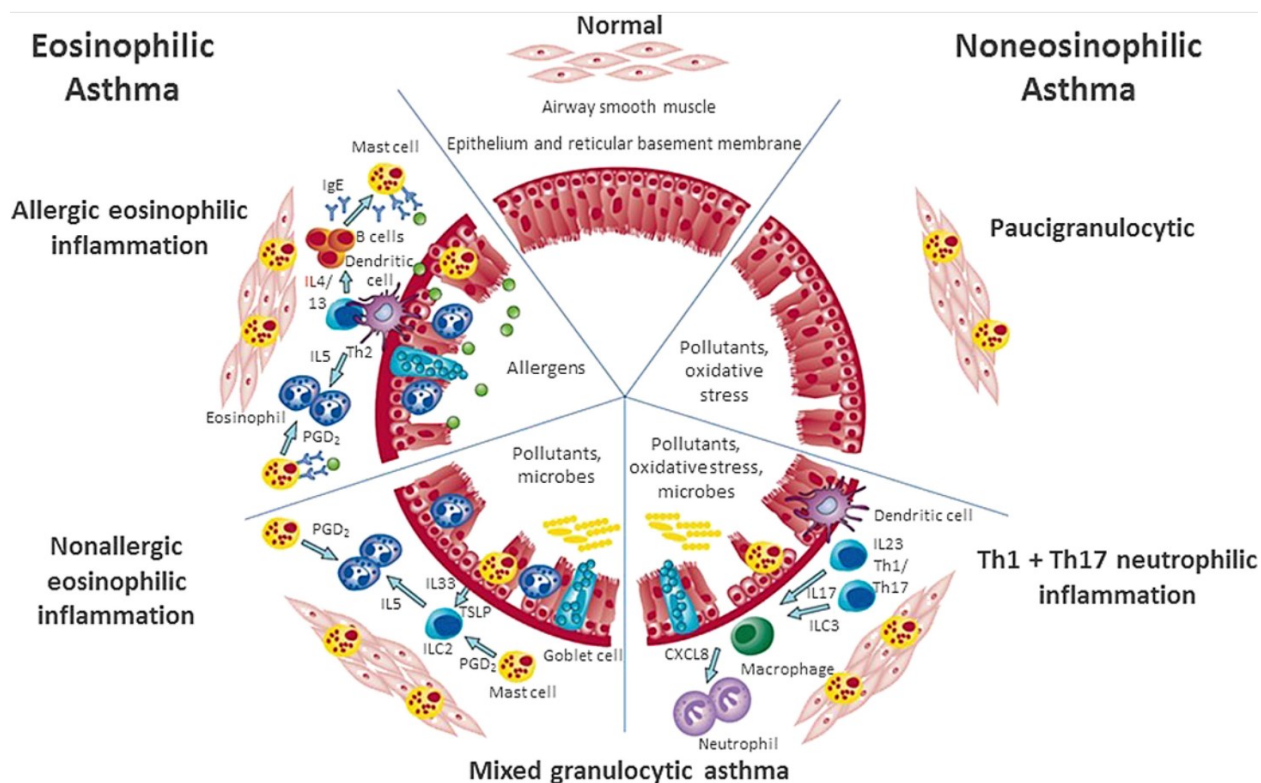
Neeozinofilní AB se projevuje buď neutrofilii, tedy zvýšeným počtem neutrofilů, nebo pauci-granulocytárním zánětem (Kalchiem-Dekel et al., 2020), což je zánět chudý na granulocyty (Sedlák, 2013).

Alergické astma je často doprovázeno alergickou rýmou a ekzémem, začíná nejčastěji v dětství, a to převážně mezi druhým rokem života dítěte, kdy už se vyskytuje senzibilizace na vzdušné alergeny, a dvanáctým rokem života (Akar-Ghibril et al., 2020). U alergického astmatu je také výrazná eozinofilie.

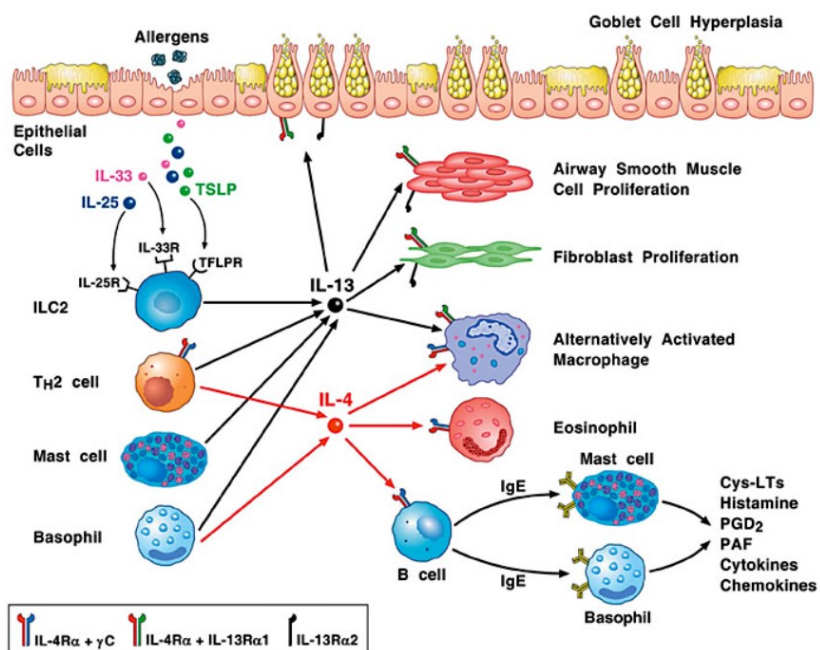
U nealergického astmatu je hlavním znakem velmi výrazná eozinofilie bez alergie. Tento typ se nejčastěji rozvíjí ve středním věku (Teřl, 2015).

Fenotypy AB se u dospělých dělí podle toho, zda se jedná o atopické nebo neatopické astma a dle nutnosti léčby. U dětí se AB dle fenotypu dělí na vyvolané viry, alergické, námahové

a nedořešené. U dětí se dále také astma velmi rychle vyvíjí a je tedy nutné zařazení přehodnocovat (Chládková, 2011).



Obrázek 2 Subfenotypy astmatu, převzato z: BUSSE, 2019



Obrázek 3 Patogeneze astma bronchiale, převzato z: BAGNASCO et al., 2016

3.2 Patogeneze eozinofilního astmatu

Eozinofilní zánět (Th₂ typ astmatu) je podstatou AB u více než poloviny pacientů s astmatem (Licari et al., 2019).

Do celého zánětlivého procesu se zapojuje vrozená i adaptivní imunita. Z vrozené imunitní odpovědi to jsou hlavně přirozené lymfoidní buňky typu 2 (ILC2) a neutrofilů a z adaptivní pak T a B lymfocyty.

3.2.1 Buněčná imunita

Po kontaktu s alergenem, mikroblem nebo prachem uvolňují epitelové buňky dýchacích cest cytokiny IL-33, IL-25, TSLP (viz Obr. 3), GM-CSF, M-CSF a TGF- β (Kato et al., 2019; Lambrecht et al., 2019). Epitelové buňky tyto cytokiny produkují v reakci na kontakt s proteázami, které se vážou na jejich receptory a zároveň narušují mukózní vrstvu. Nejvíce proteáz ze vdechovaných alergenů obsahují *Alternaria alternata* (jedná se o houbu čern střídavou) a roztoči (Peebles et al., 2019). IL-33, IL-25 a TSLP aktivují přirozené lymfoidní buňky typu 2 (Licari et al., 2019; Peebles, 2019). ILC jsou imunitní buňky podobné lymfocytům, které ale postrádají T buněčný receptor. ILC buňky jsou rozdělené do 3 funkčních skupin na ILC1, ILC2 a ILC3 podle jejich cytokinů a transkripčních faktorů, které mají paralelu u Th₁, Th₂ a Th₁₇ lymfocytů (Wang et al., 2017). Aktivované ILC2 produkují IL-4, IL-5, IL-9 a IL-13 (Helou et al., 2020), čímž podporují eozinofilní zánět (Kondo et al., 2008; Smith et al., 2016). ILC2 exprimují hodně kostimulačních molekul jako např. ICOS (Maazi et al., 2015), DR3, receptor pro TNF α a GITR (Helou et al., 2020). TSLP aktivuje dendritické buňky (Licari et al., 2019) a způsobí u nich expresi znaku OX40L, který nasměruje přeměnu T lymfocytu na typ Th₂ (Daňková, 2009). Dendritická buňka je antigen prezentující buňka, která pohltí a zpracuje daný antigen a následně na svém povrchu vystaví krátký peptid z daného antigenu spojený s MHC II molekulou. Na tento vystavený fragment antigenu se naváže naivní T lymfocyt, transformuje se na Th₂ lymfocyt, který je základem zánětu eozinofilního typu astmatu. Th₂ lymfocyt produkuje IL-4, IL-5 a IL-13. V prostředí IL-4 dochází k izotypovému přesmyku. Při alergické reakci dochází k degranulaci žírných buněk a bazofilů.

Podstatou Th₂ typu zánětu jsou eozinofily, jejichž počet zvyšuje IL-5 a produkty Th₂ lymfocytů (GM-CSF, VCAM, CC chemokiny, CXCL10) (Nakagome a Nagata, 2018).

IL-5 také zvyšuje přežívání eozinofilů (Peebes, 2019). Dále také neutrofilů zvyšují migraci eozinofilů přes membránu (Kikuchi et al., 2006) (při astmatu je zvýšen IL-8, který působí jako chemoatraktant pro neutrofilů (Nakagome a Nagata, 2018)). Hlavní roli v eozinofilní infiltraci dýchacích cest tedy hrají Th₂ lymfocyty a jejich produkty (Nakagome a Nagata, 2011).

Aby se eozinofily mohly kumulovat v dýchacích cestách, musí nejprve adherovat na endotelové buňky cév a poté touto buňkou prostoupit. Tento děj je regulován cytokiny a chemokiny produkovanými hlavně Th₂ lymfocyty (Nakagome a Nagata, 2011). K adhezi eozinofilů na endotelové buňky dochází díky VCAM-1, produkovanému buňkami hladké svaloviny a Th₂ lymfocyty, jehož exprese se zvyšuje v přítomnosti IL-4 a IL-13 (Nakagome a Nagata, 2018). Navázání eozinofilů na VCAM-1 způsobí tvorbu a uvolnění superoxidového radikálu z eozinofilů (Nagata et al., 1998). Po migraci eozinofilů přes endotelové buňky způsobí aktivaci eozinofilů GM-CSF. V *in vitro* pokusech způsobil GM-CSF, jež je produkovaný Th₂ lymfocyty, produkci superoxidového radikálu (Nakagome a Nagata, 2018).

Eozinofily produkují MBP, EPO, TGF- β , VEGF, FGF, angiogenin, ROS, cytokiny, GM-CSF a lipidové mediátory (CYS LT) (Kariyawasam et al., 2007; Nakagome a Nagata, 2018). MBP a EPO způsobují bronchokonstrikci a hyperreaktivitu dýchacích cest. MBP způsobuje bronchokonstrikci tím, že se váže na M2 muskarinové receptory na parasympatických nervech, což vede ke zvýšenému uvolňování acetylcholinu. Acetylcholin následně aktivuje M3 receptory způsobující bronchokonstrikci. MBP má také cytostimulační účinky na bazofily, neutrofilů a žírné buňky, což vede k šíření zánětu (Kariyawasam a Robinson, 2007).

Aktivované eozinofily jsou také zdrojem leukotrienu C4 (LTC₄) (Cowburn et al., 1998), z nějž po úpravách vznikají LTD₄ a LTE₄, které mají parakrinní účinky vedoucí k hyperprodukcii hlenu (Kariyawasam a Robinson, 2007). Dále také LTC₄ potencuje IL-33-indukovanou ILC2 proliferaci a produkci cytokinů (Lund et al., 2017). Eozinofily krom jiného produkují také SCF, což je faktor důležitý pro růst, aktivaci, chemotaxi a degranulaci mastocytů (Kariyawasam a Robinson, 2007).

3.2.2 Humorální složky

Základními interleukiny jsou IL-5, IL-4 a IL-13. IL-4 podporuje transformaci T naivních lymfocytů do Th₂ linie a indukuje expresi VCAM-1 (Peebes et al., 2019). Studie naznačují,

že IL-4 může také indukovat autofagii v Th₂ aktivovaných lymfocytech, dendritických buňkách a B lymfocytech (Sachdeva, 2019). IL-4 dále také podporuje myofibroblastický přechod fibroblastů (Saito et al., 2003). IL-13 podporuje nadměrnou expresi pohárkových buněk, nadbytečnou tvorbu hlenu a hyperreaktivitu dýchacích cest (Licar et al., 2019). IL-13 dále také indukuje expresi VCAM-1, stimuluje zrání B lymfocytů (Peebes et al., 2019), indukuje přeměnu fibroblastů na myofibroblasty, aktivuje produkci kolagenu a vede tedy k subepiteliální fibróze (Tagaya a Tamaoki, 2007). Dále má IL-13 schopnost indukovat tvorbu TGF-β1, který vede k fibróze (Kariyawasam a Robinson, 2007). IL-13 také aktivuje autofagii v epiteliálních buňkách (Sachdeva, 2013).

IL-18, jehož sekreci z epiteliálních buněk dýchacích cest indukuje jeden z hlavních venkovských alergenů *Alternaria alternata*, iniciuje odpověď typu Th₂ (Sachdeva, 2019), indukuje expresi ICAM-1 na myeloidních buňkách a také expresi VCAM-1 (Kaplanski, 2018).

IL-33 je hlavně syntetizován epiteliálními buňkami, endoteliálními buňkami a fibroblasty. Vazbou na ST2 receptor, jež se nachází hlavně na Th a Tc lymfocytech, eozinofilech, ILC2, makrofázích a žírných buňkách, podporuje produkci a sekreci cytokinů a růstových faktorů, které podporují lokální a systémovou imunitu (Peebes et al., 2019). IL-33 se po expozici organismu alergenu rychle uvolňuje do dýchacích cest. IL-33 opouští buňku, která jej produkuje dvěma mechanismy, pasivním uvolňováním a aktivní sekrecí (Morita et al., 2017). Pasivní uvolnění plného IL-33 z jádra nastává, když je buňka poškozena a podléhá nekróze. K aktivní sekreci IL-33 dochází, když se buňky setkávají s faktory, které způsobují buněčný stres. K uvolňování IL-33 dochází např. po expozici *Alternaria alternata* nebo roztočům (Peebes et al., 2019).

PGD2 produkovaný žírnými buňkami (Singh et al., 2017) se váže na receptory DP₁ a DP₂ (CRTH2). DP₁ receptor je exprimován na pohárkových buňkách, Th₂ lymfocytech, dendritických buňkách, bazofilech, eozinofilech a vaskulárním endotelu. Stimulace DP₁ aktivuje adenylátcyklázu, což vede ke zvýšení intracelulární aktivity cAMP a proteinkinázy A (Peebes et al., 2019). Receptor CRTH2 je exprimován na Th₂ lymfocytech, ILC2, eozinofilech a bazofilech (Singh et al., 2017). Vazbou na CRTH2 tento mediátor způsobuje chemotaxi buněk (Royer et al., 2007). Signalizace přes DP₂ receptor způsobuje také zvýšené vyplavování eozinofilů z kostní dřeně, zvyšuje jejich respirační vzplanutí a připravuje je k degranulaci.

Na rozdíl od signalizace přes DP₁ signalizace přes DP₂ snižuje intracelulární množství cAMP. PGD₂ také stimuluje ILC2 ke zvýšené sekreci IL-13 (Peebes et al., 2019).

Periostin je adhezní molekula vylučovaná plicními fibroblasty (Takayama et al., 2006) a epiteliálními buňkami dýchacích cest (Song et al., 2015). Vylučování periostinu se zvyšuje v reakci na IL-4 a IL-13, protože gen POSTN, který kóduje periostin, je indukovatelný IL-4 a IL-13 (Takayama et al., 2006).

Periostin se váže na buňky včetně eozinofilů, aktivuje je a způsobí tvorbu a uvolňování superoxidového radikálu (Nakagome a Nagata, 2018). Periostin také ovlivňuje remodelaci tkáně, subepiteliální fibrózu a regeneraci (Sonnenberg-Riethmacher et al., 2021). Periostin dále indukuje signalizaci TGF- β , která může dále podporovat ukládání extracelulární matrix a remodelaci dýchacích cest (Sidhu et al., 2010).

3.3 Patogeneze neozinofilního astmatu

Neeozinofilní zánět může být neutrofilní nebo paucygranulocytární, přesné imunologické mechanismy ovšem nejsou stoprocentně známy (Thomson, 2016). Neutrofilní zánět je často spojen s kouřením, pokročilým věkem, virovými a přetrvávajícími bakteriálními infekcemi, polutanty, obezitou a pracovní expozicí (Hinks et al., 2021; Kyriakopoulos et al., 2021). Kortikosteroidy inhibují apoptózu neutrofilů, čímž tento zánět prodlužují (Pelaia et al., 2015).

3.3.1 Buněčná imunita u neozinofilního AB

Neutrofilní zánět dýchacích cest je také spojen s kolonizací dýchacích cest bakteriemi včetně *Haemophilus influenzae* a *Moraxella catarrhalis*, které indukují Th₁₇ typ odpovědi (Hynes a Hinks, 2020) a se sníženou mikrobiální diverzitou a dominancí jediného patogenu dýchacích cest (Taylor et al., 2018).

Th₁₇ lymfocyty se účastní antimikrobiální ochrany proti bakteriálním a plísňovým infekcím, proto prezentace jejich antigenu způsobí diferenciaci naivních T lymfocytů na Th₁₇ lymfocyty. Pro tuto diferenciaci je také nutné správné kostimulační cytokinové prostředí (např. IL-6, IL-21, TGF- β) vylučované buňkou prezentující antigen (Absolonová et al., 2021, Hynes a Hinks, 2020). Th₁₇ buňky migrují do subepiteliálního prostoru, kde po rozpoznání antigenu začnou uvolňovat IL-17 (Hynes a Hinks, 2020). Díky IL-17, který se naváže na svůj receptor na povrchu epiteliálních

buněk dýchacích cest, začnou tyto buňky uvolňovat IL-8 (CXCL8), CXCL5, CXCL1 a CCL2, jež jsou chemoatraktanty pro neutrofilů (Hynes a Hinks, 2020, Newcomb a Peebles, 2013).

Neutrofilů jsou zdroj volných radikálů a enzymů a mají schopnost aktivovat další buňky. Neutrofilů mohou způsobovat hyperplázii hlenových žlázek, hypersekreci hlenu a hyperreaktivitu dýchacích cest (Thomson, 2016).

Neutrofilní AB je také spojeno s přehnanou reakcí na oxidační stres, který vzniká kouřením nebo díky ROS ze zánětlivých buněk (Hinks et al., 2021). Důležitými biomarkery zvýšených neutrofilů jsou myeloperoxidáza a neutrofilní elastáza (Kyriakopoulos et al., 2021).

3.3.2 Humorální složky imunity u neozinofilního AB

Roli v aktivaci Th₁₇ lymfocytů hrají receptory Toll-like (TLR) (Esteban-gorgojo et al., 2018) a NLRP3. Oba receptory jsou aktivované signály s patogenem asociovanými molekulární vzory (PAMP) a molekulárními vzory spojenými s nebezpečím (DAMP). NLRP3 je také aktivován sérovým amyloidním proteinem A, který vzniká při vystavení epitelálních buněk dýchacích cest mikrobům. PAMP se nacházejí na mikrobech a virech, DAMP vznikají při poškození epitelu dýchacích cest např. oxidativním stresem, kouřením nebo znečišťujícími látkami ve vzduchu. TLR aktivuje transkripční faktor NF- κ B, který indukuje expresi pro-IL-1 a pro-IL-8. Aktivace NLRP3 aktivuje kaspázu 1, která štěpí pro-IL-1 a pro-IL-8 na aktivní formy (Pelaia et al., 2015).

Th₁ lymfocyty produkují INF- γ a TNF- β , Th₁₇ lymfocyty produkují cytokiny CXCL1, CXCL10, CCL2, IL-6 a IL-8. TNF- α je vylučován lymfocyty, žírnými buňkami a makrofágy a podporuje průduškovou hyperreaktivitu (Kyriakopoulos et al., 2021).

Hyperplázii pohárkových buněk, nadprodukcii hlenu, remodelaci dýchacích cest a proliferaci a kontrakci buněk hladkého svalstva dýchacích cest ovlivňují také kromě neutrofilů IL-17A (Kyriakopoulos et al., 2021, Hynes et al., 2020) a IL-6 (Carr et al., 2018).

IL-17 produkují kromě Th₁₇ lymfocytů také cytotoxické T lymfocyty, NK buňky a vrozené lymfoidní buňky typu 3 (ILC3). ILC3 potřebují ke své aktivaci transkripční faktor ROR γ , za jehož zvýšenou expresi jsou zodpovědné cytokiny IL-1, IL-6 a TGF- α (Pelaia et al., 2015).

4. Astma bronchiale v dětském věku

AB je heterogenní onemocnění, které je obvykle charakterizované chronickým zánětem dýchacích cest a anamnézou respiračních příznaků (pískání, dušnost, tlak na hrudi a kašel), které se mění v čase a v intenzitě (GINA, 2021). Kojenci jsou nejvíce náchylní na rozvoj astmatu, protože v tomto období probíhá intenzivní vývoj imunitního systému, který ještě nefunguje tak dobře jako v pozdějším věku, a vývoj dýchacích cest, které jsou v tomto období velmi úzké, tudíž velmi náchylné k obstrukci (Holt et al., 2005). Klíčovým spouštěčem rozvoje dětského astmatu jsou respirační virové infekce, protože malé děti nemají plně funkční Th₁ typ imunitní odpovědi, dalším významným kofaktorem je stupeň vývoje a funkce plic a dále také alergie (Holtgate, 2015). Příznaky i proces remodelace je u dětí i dospělých stejný, stejně jako patogeneze s tím, že u dětí se vyskytuje převážně eozinofilní AB. U dětí je ovšem častěji nutná hospitalizace kvůli astmatu oproti dospělým astmatikům (Fitzpatrick et al., 2012). Exacerbace astmatu jsou nejčastější u malých dětí, jejich četnost s věkem klesá (Szeffler et al., 2014).

Mezi symptomy dětského AB patří neustálý kašel, noční kašel, sípání a pískání, potíže s dýcháním nebo dušnost, tlak na hrudi a únava (<https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/asthma/asthma-in-children>) a dále také záchvaty kašle při pohybové aktivitě, na studeném vzduchu, při smíchu nebo při pláči, zrychlené dýchání a u kojenců chrčení při jídle (<https://www.webmd.com/asthma/children-asthma>). 75 % pacientů má koexistující atopii (Toskala a Kennedy, 2015).

4.1 Rizikové faktory pro vznik astma bronchiale

Rizikové faktory jsou vlivy, které výrazně zvyšují riziko rozvoje onemocnění astma bronchiale.

4.1.1 Složení mikrobiomu

Rozvoj astmatu je kromě enviromentálních, dalších exogenních faktorů a genetickou predispozicí ovlivněn i mikrobiomem, a to jak mikrobiomem dýchacích cest, tak mikrobiomem střevním (Hufnagl et al., 2020). Ve studiích, které využívaly molekulární techniky a nebyly tudíž závislé na nutnosti dané mikroorganismy vykultivovat v laboratorních podmínkách, se prokázalo, že v dolních dýchacích cestách je přítomná různorodá, bohatá bakteriální komunita,

kteřá je přítomná v malém množství (Yagi et al., 2021). Mezi hlavní bakteriální kulturu ve zdravých plicích patří kmeny *Bacteroidetes* a to hlavně rody *Prevotella* a *Veilonella* spp., kmeny *Actinobacteria* a *Firmicutes* (Logotheti et al., 2021) a dále v menší míře kmeny *Proteobacteria* a *Actinobacteria* a *Fusobacteria* (Loverdos et al., 2019). Mikrobiota plic se nejvíce podobá mikrobiotě úst, jelikož to je její primární zdroj. Oproti ústnímu mikrobiomu je ten plicní ovšem ve velmi malém množství obohacen o *Tropherynema Whipplei*, což naznačuje místně specifickou reprodukci a selektivní růst (Dickson et al., 2016). Mikrobiota střev a plic se skládá z mikroorganismů, které do těla vstupují přes ústní dutinu (ne přes nosní) (Durack et al., 2018). Bakterie kolonizující střevo přijímáme spolu s potravou, bakterie, které putují do plic jsou suspendované ve vzduchu a na mikročásticích sekretu slin. Rovnováha plicní mikroflóry je udržována imigrací mikroorganismů z ústní dutiny pomocí mikroaspirace a inhalace a eliminací mikroorganismů mukociliárními pohyby, kašlem a imunitními buňkami. Během onemocnění dýchacích cest je narušena rovnováha mezi imigrací a eliminací (Mathieu et al., 2018).

Gastrointestinální trakt má nejhojnější mikrobiální ekosystém v těle a velkém množství studií je spojována dysbióza střevní mikroflóry se širokou škálou onemocnění od střevních zánětů, přes duševní poruchy a rakoviny až po alergie a astma. To vše, protože se střevní mikrobiom ve velké míře účastní imunitního tréninku. Střevo je úzce spojeno se střevní lymfoidní tkání, a proto jeho mikrobiom nemá pouze lokální dosah, ale souvisí i se vzdálenými místy, a to včetně sliznice dýchacího traktu (Logotheti et al., 2021).

Studie prokázaly vliv mikrobiomu na regulaci imunitních funkcí. Např. studie na myších prokázala, že *Bacteroides fragilis* ovlivňuje rovnováhu mezi Th₁ a Th₂ lymfocyty (Mazmanian et al., 2005). Dále *Bacteroides fragilis* řídí vývoj regulačních T lymfocytů, zvyšuje jejich supresivní kapacitu a indukuje produkci protizánětlivých cytokinů. *B. fragilis* zprostředkovává konverzi z CD4⁺ T lymfocytů na Foxp3⁺ Treg lymfocyty, které produkují IL-10 (Round a Mazmanian, 2010). *Clostridium leptum* a *coccoides* aktivují epiteliální buňky tlustého střeva k produkci TGF-β, čímž ovlivňují produkci a funkci Foxp3⁺ Treg (Atarashi et al., 2011).

Studie na myších ukázaly, že nedostatek iTreg lymfocytů (indukované Treg lymfocyty transformované z naivních CD4⁺ lymfocytů u kterých byla vyvolána exprese Foxp3) u myší vyvolal spontánní rozvoj patologie Th₂ charakterizovaný zvýšeným počtem lymfocytů Th₂ a jejich cytokinů. Treg jsou subpopulací T lymfocytů, které modulují aktivitu imunitního systému,

udržují toleranci k vlastním antigenům a zabraňují rozvoji autoimunitního onemocnění. Regulační T lymfocyty jsou také nutné k navození a udržení orální tolerance (Fрати et al., 2019).

Dále také mikrobiota lidského gastrointestinálního traktu fermentuje vlákninu a jako její metabolity produkuje mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA) jako butyrát, propionát a acetát (Loverdos et al., 2019). Mezi producenty SCFA patří *Clostraceae*, *Lachnospiraceae* a *Ruminococcaceae* (Cait et al., 2018). SCFA zeslabují aktivaci dendritických buněk a zeslabují expresi jejich kostimulačních molekul CD80 a CD86. Studie také ukazují, že butyrát snižuje migraci dendritických buněk vyvolanou CCL19 (Cait et al., 2018).

Při astmatu dochází k dysbióze mikrobiomu dýchacího traktu (mikrobiální nerovnováze) a snížené mikrobiální diverzitě, což vede k přecitlivělosti na alergeny (Hufnagl et al., 2020). U AB je pozorované relativní zvýšení výskytu kmene *Proteobacteria*. A to zejména rodů *Haemophilus* a *Neisseria* (Hilty et al., 2010), ale mohou být zapojené i jiné patogenní rody kmene *Proteobacteria* jako *Moraxella*, *Pseudomonas* (Green et al., 2014) a čeleď *Enterobacteriaceae* (hlavně *Klebsiella*) (Huang a Boushey, 2015). Naopak běžní respirační komenzálové jako *Prevotella* a *Veillonella* bývají relativně sníženy (Loverdos et al., 2019). Relativní zvýšení rodů *Haemophilus* a *Moraxella* je spojováno s těžkou neutrofilii dýchacích cest. Autoři zároveň prokázali, že *Haemophilus influenzae* byl schopen aktivovat Toll-like receptory 4, což vedlo k transkripci prozánětlivých faktorů jako je IL-8 (Hufnagl et al., 2020).

Mikrobiom v dětství

Mikrobiom v dětství souvisí s několika faktory jako je porod císařským řezem, užívání antibiotik během novorozeneckého období, kojení a rozmanitost mikrobů v okolním prostředí (Hufnagl et al., 2020). Většina studií naznačuje, že k první kolonizaci střevního traktu novorozence dochází během porodu díky kontaktu s mikroorganismy matky (Barko et al., 2018). Předpokládá se, že porod císařským řezem může přispět ke střevní dysbióze kojence kvůli nedostatečné expozici mateřským vaginálním a fekálním bakteriím (Kim et al., 2019). U novorozenců narozených přirozenou cestou převládají ve střevním mikrobiomu *Lactobacillus spp.* (Dominguez-Bello et al., 2010) a *Bifidobacterium spp.* (Biasucci et al., 2010), což odpovídá bakteriálnímu osídlení porodních cest. Naopak novorozenci narození císařským řezem mají střeva osídlená hlavně mikroby nacházejícími se na kůži, a to s převažujícím rodem *Staphylococcus* (Dominguez-Bello et al., 2010). Navíc studie naznačují, že děti narozené

císařským řezem mají ve svém střevním mikrobiomu vyšší procentuální zastoupení *Clostridium difficile* a *E. coli* (Penders et al., 2006). Studie na myších ukázala, že myši narozené císařským řezem měly snížený počet regulačních T lymfocytů a downregulovaný počet regulačních markerů Foxp3 (Hansen et al., 2014).

Užívání antibiotik v kojeneckém věku tedy koreluje se zvýšeným rizikem vzniku astmatu, jelikož nižší bakteriální diverzita mikrobiomu zvyšuje riziko vzniku AB (Hufnagl et al., 2020). Dále má významný vliv na vývoj mikrobiomu u novorozenců a kojenců kojení. Lidské mateřské mléko je komplexní tekutina, která obsahuje celou řadu biologicky aktivních složek včetně imunoglobulinů, mastných kyselin, hormonů a cytokinů (Kim et al., 2019). Kojené děti mají oproti dětem krmeným umělou výživou zvýšenou schopnost cíleně reagovat na potenciální patogeny. Kojené děti mají v raném věku méně infekcí dýchacích cest, což může také přispět k prevenci proti rozvoji AB, protože infekce dolních cest dýchacích jsou prokázaným rizikovým faktorem vzniku AB (Miliku a Azad, 2018). Mateřské mléko má vlastní mikrobiom, který obsahuje na 200 různých bakterií včetně *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* (Collado et al., 2009). Bylo prokázáno, že tyto komenzálové dokáží zabránit kolonizaci a růstu patologických bakterií. Mateřské mléko také obsahuje probiotické galakto-oligosacharidy (Moossavi et al., 2018), které vykazují bifidogenní účinky ve střevě kojenců. Dále mateřské mléko obsahuje také nukleotidy, IgA a antimikrobiální látky jako laktoferin, které modulují složení střevní mikroflóry kojence (Oddy, 2017). Kojení novorozenci měli ve studiích ve věku jednoho měsíce střeva kolonizována hlavně *Bifidobacterium*, zatímco novorozenci, kteří byli krmeni umělou stravou měli střeva kolonizována hlavně *E. coli*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis* a *Lactobacillus* (Penders et al., 2006). Obecně platí, že kojenci krmení umělou výživou mají nižší bakteriální diverzitu střevní mikroflóry než kojené děti (Oddy, 2017). Dále bylo také prokázáno, že kojení podporuje růst plic a zlepšuje plicní funkce a zvyšuje plicní objem, což je přikládáno mechanickému stimulu sání z prsu v raném věku (Ogbuanu et al., 2009; Miliku a Azad, 2018). Kojení má tedy několik protektivních účinků proti rozvoji astmatu u dětí.

Teorie hygieny zkoumá vliv expozice mikrobiálně a alergenně bohatému prostředí v kojeneckém věku na rozvoj mikrobiomu (Huang a Boushey, 2015). Podle teorie hygieny má nižší úroveň expozice mikrobům a alergenům ve městech oproti venkovským oblastem vliv na vyšší procentuální pravděpodobnost rozvoje astmatu (Huang a Boushey, 2015; Mathieu et al., 2018).

Bylo prokázáno, že nižší bakteriální diverzita střevního a plicního mikrobiomu zvyšuje riziko vzniku astmatu (Huang a Boushey, 2015, Hufnagl et al., 2020). Další studie ukazují, že kolonizace střev druhem *Clostridium difficile* v prvním měsíci života koreluje se vznikem AB v nízkém školním věku (Hufnagl et al., 2020). Osídlení nosohltanu novorozenců druhy *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae* a *Neisseria* zvyšuje riziko vzniku AB (Hilty et al., 2010; Frati et al., 2019).

Chun a kolektiv (2020) ve své nedávné studii prokázali, že *Moraxella*, *Alloiococcus* a *Corynebacterium* se nachází v nosním mikrobiomu jak zdravých dětí, tak dětí s těžkým astmatem, ale v jiném poměrovém zastoupení a zásadní roli tedy hraje vzájemná dynamika mezi rody a jejich relativní zastoupení. Dále také prokázali, že *Streptococcus* byl velmi často v hojném zastoupení u dětí s těžkým AB. Výsledky jejich studie také naznačují, že *Corynebacterium* v nosním mikrobiomu hraje protektivní roli, která je ovšem u astmatických dětí narušena a není tak účinná. Podobně protektivně se zdá, že působí rod *Actinomyces* v bronchiálním mikrobiomu.

4.1.2 Vztah předčasného porodu s rozvojem astma bronchiale

Novorozenci narození předčasně jsou vystaveni hned několika rizikovým faktorům. Během posledního trimestru je imunitní systém plodu vystaven vlastním a mateřským antigenům, které by měly být tolerovány (Humberg et al., 2020) a zároveň enviromentálním antigenům, které jsou přes placentu přenášeny do krevního řečiště plodu a do plodové vody, které se imunitní systém musí naučit rozpoznávat jako cizí. Při předčasném porodu je tedy toto období imunitního vyzrání výrazně zkráceno. V posledním trimestru jsou také plodu předávány mateřské protilátky, které mají dítě po porodu chránit před patogeny. U předčasně narozených dětí s nízkou porodní váhou dosahuje koncentrace mateřských protilátek jen asi 20 % oproti novorozencům narozeným v termínu (Goedicke-Fritz et al., 2017). Předčasně narozené děti mohou mít také méně funkční Treg lymfocyty (Humberg et al., 2020).

Dále také je sliznice gastrointestinálního traktu předčasně narozených dětí propustná pro makromolekuly včetně bakterií, a tudíž se bakterie z tvořícího se mikrobiomu mohou dostat do lymfatických uzlin a krevního řečiště, což zvyšuje riziko infekce (Maseshwari et al., 2006).

Předčasně narozené děti jsou také vystaveny intenzivní lékařské péči, která způsobuje stres, jež vedou k dysregulaci imunitních odpovědí (Goedicke-Fritz et al., 2017). Dále také s nedonošeností souvisí chronické plicní onemocnění, potřeba umělé plicní ventilace a užívání kortikosteroidů, které jsou rovněž spojovány s rozvojem astmatu (Medsker et al., 2015). Dalšími rizikovými faktory, kterým jsou předčasně narozené děti vystaveny, je užívání antibiotik a virové infekce, kterými trpí více než novorozenci narození ve správném termínu. Rizikové jsou hlavně virové infekce způsobené lidským respiračním syncytiálním virem a rinoviry, které jsou spojené se zvýšeným rizikem vzniku AB (Goedicke-Fritz et al., 2017). Sonnenschein s kolegy (2014) ve své studii prokázal velmi zvýšené riziko rozvoje astmatu u předčasně narozených dětí a dále také zvýšené riziko u dětí s velmi malou porodní váhou a následným rychlým přírůstkem váhy. V Zhangově (2018) (detailně viz 6.5) studii bylo prokázáno, že předčasně narozené děti mají 1,64x vyšší pravděpodobnost rozvoje AB než děti narozené ve správném termínu a děti s velmi nízkou porodní váhou mají 1,43x vyšší pravděpodobnost rozvoje astmatu.

4.1.3 Nedostatek vitamínu D

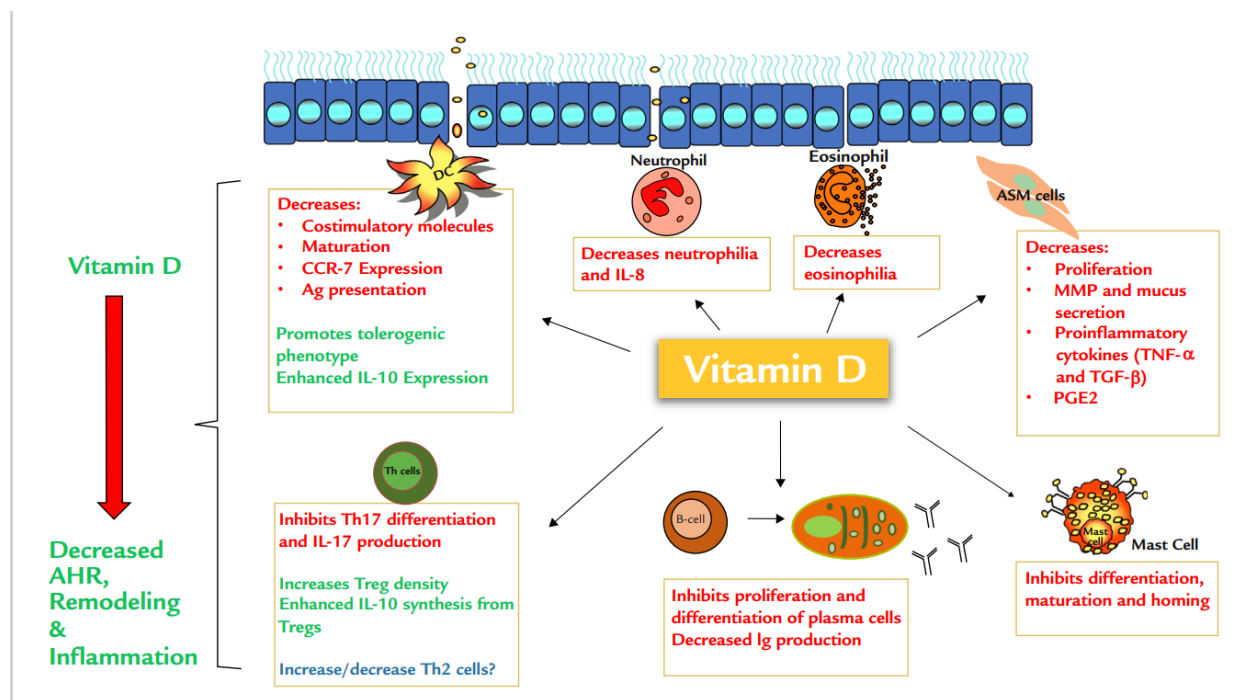
Vitamín D je v játrech metabolizován a následně je jeho metabolit 25-hydroxyvitamín D v ledvinách přeměněn na 1,25-hydroxyvitamín D (1,25-(OH)-D). 1,25-(OH)-D působí prostřednictvím receptoru vitamínu D, který se nachází ve většině tkání a na imunitních buňkách (Murdaca et al., 2021). Vitamín D působí tedy na buňky vrozeného i adaptivního imunitního systému a také na strukturální buňky dýchacích cest, přičemž jeho nedostatek podporuje zánět a suplementace zmírňuje tyto projevy (Hall a Agraval, 2015).

Receptor pro vitamín D má klíčovou roli v modulaci imunitní odpovědi, protože je exprimován v CD4+ a CD8+ T lymfocytech, B lymfocytech, neutrofilech a antigen prezentujících buňkách a udržuje rovnováhu mezi prozánětlivým a protizánětlivým stavem. Vitamin D stimuluje produkci receptorů pro rozpoznávání patogenních vzorů, antimikrobiálních peptidů a cytokinů. Myši s dostatkem vitamínu D měly v prováděné studii vyšší koncentrace Treg lymfocytů oproti myším s vitamínovým deficitem (Murdaca et al., 2021). Vitamín D také reguluje expresi genu Klotho (Berridge, 2015), který působí proti stárnutí buněk (Murdaca et al., 2021).

Zosky a kolegové (2011) prokázali na myších, že nedostatek vitamínu D během prenatalního a brzkého postnatalního vývoje zapříčinil menší velikost a objem plic.

Nízké sérové hladiny vitamínu D u dětí jsou spojené se zvýšeným rizikem vzniku AB (Hall a Agrawal, 2015), horšími symptomy, léčbou a kontrolou astmatu, s nárůstem buněk hladké svaloviny dýchacích cest a zhoršenou funkcí plic (Gupta et al., 2011). Nízký příjem vitamínu D během těhotenství je spojen s vyšším rizikem projevů sípání u potomka (Hall a Agrawal, 2015).

Vitamín D zmírňuje zánět spojený s astmatem. V buňkách svalstva dýchacích cest vitamín D snižuje proliferaci, produkci prozánětlivých cytokinů, v dendritických buňkách snižuje expresi a prezentaci antigenu a zvyšuje produkci IL-4. U T lymfocytů vitamín D posouvá diferenciaci k Treg, U B lymfocytů snižuje vitamín D produkci protilátek, u žírných buněk inhibuje diferenciaci a degranulaci (Hall a Agrawal, 2017). (viz Obr. 4)



Obrázek 4 Imunomodulační vlivy vitamínu D na buňky imunitního systému, které se účastní astmatu. Převzato z: HALL a AGRAWAL, 2017

4.1.4 Polutanty v životním prostředí

Studie dokazují, že expozice látkám znečišťujícím prostředí, a to hlavně PM_{2,5} v raném dětství zvyšuje riziko pozdějšího rozvoje AB a alergických onemocnění u dětí (Bowatte et al.,

2015). Jung a kolegové (2019) také dokázali, že kromě expozice polutantům v raném dětství je výrazně zvýšené riziko rozvoje AB u dětí, jež byly látkám znečišťujícím prostředí vystaveny prenatálně (detailní popis studie viz 6.1). Dalším významným rizikovým faktorem je také pasivní kouření, také kouření v těhotenství výrazně zvyšuje riziko rozvoje AB u daného potomka (Tiotiu et al., 2020) (viz další text), dále je riziková také expozice oxidu dusičitému a ozonu (D'Amato et al., 2018).

PM je směs pevných a kapalných částic různé velikosti a složení (D'Amato et al., 2018). Dle velikosti je dělíme na ultrajemné s velikostí do 0,1 μ m (PM_{0,1}), jemné s velikostí od 0,1 μ m do 2,5 μ m (PM_{2,5}) a hrubé s velikostí od 2,5 μ m do 10 μ m (PM₁₀) (Tiotiu et al., 2020). PM_{0,1} se hromadí a tvoří částice PM_{2,5} a PM_{2,5} se dále hromadí a tvoří částice PM₁₀. PM₁₀ proniká do dolních dýchacích cest, PM_{2,5} může proniknout až do alveol (D'Amato et al., 2018) a PM_{0,1} jsou schopny procházet přes buněčné membrány a interagovat přímo s buněčnými strukturami. PM vyvolává oxidační stres, protože látky na povrchu částic jako je železo nebo chinony se redukují a tím vyvolávají tvorbu ROS, a dále také vyvolává zánět a vede k apoptóze a autofagii plicních epitelálních buněk. PM_{2,5} indukuje remodelaci dýchacích cest (Tiotiu et al., 2020).

Ozon je kyslíkový radikál, jehož inhalace vyvolává poškození buněk epitelu a zánětlivé reakce v horních a dolních dýchacích cestách a zvyšuje hyperreaktivitu dýchacích cest. NO₂ je také oxidační znečišťující látka, která způsobuje sípání a dále spolu se slunečním zářením vede k produkci ozonu (D'Amato et al., 2018). Epiteliální buňky dýchacích cest po vystavení NO₂ zvyšují produkci ICAM-1. Dle studie mají děti vystavené vysokým koncentracím NO₂ 1,25x vyšší pravděpodobnost rozvoje astmatu (Tiotiu et al., 2020). Knibbs s kolegy (2018) ve své studii také uvádí, že expozice NO₂ v dětském věku je krom zvýšeného rizika AB spojena také se zhoršenou funkcí a zdravím dýchacích cest. Expozice oxidačním látkám dále způsobuje dysfunkci epitelu dýchacích cest a zvýšenou produkci IL-8 (Heijink et al., 2014).

Poškození sliznice dýchacích cest polutanty usnadňuje vdechovaným alergenům kontakt s buňkami imunitního systému (D'Amato et al., 2018), čímž dochází ke snadnější senzibilizaci a zvýšené citlivosti na alergeny. Dále také expozice polutantům navozuje metylaci genů pro Foxp3, čímž se snižuje jeho exprese, což snižuje funkčnost regulačních T lymfocytů (Rider a Carlesten, 2019).

4.1.5 Vliv pasivního kouření

Tabákový kouř je směs obsahující více než 7000 chemikálií, z nichž je nejméně 250 škodlivých a minimálně 69 karcinogenních (Tiotiu et al., 2020).

Kouření je spojeno se zrychleným poklesem plicních funkcí u astmatiků, zhoršenou kontrolou astmatu a sníženou citlivostí na léčbu (Tamimi et al., 2012). Významné negativní dopady na průběh a rozvoj AB dětí i dospělých má také pasivní kouření (Polosa a Thomson, 2013).

Expozice cigaretovému kouři vyvolává aditivní nebo synergické účinky na zánět a remodelaci dýchacích cest při astmatu. A to díky zvýšené koncentraci MMP-12, která se podílí na tkáňových destruktivních procesech během remodelace, a jejíž koncentrace ve sputu je u kuřáků prokazatelně vyšší než u nekuřáků (Chaudhuri et al., 2013; Tiotiu et al., 2020) a podobné to pravděpodobně je i u pasivních kuřáků. Dále se tohoto procesu účastní také radikály a silné oxidanty, kterých je cigaretový kouř zdrojem, a jež vyvolávají oxidační stres a nežádoucí účinky ve tkáních (Wang et al., 2020). Polyaromatické uhlovodíky, které se v cigaretovém kouři nacházejí, mají schopnost vyvolávat alergické imunitní reakce a posilovat zánět typu Th₂ (Polosa a Thomson, 2013).

Expozice tabáku *in utero* je spojena se zvýšeným rizikem rozvoje AB, pískotů, hyperreaktivity dýchacích cest a sníženou funkcí plic u dětí, což se projevuje nejvíce do druhého roku života (Lødrup et al., 1997; Banderali et al., 2015). Výzkum uvádí, že prenatální a postnatální pasivní kouření zvyšuje riziko vzniku AB u malých dětí až o 85 % (Burke et al., 2012). V období organogeneze (zvláště morfogeneze plic co se astmatu týče) je plod velmi náchylný na působení toxických vlivů, protože ještě nemá plně vyvinutou antioxidační a imunitní ochranu (Rosa et al., 2018).

Kouření v těhotenství způsobuje snížené dodávky kyslíku a živin plodu, což vede k nedostatečnému vývoji a abnormální struktuře plic. Dále také dochází ke změnám v imunitní odpovědi a abnormálním buněčným funkcím buněk epitelu a mezenchymu, což má za následek remodelaci a hyperreaktivitu dýchacích cest (Wang et al., 2020). Radikály a silné oxidanty z cigaretového kouře také zvyšují oxidační stres u plodu, a to může narušovat vývoj plic (Banderali et al., 2015).

4.1.6 Vliv stresu na rozvoj astma bronchiale

Prenatální a postnatální psychický stres zvyšují riziko rozvoje respiračních onemocnění včetně astmatu (Rosa et al., 2018). Studie prokázala, že děti matek, které v těhotenství (hlavně ve třetím trimestru) trpěly úzkostí, mají vyšší riziko rozvoje AB (Cookson et al., 2009). Lim s kolegy (2014) na myších otestovali, že stres matky během těhotenství může u potomka vyvolat AB, a to přes stresový hormon kortikosteron, který může přecházet přes placentu do těla plodu (detaily viz 6.2).

Psychický stres vyvolává sekreci stresových hormonů, mezi něž patří adrenalin, norepinefrin, glukokortikoidy (kortikosteron) a vyvolává uvolňování acetylcholinu (Ohno, 2017). Kortikosteroidy inhibují produkci IL-12 v monocytech, což má za následek zvýšenou schopnost syntézy IL-4 v T lymfocytech a zvýšenou diferenciaci na Th₂ lymfocyty. Zvyšuje se tedy tvorba cytokinů Th₂ lymfocytů, které podporují a zesilují alergické onemocnění a výrazně se snižuje syntéza cytokinů Th₁ lymfocytů (Blotta et al., 1997; Elenkov, 2004). Acetylcholin vyvolává bronchokonstrikci, sekreci hlenu a reguluje přestavbu dýchacích cest působením na muskarinový receptor M3 (Kistemaker a Gosens, 2015). Působení epinefrinu na dendritické buňky způsobí diferenciaci T lymfocytů na fenotyp Th₂ a Th₁₇ po vystavení patogennímu stimulu (Kim a Jones, 2010). Bylo také zjištěno, že psychický stres způsobuje pokles CD4⁺ Foxp3⁺ Treg lymfocytů (Freier et al., 2010).

Chida s kolegy (2007) ve své studii potvrdili, že stres zhoršuje průběh astmatu. Tento výzkum prováděli na myších, kdy myši stimulované ovalbuminem a následně vystavené stresu měly výrazně zvýšený počet mononukleárních buněk a eozinofilů a zvýšenou hyperreaktivitu dýchacích cest oproti kontrolním myším.

V Portoriku bylo také zkoumáno spojení mezi stresem, epigenetickými a genetickými změnami a astmatem. Konkrétně změny methylace v místě CpG v promotoru genu kódujícím receptor pro adenylát-cyklázu aktivující polypeptid 1. Změny v tomto úseku genu jsou spojovány s posttraumatickou stresovou poruchou u dospělých a úzkostmi u dětí. Bylo prokázáno, že děti, které byly vystavené násilí, měly tento promotor více methylovaný, a také bylo dokázáno, že zvýšená methylace v tomto místě znamená zvýšenou pravděpodobnost rozvoje AB (Chen et al., 2013).

4.1.7 Vliv kvality výživy a obezita

Obezita většinou souvisí s typem a množstvím konzumované stravy, a proto se vědci ve svých výzkumech zaměřili jak na vztah mezi obezitou a rozvojem astmatu, tak na souvislost mezi výživou a rozvojem AB.

Obezita

Metaanalýza provedená Beutherem a Sutherlandem (2007) ukázala, že obézní jedinci nebo jedinci s nadváhou mají v průměru o 50 % vyšší šanci rozvoje AB než jedinci se zdravou váhou. Dále také ukázala, že s dále se zvyšující tělesnou hmotností dále roste riziko vzniku AB. Hasegawa s kolegy (2014) pak prokázal, že obézní dospělí mají daleko vyšší riziko hospitalizace z důvodu astmatu oproti astmatikům se zdravou váhou. Okubo s kolegy (2017) dokázal, že toto platí také u dětí a dále, že obézní děti mají v průměru oproti dětem s normální hmotností delší dobu hospitalizace a vyšší riziko nutnosti použití umělé plicní ventilace (Okubo et al., 2016). Nadváha a obezita souvisí se zhoršenými plicními funkcemi jak u dospělých tak u dětí. Obézní dospělí měli ve studii snížené hodnoty FEV1 a FVC a obézní děti měly snížený poměr FEV1/FVC (Forno et al., 2018).

Japonská studie prokázala, že zvýšené riziko rozvoje AB jako důsledek obezity, se týká již předškolních dětí (Okabe et al., 2012) a Flaherman (2006) ve své metaanalýze uvedl, že zvýšenému riziku rozvoje AB v budoucnu jsou vystavené také děti s vysokou porodní hmotností. Obecně obézní děti či děti s nadváhou mají vyšší riziko rozvoje astmatu asi o 60 %. Ovšem jsou velké rozdíly v závislosti na pohlaví. U obézních chlapců je riziko rozvoje AB dvojnásobné, zatímco u obézních dívek je jen 1,26x vyšší (Gilliland, 2003). Tento rozdíl v riziku rozvoje astmatu kvůli obezitě v závislosti na pohlaví potvrdil ve svém výzkumu také Mannino s kolegy (2006). Dle Ho a kolegů (2011) v dospívání mají naopak obézní dívky daleko vyšší riziko rozvoje AB než obézní chlapci.

Forno s kolegy (2014) se ve své metaanalýze zabýval spojením mezi obezitou matky během těhotenství a dětským astmatem. Výsledky ukázaly, že jak obezita matky během těhotenství (konkrétně každé zvýšení BMI matky o $1\text{kg}/\text{m}^2$ bylo spojeno s 2 – 3% zvýšením rizika rozvoje dětského AB pro potomka), tak zvýšený gestační přírůstek na váze matky jsou spojeny se zvýšeným rizikem rozvoje dětského astmatu u potomka. V další studii byla zkoumána souvislost mezi obezitou matky a podtypy astmatu. Asociace byly pozorovány pouze u dětí, u nichž došlo

k rozvoji AB před dvanáctým rokem života a to takové, že u chlapců se rozvíjelo hlavně nealergické astma, zatímco u dívek se rozvíjelo naopak alergické astma (Dumas et al., 2016).

Byly také zkoumány možné mechanismy, kterými obezita na rozvoj astmatu působí. Bylo vyzkoumáno, že hladiny malondialdehydu, karbonylových sloučenin, NO a superoxidových aniontů jsou v krvi obézní matky zvýšené zároveň se sníženou hladinou glutathionu a sníženou aktivitou superoxidové dismutázy. Zároveň byla pozorována redoxní dysbalance v placentě a v tělech novorozenců těchto matek, což ukazuje na významný oxidační stres (Malti et al., 2014). Dále prenatální expozice mateřské obezitě mění expresi genů zapojených do mitochondriálního a lipidového metabolismu, což se projeví geneticky naprogramovanými rozdíly v oxidativním a lipidovém metabolismu, a tedy predispozicí k obezitě a oxidativnímu stresu. (Costa et al., 2016). Obezita také zvyšuje náchylnost expozici PM_{2,5} a NO₂. Obézní děti měly po expozici těmto látkám více příznaků oproti dětem s normální hmotností (Lu et al., 2013).

Kvalita výživy

Bylo zjištěno, že konzumace jídla s vysokým obsahem tuku zvyšuje procentuální zastoupení neutrofilů ve sputu, a tudíž zhoršuje neutrofilní zánět dýchacích cest. Záleží také na typu tuku. Strava s vysokým obsahem trans mastných kyselin zvyšuje % neutrofilů výrazně více než strava s nízkým obsahem trans mastných kyselin (Wood et al., 2011).

Podobný pokus byl proveden také na myších, kterým byla naordinována strava s vysokým obsahem tuků, jejímž následkem byla obezita, hyperreaktivita dýchacích cest a zvýšený počet ILC3 buněk produkujících IL-17A (Kim et al., 2014). Podobná studie na myších se stravou bohatou na tuky a s následným vyvoláním alergického zánětu dýchacích cest pomocí extraktu z roztočů také ukázala zvýšené počty ILC3 buněk při stravě s vysokým obsahem tuků a dále také zvýšené počty ILC2 a zvýšené hladiny IL-33 (Everaere et al., 2016).

Také myši, u nichž byl cíleně vyvolán metabolický syndrom naordinováním diety s vysokým obsahem fruktózy, vykazovaly rysy podobné AB spolu s hyperreaktivitou dýchacích cest (Singh et al., 2015) (detailně viz 6.4).

Studie také prokázala spojitost mezi konzumací nápojů s vysokým obsahem cukru včetně ovocných šťáv a vyšším rizikem rozvoje AB u dětí (Berentzen et al., 2015).

Další studie prokázala, že strava bohatá na zeleninu a obiloviny a chudá na mléčné výrobky a sladkosti je spojená s nižšími plazmatickými hladinami IL-17F a se sníženým rizikem rozvoje

dětského AB. Stejná studie ukázala, že konzumace mléčných výrobků je spojená se zvýšenou pravděpodobností vzniku AB. Děti konzumující „zdravou“ stravu měly v této studii o 83 % nižší pravděpodobnost vzniku AB než děti stravující se „nezdravě“ (Han et al., 2015).

V další studii byly dokázány protektivní účinky vysokého příjmu zeleniny proti rozvoji alergického astmatu (Protudjer et al., 2012). Jiná studie prokázala protektivní účinky konzumace celozrnných produktů a ryb vůči rozvoji AB (Tabak et al., 2006).

Postnatální suplementace rybím olejem zvýšila sérové hladiny n-3 polynenasycených mastných kyselin kojenců a byla spojena se sníženou reakcí na alergeny. Suplementace rybím olejem má tedy protektivní vlastnosti proti senzibilizaci na alergeny (D'Vaz et al., 2012).

4.1.8 Vliv infekcí horních a dolních cest dýchacích na rozvoj AB

Nejčastějším virem, který u malých dětí způsobuje bronchiolitidu je respirační syncytiální virus, druhým nejčastějším je rhinovirus a dále pak následují adenovirus, virus chřipky a lidský metapneumovirus (Calvo et al., 2007).

Již studie Korppiho 1994 dokázala, že prodělání bronchiolitidy v kojeneckém věku představuje výrazné zvýšení rizika rozvoje dětského astmatu. Následující studie poté prokázaly, že prodělání bronchiolitidy způsobené respiračním syncytiálním virem v kojeneckém věku výrazně zvyšuje nejenom riziko rozvoje AB, ale také alergie, a že tato rizika přetrvávají až do adolescence (Sigurs et al., 2005) a dále, že onemocnění respiračním syncytiálním virem doprovázené sípaním v prvních třech letech života představuje zvýšené riziko rozvoje dětského astmatu, ale že onemocnění rhinovirem, které je provázeno pískoty, v prvních třech letech života představuje ještě daleko vyšší riziko rozvoje dětského astmatu a to až 10x zvýšené riziko oproti kontrolní skupině (Jackson et al., 2008) (detailně viz 6.3). Další studie poté prokázala, že zvýšené riziko rozvoje AB a nutnosti používat léky na astma po prodělání bronchiolitidy v kojeneckém věku přetrvává až do dospělosti (Backman et al., 2014).

Bylo také prokázáno, že prodělání rhinovirové infekce v kojeneckém věku hraje významnou roli v následném rozvoji pískotů v dětském věku (Lemanske et al., 2005) a že lidé, kteří v dětství trpěli na těžké pískoty, mají několikanásobně zvýšený výskyt AB a nutnost užívat léky proti astmatu v dospělosti oproti kontrolní skupině (Goksör et al., 2015).

4.1.9 Reaktivní formy kyslíku

Enviromentální polutanty (částice PM 2,5) mohou indukovat tvorbu ROS a vyvolávat mitochondriální dysfunkci. ROS jsou také vylučovány senescentními buňkami a dále jsou primárně tvořeny fagocyty. ROS jsou klíčovými mediátory, které přispívají k oxidativnímu poškození buněk a chronickému zánětu dýchacích cest. Zvýšená hladina ROS může také vyvolat poškození mitochondrií, poškození DNA a zkrácení telomer, což vyvolává zástavu buněčného cyklu a buněčné stárnutí (Sachdeva, 2019).

Senescentní buňky produkují se senescencí asociovaný sekretomový fenotyp, jež vede k remodelaci dýchacích cest a zároveň také vyvolávají stárnutí (Sachdeva, 2019).

Mezi faktory, které senescentní buňky produkují, patří interleukiny (IL-6, IL-8), chemokiny, prozánětlivé cytokiny, peptidy, proteiny a aktivní enzymy. Se senescencí asociovaný sekretomový fenotyp tedy významně působí na okolní tkáň, způsobují její poškození, vyvolávají stárnutí buněk a mohou způsobovat chronický zánět, jelikož působí chemotakticky na imunitní buňky (Lacey a Mistrík, 2020; Šimečková, 2011).

4.1.10 Změny na úrovni epigenetických regulací

Epigenetické změny ovlivňují genovou expresi, aniž by způsobovaly změny sekvence DNA. Mezi studované epigenetické změny v souvislosti s astmatem patří methylace DNA, modifikace histonů a exprese microRNA.

Studie ukázaly, že expozice polutantům prostředí vyvolává epigenetické změny (Liu, 2008). Výzkumy jasně naznačují, že epigenomická dysregulace může přispívat k náchylnosti na alergická onemocnění. Výzkum Pascuala a kolegů (2014) ukázal rozdíly v methylaci DNA mezi alergiky a zdravými nealergickými osobami.

Methylace DNA snižuje expresi daného genu (Moore, 2013). DNA, která bude málo methylována, bude tedy silně přepisována, zatímco DNA, jež bude silně methylována, přepisována nebude.

Studie Yanga a kolegů (2015) porovnávala methylaci DNA mezi zdravými dětmi a dětmi s AB a autoři našli několik oblastí, kde se methylace výrazně lišila. Astmatické děti měly výrazně hypomethylované imunitní geny – např. geny pro IL-13, RUNX3 (který se podílí na zrání T lymfocytů) a geny pro T lymfocyty. 11 odlišně methylovaných oblastí u astmatiků souviselo

s vyššími hladinami IgE. Další studie také potvrdila, že snížená methylace v určitých oblastech DNA souvisí s dětským astmatem a to např. přes zvýšenou aktivaci eozinofilů (Xu et al., 2018).

Změny methylace ovlivňují diferenciaci naivních Th lymfocytů (Liu et al., 2008) a se změnami methylace DNA v oblasti transkripčního faktoru FOXP3 je spojeno poškození Treg lymfocytů (Nadeau et al., 2010). Na souvislost mezi methylací DNA a funkcí Treg lymfocytů bylo provedeno několik studií. Studie Lluisse a kolegů (2014) ukázala, že děti žijící na farmě měly více demethylované geny FOXP3, tudíž vyšší počty Treg buněk, což mělo ochranný účinek proti rozvoji AB, oproti dětem žijícím mimo farmu. Další studie ukázala, že zvýšená expozice látkám znečišťujícím ovzduší byla spojená s hypermethylací lokusu FOXP3 a tím se zhoršením funkce Treg lymfocytů (Nadeau et al., 2010). Bylo také dokázáno, že IL-6 vede k methylaci lokusu FOXP3 a tím k potlačení exprese FOXP3 (Lal et al. 2008).

Dále také současná expozice polutantům a alergenu vyvolává hypermethylaci v promotoru IFN γ (promotor IFN γ je hypomethylován v naivních T lymfocytech a při diferenciaci se buď methyluje při polarizaci na Th₂ lymfocyty nebo demethyluje při polarizaci na Th₁ lymfocyty (Jones a Chen, 2006)) a hypomethylaci v promotoru IL-4 u myši. S těmito změnami methylace u myši také souvisela změna hladiny IgE protilátek, která se po expozici alergenu a polutantům výrazně zvyšovala (Liu et al., 2008).

Další studie zkoumala rozdíly v methylaci monocytové DNA v monocytech z periferní krve u zdravých osob a u astmatiků. Výzkumníci zjistili, že bylo odlišně methylovaných 404 genů. Tyto změny methylace se týkaly např. exprese povrchových receptorů, nebo změny v regulaci aktinu v cytoskeletu, což může souviset s rozdílnou motilitou monocytů (Gunawardhana et al., 2014).

4.2 Léčba astma bronchiale v dětském věku

Teřl ve své knize shrnuje základy léčby AB a říká, že AB je považované za nevléčitelné onemocnění, u kterého je cílem terapie dosažení kontroly nad astmatem a za základ farmakoterapie se považují preventivní antiastmatika (Teřl et al., 2015). Cílem léčby je tedy udržet dítě asymptomatické nebo s minimem možných symptomů a exacerbací, což umožňuje život bez omezení v každodenních aktivitách (Moral et al., 2021).

Studie Rosse a kolegů (2020) ukazuje, že astma u dětí prochází rychlým vývojem, kterému je nutné přizpůsobovat léčbu, a často se může velmi zlepšit. V jejich studii se u poloviny dětí s těžkým AB po 3 letech závažnost astmatu výrazně zlepšila. Což je rozdíl od dospělých, u kterých je pravděpodobnější, že jejich astma bude konstantní (Guilbert et al., 2014).

Bateman s kolegy (2008) ve svém článku shrnuli strategii léčby AB u dětí. Uvádí, že léky na astma se rozdělují na léky pro kontrolu astmatu a na úlevové léky. Kdy léky pro kontrolu astmatu jsou užívány denně a dlouhodobě, zatímco úlevové léky působí rychle a jsou užívány v případě potřeby. Chvostová (2009) ve své práci hezky shrnuje rozdělení farmakoterapie. Píše, že pod preventivní antiastmatika patří inhalační a systémové kortikosteroidy, inhalační a perorální β_2 agonisté s dlouhodobým účinkem, antileukotrieny, specifická alergenová imunoterapie a biologická léčba a dále také antagonisté H1-receptorů, kromony a theofyliny, Pod rychlá úlevová antiastmatika poté řadí inhalační β_2 agonisté s krátkodobým účinkem, inhalační anticholinergika s krátkodobým účinkem a systémové kortikosteroidy.

Lemanske (2010) ve studii prokázal, že každé dítě reaguje na různou léčbu jinak, takže je nutné léčbu měnit a přizpůsobovat konkrétnímu pacientovi. Zkoumal léčbu antagonisty leukotrienových receptorů, inhalačními kortikosteroidy a dlouhodobě působícím β_2 antagonistou. Největší procento dětí reagovalo nejlépe na kombinaci kortikosteroidů a dlouhodobě působícího β_2 agonisty.

4.2.1 Kortikosteroidy

V léčbě dětského astmatu se preventivně nejčastěji používají kortikosteroidy, které se případně kombinují s antagonisty leukotrienových receptorů (Vávrová, 2014) nebo s dlouhodobě působícími β_2 agonisty u dětí s těžkým AB (Guilbert et al., 2014).

Kortikosteroidy jsou nejúčinnější protizánětlivé léky, které ovlivňují genovou transkripci, čímž zvyšují syntézu protizánětlivých proteinů a inhibují syntézu prozánětlivých proteinů (Tomčaková et al., 2014). Pauwels s kolegy (2003) ve své studii potvrdil, že dlouhodobá léčba nízkými dávkami inhalačními glukokortikoidy jednou denně zlepšuje kontrolu AB u pacientů s mírným perzistujícím astmatem a snižuje riziko těžkých exacerbací.

Bylo pozorováno, že těžké exacerbace astmatu jsou spojeny s rychlejším poklesem plicních funkcí u dětí a dospělých. Léčba nízkými dávkami inhalačních kortikosteroidů je spojena se zmírněním poklesu (O'Byrne et al., 2009).

V Shahově studii (2013) bylo zjištěno, že děti s těžkým AB, které byly léčeny kombinací inhalačních kortikosteroidů a dlouhodobě působícími Beta-2 agonisty měly nižší riziko hospitalizace z důvodu astmatu než děti s těžkým astmatem léčené kombinací inhalačních kortikosteroidů a montelukastu.

Další studie porovnávala účinnost léčby u dětí s mírným až středně těžkým astmatem léčených buď flutikasonem (glukokortikoid) nebo montelukastem. Výsledky hovoří pro to, že léčba flutikasonem byla účinnější než léčba montelukastem (Wang et al., 2011).

4.2.1 Bronchodilatancia

Beta-2 agonisté

Beta-2 agonisté patří mezi nejčastěji používané léky s bronchodilatačním účinkem. Fungují na principu stimulace beta receptorů sympatiku, čímž způsobují dilataci bronchů. Mezi krátkodobě působící Beta-2 agonisty patří např. Ventolin a Salbutamol a mezi dlouhodobě působící patří např. Formoterol (Pončáková, 2021).

K léčbě akutní obstrukce se využívají inhalační krátkodobě působící bronchodilatancia (např. Salbutamol), pokud tyto léky nezabírají, přistupuje se k podání *per os*/ intravenózních kortikosteroidů (Beránková, 2011).

Anticholinergika

Anticholinergika působí jako bronchodilatátory díky tomu, že inhibují cholinergně vyvolaný bronchospasmus (Xu et al., 2021). Ipratropium bromid patří mezi antagonisty muskarinových acetylcholinových receptorů s krátkodobým účinkem (Xu et al., 2021; Špičák, 2011). Ipratropium bromid se využívá u závažných astmatických exacerbací u pacientů, u kterých není dostatečná odpověď na běžnější typy léčiv (Xu et al., 2021).

4.2.2 Antileukotrieny

V případě lehkého astmatu se místo inhalačních kortikosteroidů ordinují pouze antileukotrieny (Beránková, 2011). Jedná se o protizánětlivé nekortikoidní léky,

které lze ordinovat již od 6 měsíců věku (Špičák, 2011). Mezi antileukotrieny patří např. montelukast (Chung et al., 2014) působící jako antagonist a cysteinylového leukotrienového receptoru (Tomčaková et al., 2014), jehož účinnost a předvídatelnost účinnosti léčby je ovšem daleko nižší než u inhalačních kortikosteroidů (Moral et al., 2021).

4.2.3 Specifická alergenová imunoterapie

Specifická alergenová imunoterapie se podává pacientům, u nichž je potvrzena imunopatologická reakce I. typu na konkrétní alergen. Léčba spočívá v podávání postupně se zvyšujících dávek daného alergenu, na který je pacient senzibilizován, následovaná udržovacími dávkami alergenu po dobu 3 – 5 let (Tomčalová, 2014). Alergen se podává ve formě injekce nebo tablety či kapek pod jazyk (Pončáková, 2021). Imunoterapie může zlepšit kvalitu života a snížit potřebu medikace (Moral et al., 2021). Před podáváním této léčby je vhodné přesně identifikovat danou alergogenní strukturu alergenu, na niž je pacient senzibilizován, protože spousta alergenů reaguje zkříženě (Vaňková et al., 2020). Této tématice se věnují např. práce Vaňková et al., 2020 a Dodig a Čepelak, 2018.

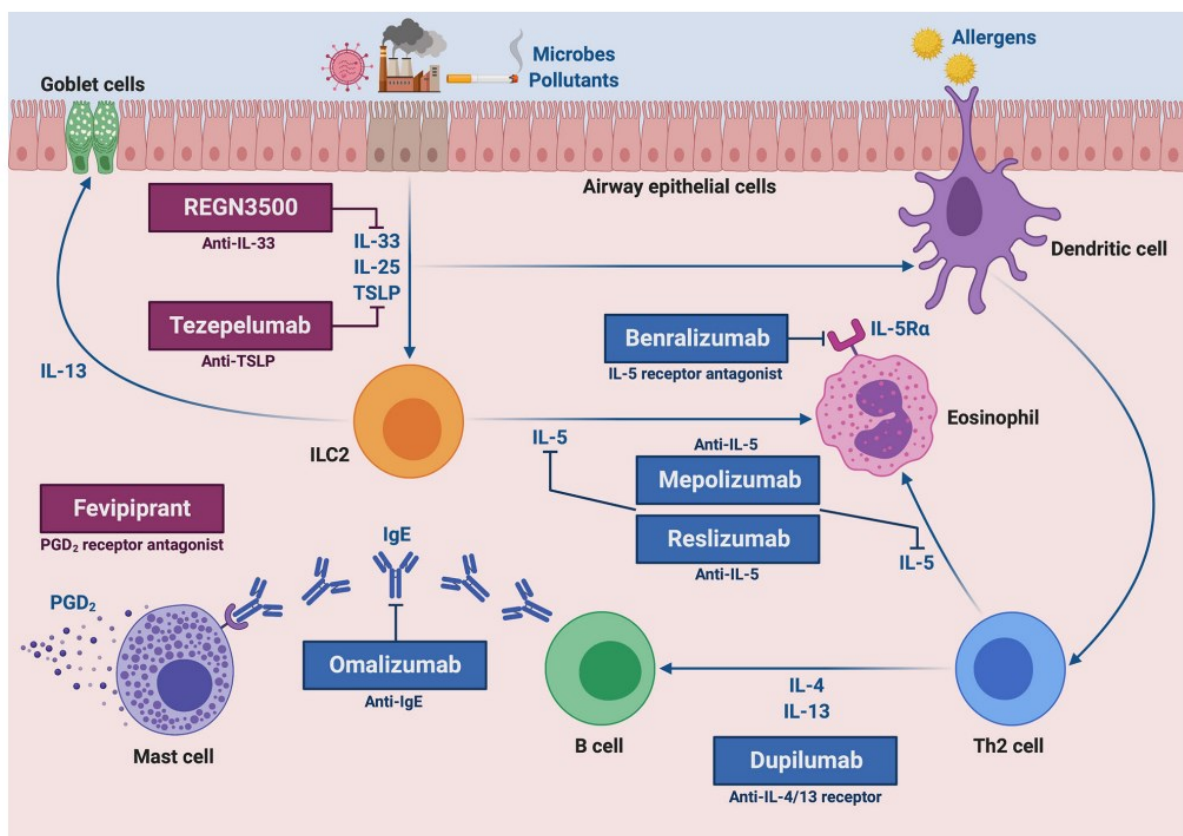
4.2.4 Biologická léčba

Omalizumab je monoklonální anti-IgE protilátka myšího původu, která se váže na volný IgE v séru (Milgrom et al., 2001). Omalizumab se podává každé 2 – 4 týdny pacientům s chronickým alergickým astmatem a alespoň jedním kožním pozitivním testem a se zvýšenou hladinou IgE v séru (Guilbert et al., 2014). Studie prokázala, že léčba omalizumabem je u dětí bezpečná (Milgrom et al., 2001). Léčba omalizumabem zlepšuje kontrolu AB, vede ke snížení klinických symptomů, počtu exacerbací, počtu hospitalizací a ke snížení nutnosti užívat inhalační kortikosteroidy (Busse et al., 2011). Omalizumab je chválen pro použití k léčbě u dětí starších 6 let (čerpáno ze souhrnu údajů o přípravku https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2016/20160909135675/anx_135675_cs.pdf).

Dupilumab je monoklonální protilátka, která se váže na receptor IL-4R α (Harb a Chatila, 2019), čímž inhibuje signalizaci IL-4 a IL-13. Studie prokázala, že léčba dupilumabem snižuje četnost exacerbací a zlepšuje plicní funkce a kontrolu AB (Castro et al., 2018). Léčba dupilumabem je schválena pro použití pro děti starší 6 let a je možné ji kombinovat s léčbou steroidy (čerpáno

ze souhrnu údajů o přípravku https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/dupixent-epar-product-information_cs.pdf).

Léčiva mepolizumab, benralizumab a reslizumab se používají v anti-IL-5 terapii u těžkého astmatu. Všechny tři látky snižují počet eozinofilů v krvi a ve sputu (León a Ballesteros-Tato, 2021). Mepolizumab a reslizumab jsou monoklonální protilátky proti IL-5 (Busse, 2019), benralizumab je protilátka proti receptoru pro IL-5 (Criner, 2019). Ve studiích bylo prokázáno, že mepolizumab i benralizumab snižují počet exacerbací (Fitzgerald et al., 2016; Ortega et al., 2014). Mepolizumab je určen pro léčbu těžkého eosinofilního astmatu u dětí starších 6 let (čerpáno ze souhrnu údajů o přípravku https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/nucala-epar-product-information_cs.pdf), benralizumab a reslizumab jsou určeny pouze pro léčbu dospělé populace (čerpáno ze souhrnu údajů o přípravku https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/fasenra-epar-product-information_cs.pdf, https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/cinqaero-epar-product-information_cs.pdf).(viz Obr. 5)



Obrázek 5 Princip biologické léčby, převzato z: PELAIA et al., 2020

5. Diagnostika alergických onemocnění

U všech alergických onemocnění je nutné určit alergen, který daný stav vyvolává a na který je tělo senzibilizováno. K tomuto určení je možné použít *in vitro* testy nebo *in vivo* testy. Mezi používané testy patří skin prick testy, prick to prick testy a atopické epikutánní testy, které se provádějí na kůži nemocného a patří tudíž mezi testy *in vivo*. Mezi další možná vyšetření patří např. vyšetření specifických IgE protilátek ze séra a (Gutová, 2010; Kopelentová a Vernerová, 2016).

5.1 *In vivo* kožní testy

In vivo kožní testy se provádí přímo v ordinaci lékaře.

5.1.1 Skin prick testy

Skin prick test využívá toho, že po senzibilizaci na daný antigen bude tělo při kontaktu s tímto alergenem reagovat vždy. Pro diagnostiku se tedy využívá kůže na předloktí pacienta místo obvyklého cílového místa působení alergenu, kterým bývají oči, nos, střeva atd. (Heinzerling et al., 2013).

Jedná se o kožní test, který využívá roztoky alergenů (Gutová, 2010). Roztoky testovaných alergenů a negativní a pozitivní kontrola se nakapou na kůži, tak aby byly kapky od sebe vzdáleny alespoň 2 cm. Jako pozitivní kontrola se používá histamin v koncentraci 10 mg/ml a jako negativní kontrola 0,9% chlorid sodný s glycerolem. Do středu kapky se poté přiloží lanceta, kterou se následně propíchne vrchní vrstva kůže. Test se odečítá po 15 minutách (Sedláčková et al., 2015; Birch et al., 2021).

Pokud je na daný antigen, nanesený na kůži, tělo senzibilizováno, pro něj specifické IgE imunoglobuliny se aktivují a naváží se na žírné buňky. Dojde k přemostění receptorů mastocytů a jejich degranulaci a do kůže se dostává histamin. Tuto reakci na kůži pozorujeme jako červený, napuchlý, svědivý pupen (Heinzerling et al., 2013).

Při odečtu reakce hodnotíme šíři kožní reakce v milimetrech. Pozitivním výsledkem je každý pupen větší než 3 mm (Sedláčková et al., 2015).

5.1.2 Prick to prick test

Prick to prick test funguje a provádí se stejně jako skin prick test. Jediným rozdílem je, že tento test se používá v případě potravinových alergií s využitím čerstvých potravin, zatímco u inhalačních alergenů se dá použít pouze skin prick test (Gutová, 2010).

Provedení tohoto testu je snadné. Nejprve se lancetou píchne do dané potravině a následně se touto lancetou propíchne vrchní část kůže, čímž alergen této potravině přeneseme do kůže (Machovcová, 2016).

5.1.3 Atopický epikutánní test

Atopický epikutánní test se využívá pro zjištění imunopatologické reakce IV. typu. Jedná se o náplast s komůrkami z polyethylenu, které obsahují kontaktní alergeny. Komerčně dostupných je těchto komůrek s alergeny 80, v Evropě se běžně používají testy se 34 různými kontaktními alergeny. Tato náplast se aplikuje na kůži zad a nechá se nalepená 48 hodin, po těchto 48 hodinách se náplast odlepí, udělá se první odečet kožních reakcí. Další a finální odečet výsledných kožních reakcí se provede po 96 hodinách. V případě některých kovů je nutný ještě třetí odečet po 7 dnech (Muthupalaniappen a Jamil, 2021).

5.2 *In vitro* laboratorní testy

In vitro testy se provádí v laboratoři ze vzorků odebraných pacientovi.

5.2.1 Stanovení eozinofilů

Počet eozinofilů zjistíme z diferenciálního rozpočtu leukocytů, který je možné stanovit při nátěru krve na sklíčko, obarvením barvivem Giemsa-Romanowski a následným spočítáním jednotlivých typů buněk pod mikroskopem a jejich přepočítáním na celkový počet. Stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů se provádí také na průtokovém cytometru.

GINA udává, že za hraniční hodnoty počtu eozinofilů ve sputu se považuje více jak 2 % eozinofilů ze všech buněk.

Wagener s kolegy (2015) ve své studii zjistil, že počet krevních eozinofilů u astmatiků koreluje s počtem eozinofilů ve sputu. Ovšem Ullmann s kolegy (2013) ve své studii zjistili, že u dětí léčených vysokými dávkami steroidů není hladina krevních eozinofilů vypovídající,

protože většina dětí léčených steroidy, které měly normální hladiny eozinofilů v krvi, měla následně při bronchoalveolární laváži zjištěné známky eozinofilního zánětu dýchacích cest.

5.2.2 Stanovení celkového IgE

U hypersenzitivních reakcí bývá často celková koncentrace imunoglobulinů typu E zvýšená. Hraniční hodnota pro sérové koncentrace IgE je 100 UI/ml (Heinzerling et al., 2013). Průkaz senzibilizace ovšem nemusí znamenat přítomnost klinicky významné alergie, ale zároveň také negativní výsledek alergických vyšetření alergie nevyklučuje (Teřl, 2015). Stanovení celkového IgE se provádí např. fluorescenční enzymovou imunoanalýzou (https://www2.ikem.cz/plm_lp/_LP_19629-L0000006.htm)

5.2.3 Vyšetření specifických protilátek IgE ze séra

Tento test je založen na principu detekce cirkulujících IgE protilátek ve smyslu, proti kterému antigenu jsou dané imunoglobuliny typu E specifické (Muthupalaniappen a Jamil, 2021). K testování se využívá metody ELISA (Ansotegui et al., 2020). Citlivost u potravinových alergenů je vysoká, ale naopak specifita se pohybuje pouze kolem 50 %. Citlivost u testování IgE protilátek proti roztočům a zvířecí srsti je cca 65 % a specifita se v těchto testech pohybuje mezi 85 – 99 % (Muthupalaniappen a Jamil, 2021).

Výše hladiny IgE protilátek nemusí nutně korelovat se závažností alergické reakce. Tedy při vysoké hladině imunoglobulinů nemusí být reakce na alergeny nutně velmi závažné, naopak nízká hladina protilátek nevyklučuje, že by po kontaktu s daným alergenem nenastala anafylaktická reakce. V laboratoři totiž měříme pouze protilátky obsažené v séru, nikoliv ty navázané na mastocyty či ty, které se nacházejí v tkáních (Birch et al., 2021).

ELISA se provádí v mikrotitrační destičce a je založena na reakci enzymu a substrátu a na tvorbě imunokomplexu. ELISU můžeme provádět buď kompetitivní nebo nekompetitivní. Při kompetitivní i nekompetitivní ELISE nasorbujeme na povrch jamky mikrotitrační destičky testovaný antigen.

V kompetitivním provedení do jamky přidáme testované sérum, s možným výskytem IgE protilátek specifických vůči testovanému antigenu, a enzymově značenou protilátku proti testovanému antigenu. Případná neznačená protilátka ze séra má k antigenu větší afinitu,

tudíž se naváže přednostně. Pokud je tedy v séru hodně dané protilátky, pak vyváže veškeré antigeny navázané v jamce a značená protilátka se tedy nemá kam navázat a v dalším kroku ji vymyjeme. Po inkubační době jamku promyjeme a přidáme substrát specifický pro enzym navázaný na značené protilátce. Enzym daný substrát rozloží, čímž substrát změní barvu. Jamky odečítáme spektrofotometricky. Intenzita zabarvení je na koncentraci IgE protilátky, specifické vůči testovanému antigenu, v séru nepřímo úměrná.

Při nekompetitivním uspořádání do jamky napipetujeme testované sérum a necháme inkubovat. Po inkubační době promyjeme a přidáme enzymem značené protilátky proti lidským IgE protilátkám a opět necháme inkubovat. Pokud se v séru nacházely protilátky specifické proti testovanému antigenu, pak se navázaly a na tyto navázané protilátky se v tomto kroku naváží protilátky značené enzymem. Pokud sérum dané imunoglobuliny neobsahovalo, pak se značené protilátky nemají kam navázat a v dalším kroku je vymyjeme. Po inkubaci následuje promytí a přidání substrátu specifického pro daný enzym navázaný na značené protilátce. Tyto jamky odečítáme spektrofotometricky. Vzájemným vztahem mezi intenzitou zabarvení jamky a koncentrací specifických IgE protilátek v séru je přímá úměra.

Jako enzym pro značení imunoglobulinů můžeme použít křenovou peroxidázu a jako substrát poté peroxid vodíku, *o*-fenylen diamin dihydrochlorid nebo 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin. Dalším možným enzymem je alkalická fosfatáza, jejímž substrátem je *p*-nitrofenylfosfát, případně můžeme použít enzym glukózooxidázu, pro nějž je specifickým substrátem glukóza.

5.2.4 Test aktivace bazofilů (BAT)

Tento test je poměrně nový. Jeho výhodami jsou vysoká specifičnost a vysoká citlivost (Muthupalaniappen a Jamil, 2021).

Při degranulaci bazofilů dochází k expresi povrchových znaků na membráně bazofilů, kterých je využíváno v průtokové cytometrii. Měříme tedy míru exprese vybraného znaku, mezi nímž a mírou aktivace bazofilů, po expozici vůči testovanému antigenu, je přímá úměra. Mezi markery aktivovaných bazofilů patří povrchové znaky CD63, CD107a, CD107b, CD13, CD164 a CD69 (Hemmings et al., 2018).

5.3 Diagnostika astma bronchiale v dětském věku

Schleich s kolegy (2016) ve svém článku vytvořili hezký souhrn základních biomarkerů pro diagnostiku AB. Mezi tyto biomarkery patří: počet eozinofilů ve sputu, vydechovaný oxid dusnatý, počet eozinofilů v krvi, koncentrace IgE v séru, koncentrace periostinu v séru a hladina vydechovaných těkavých organických sloučenin. Gallucci (2019) ve svém přehledovém článku zmiňuje výhody využití základních technik funkčního vyšetření plic jako je spirometrie, měření vrcholové výdechové rychlosti (PEF – peak expiratory flow) a impulzní oscilometrie. Petrů (2006) ve svém souhrnném článku o diagnostice astmatu dále uvádí, že důležitou roli v určení diagnózy AB hraje anamnéza a v případě akutních příznaků fyzikální vyšetření.

De Jong s kolegy (2019) ve své studii hodnotili diagnostickou přesnost testů u stanovování dětského astmatu. Jejich výsledky naznačují, že časté pískoty, buzení se z důvodu pískotů, měření FeNO a bronchokonstrikční test mají nejlepší schopnost odlišit, zda dítě astma má či ne. Na rozdíl od FEV₁, FEV₁/FVC a bronchodilatačního testu, které u dětí tak přesné nejsou. Dále se zjišťuje přítomnost alergie, protože přítomnost alergie zvyšuje pravděpodobnost, že pacient s astmatickými příznaky má alergické astma (GINA, 2021). Stanovení přítomnosti alergie kožními prick testy (viz 5.1) nebo sérovou hladinou specifického IgE (viz 5.2.2) pomůže zjistit spouštěče AB (Krčmová et al., 2010).

5.3.1 Spirometrie

Spirometrie se provádí tak, že se pacient 3x nadechne a vydechne a následně provede rychlý a hluboký nádech přes náustek. Poté pacient co nejrychleji vyfoukne vzduch opět přes náustek a pokračuje ve výdechu do doby, než mu nezbyvá žádný vzduch k výdechu. Test by se měl opakovat alespoň 3x a měla by se zkontrolovat opakovatelnost (Jat, 2013).

Gallucci (2019) s odkazem na GINA uvádí, že za normální hodnoty je u dětí považován poměr jednosekundové vitální kapacity plic k usilovné vitální kapacitě plic (FEV₁/FVC) 0,9 a hodnoty FEV₁ vyšší než 80%.

Studie Eigena a kolegů (2001) a Aurora a kolegů (2004) prokázaly, že spirometrie je proveditelná a má vypovídající výsledky i u většiny předškolních dětí, i přes to, že je spirometrie běžně doporučována u dětí starších 5 let (Jat, 2013).

Komarow (2012) ve své studii ovšem uvádí, že impulzní oscilometrie je u dětí citlivější a specifičtější při identifikaci dětí s reverzibilní obstrukcí než spirometrie. Dále doporučuje při provádění obou testů provádět nejprve impulzní oscilometrii a teprve poté spirometrii, jelikož spirometrie může způsobit snížení plicních funkcí detekovatelné impulzní oscilometrií. Výsledné grafy jsou uvedeny na obrázku 8.

5.3.2 Bronchodilatační test

Bronchodilatační test se provádí ke zjištění reverzibility obstrukce, a tedy potvrzení diagnózy AB (Krčmová et al., 2010). Je to metoda, která měří změnu kapacity plic po inhalaci krátkodobě působícího bronchodilatačního léku rozšiřujícího dýchací cesty. Nejprve se provede spirometrie, následně se podá lék a poté se provede spirometrie znovu (Sim et al., 2017).

Při běžném bronchodilatačním testu se pacientovi podává 400 µg salbutamolu (Krčmová et al., 2010). V 70 % případů dojde k bronchodilataci po 4 minutách, plný efekt léku potom nastává do 30 minut (Teřl, 2015). Druhá spirometrie se provádí 10-15 minut po podání léku (GINA, 2021). Za data potvrzující, že se jedná o reverzibilní obstrukci a tedy AB, se považuje zvýšení FEV₁ o 12 a více % u dětí i dospělých a u dospělých musí zároveň dojít ke zvýšení o nejméně 200 ml (GINA, 2021).

5.3.3 Bronchokonstrikční test

Přítomnost hyperreaktivity dýchacích cest se zjišťuje pomocí bronchokonstrikčního testu (Krčmová et al., 2010). Test využívá přímé stimulace metacholinem a je vysoce selektivní, což znamená, že negativní výsledek vylučuje AB (Teřl, 2015).

Metacholin je agonista muskarinových receptorů působící na receptory hladkého svalstva dýchacích cest (Metacholine Challenge Test, 2021).

Nejprve se provede spirometrie a následně se podávají ve formě aerosolu zvyšující se koncentrace metacholinu a vždy 30 a 90 vteřin po jejich podání se provede další spirometrie. Koncentrace metacholinu se postupně zvyšuje, dokud FEV₁ neklesne o 20 %. Test je považován za negativní, pokud je provokativní koncentrace metacholinu, při které FEV₁ kleslo o 20 %, 16 mg/ml a vyšší (Metacholine Challenge Test, 2021).

5.3.4 Vrcholová výdechová rychlost

PEF se měří výdechoměrem (viz Obr. 6) (Janíčková, 2001), jež lze použít také k domácímu monitorování léčby (Krčmová a Novosad, 2001). PEF je jedním z ukazatelů průchodnosti dýchacích cest a u zdravých lidí nebo správně léčených astmatiků by měla dosahovat hodnoty 80-100 % náležité hodnoty (Janíčková, 2001). Pro AB je typická variabilita naměřených hodnot vyšší než 20 % v průběhu 24 hodin (Krčmová a Novosad, 2001). Vlastní diagnóza astmatu by se ovšem o měření PEF opírat neměla. Měření PEF by u diagnostiky mělo být bráno pouze za pomocnou metodu (Teřl, 2015).



Obrázek 6 Výdechoměr, převzato z: <https://www.netmedik.cz/vydechomery/>

5.3.5 Impulzní oscilometrie

Impulzivní oscilometrie je neinvazivní a rychlá technika, která umožňuje hodnotit mechanické vlastnosti dýchacího systému i za minimální spolupráce pacienta a je tedy velmi vhodná pro diagnostiku malých dětí (Dencker et al., 2006).

Pěkné shrnutí o impulzní oscilometrii uvádí Komarow (2011) ve svém článku, kde mimo jiné vysvětluje fungování impulzní oscilometrie. Komarow píše, že impulzní oscilometr v ústech generuje tlakové vlny, které se pohybem vzduchového sloupce šíří po dýchacích cestách, následuje roztažení dýchacích cest a zpětný ráz elastických složek dýchacích cest, čímž dojde k vytvoření protitlaku. Využívá se tlakových vln nízkofrekvenčních o frekvenci 5 Hz,

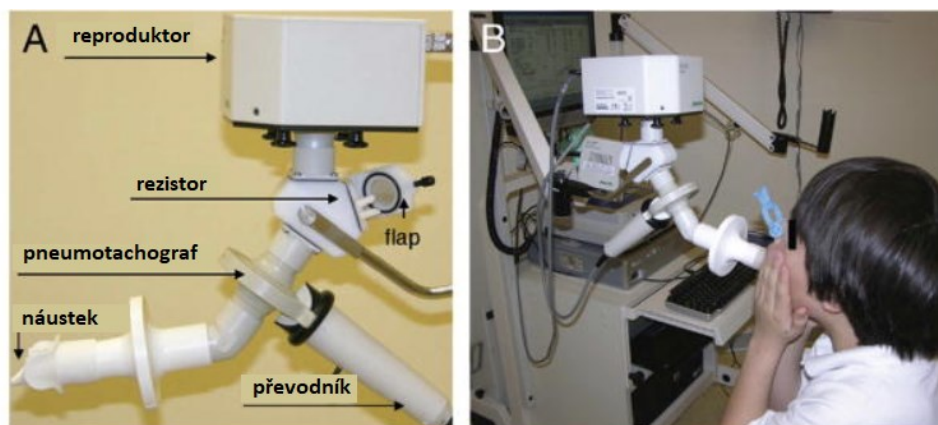
které pronikají až na periferii plic a vysokofrekvenčních pronikajících pouze do proximálních dýchacích cest (trachea a bronchy (Michalíková, 2016)).

Při impulzní oscilometrii se měří plicní odpor (energie potřebná k šíření tlakové vlny dýchacími cestami (Komarow, 2011)) a reaktance (množství zpětného rázu generovaného proti této tlakové vlně (Komarow, 2011)), které odrážejí celkovou plicní impedanci. Obojí je pozorováno školeným pracovníkem v reálném čase jako funkce objemu průtoku na tlaku po dobu 30 vteřin (Galant et al., 2017).

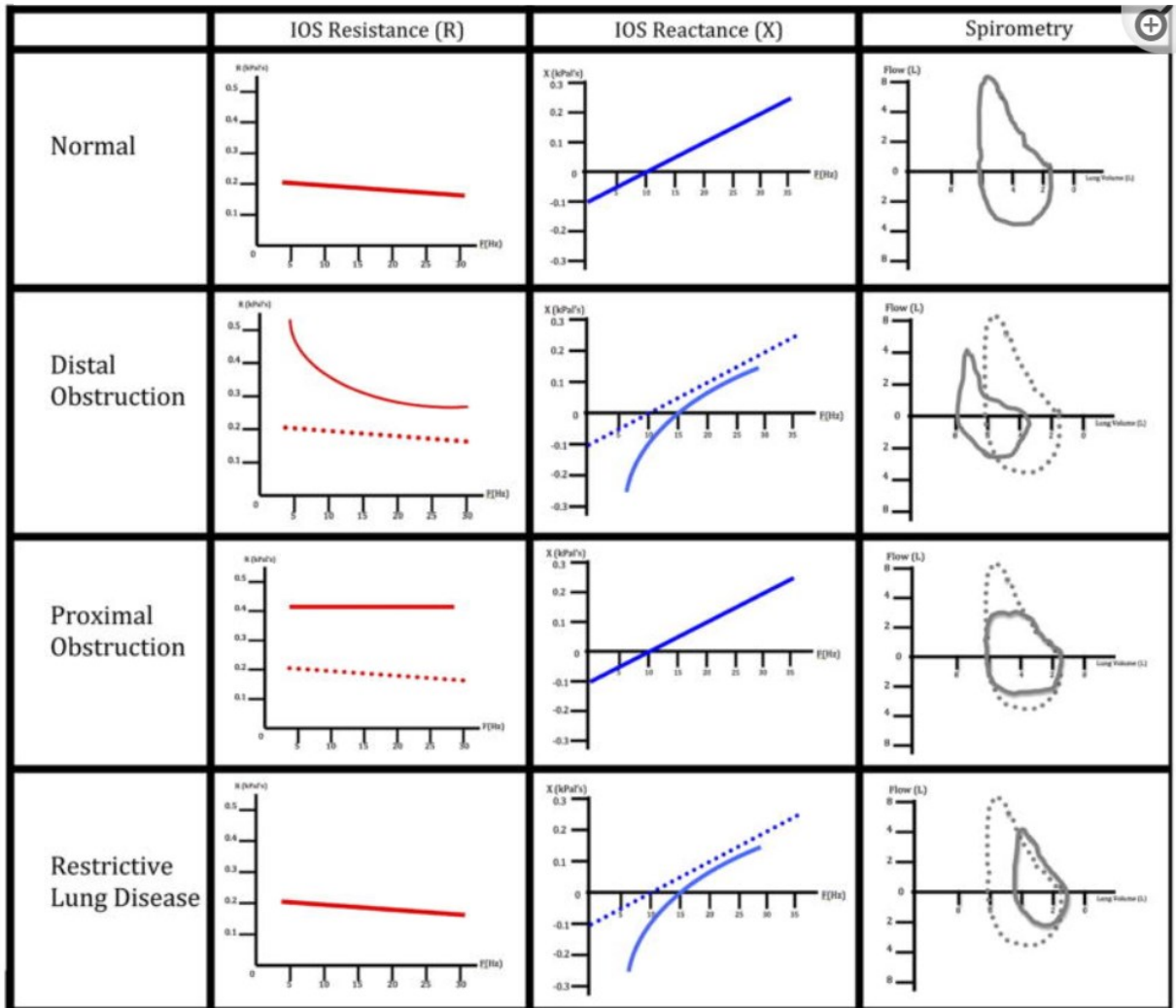
Na rozdíl od spirometrie nemůže impulzní oscilometrie ovlivnit bronchiální tonus. Impulzní oscilometrií také získáme specifitější informace o odporu a elasticitě dýchacího systému, než jaké nám může poskytnout spirometrie, proto může být užitečná i u dospělých pacientů (Dencker et al., 2006).

Odpor dýchacích cest nepřímo koreluje s věkem. Malé děti mají odpor dýchacích cest vyšší než starší děti a dospělí (Komarow, 2011). U dětí závisí referenční hodnoty pro impulzní oscilometrii na výšce dítěte (Galant et al., 2017). Při obstrukci proximálních a distálních cest dýchacích se zvyšuje odpor a reaktance při 5 Hz, obstrukce centrálních dýchacích cest se projeví zvýšením odporu při 20 Hz (Komarow, 2011).

Jak přístroj vypadá je vyobrazeno na obrázku 7 a výsledné grafy jsou vidět na obrázku 8.



Obrázek 7 Impulzní oscilometr, převzato z: KOMAROW et al., 2011, upraveno



Obrázek 8 Grafy impulzní oscilometrie a spirometrie u zdravé osoby, u osob s distální a proximální obstrukce a u osob s obstrukční plicní nemocí, převzato z: KOMAROW et al., 2011

5.3.6 Oxid dusnatý ve vydechaném vzduchu

Frakční koncentrace oxidu dusnatého (FeNO) ve vydechaném dechu se měří ve výdechu při konstantním průtoku po dobu 6 – 10 vteřin po hlubokém nádechu (Spahn et al., 2016). Jedná se o kvantitativní, neinvazivní a jednoduchou metodu měření zánětu dýchacích cest (Dweik et al., 2011). Hladiny FeNO korelují s počty eozinofilů ve sputu (Spahn et al., 2016).

NO je v dýchacích cestách konstantně exprimován indukovatelnou NO-syntázou. U astmatiků způsobuje významné zvýšení hladin NO IL-4 a IL-13, které nepřímo přes několik návazných reakcí indukují indukovatelnou NO-syntázu (Spahn et al., 2016).

Dweik (2011) doporučuje při interpretaci hladiny FeNO používat hraniční hodnoty, které jsou u dětí < 20 ppb (part per bilion – což znamená, že se detekuje jedna molekula na miliardu ostatních molekul (Krčmová et al., 2010)) a > 35 ppb. Kdy při hodnotách nižších než 20 ppb je eozinofilní zánět málo pravděpodobný, naopak při hladinách nad 35 ppb je přítomnost eozinofilního zánětu dýchacích cest vysoce pravděpodobná a zároveň je vysoce pravděpodobné, že u takového pacienta bude případná léčba kortikosteroidy úspěšná.

5.3.7 Stanovení periostinu

Periostin je považován za biomarker zánětu dýchacích cest způsobeného Th₂ lymfocyty (Song et al., 2015). Studie Songa a kolegů (2015) potvrdila, že astmatické děti mají významně vyšší hladiny periostinu než zdravé kontroly. Zároveň tato studie ověřila, že sérová koncentrace periostinu koreluje s hyperreaktivitou dýchacích cest. Song ve své studii také zmiňuje výsledky jiného týmu, který v *in vitro* studii ověřil, že epitelální buňky dýchacích cest od astmatických dětí a alergickým astmatem syntetizují vyšší hladiny periostinu než buňky dětí bez astmatu.

6. Vybrané studie dokládající podíl rizikových faktorů na rozvoji astma bronchiale

6.1 Vliv životního prostředí na rozvoj astma bronchiale

Jung s kolegy (2019) ve své studii zjišťovali, jak expozice látkám znečišťujícím prostředí v prenatálním a postnatálním období ovlivňuje riziko rozvoje AB u dětí. Studijní populace zahrnovala 191 330 dětí (184 604 po vyloučení dětí, které nesplňovaly zadaná kritéria) narozených v Taichung City městě, které má hned několik velmi významných zdrojů emisí, v období mezi 1.1.2004 a 31.12.2011, které byly sledovány od početí do 31.12.2014. Informace o občanech čerpali z Tchajwanské databáze zdraví matek a dětí, z Tchajwanského registru narození a z národní výzkumné databáze zdravotního pojištění. Informace z těchto databází si propojili přes identifikační čísla, čímž získali detailní informace o novorozenci, matce a jejich historii návštěv lékařských zařízení. Díky národní výzkumné databázi zdravotního pojištění identifikovali děti, které byly diagnostikovány s astmatem. Těmto dětem na základě adresy bydliště matky přiřadili vypočítanou průměrnou týdenní koncentraci PM_{2,5}.

AB mělo 18,6 % dětí. U těchto dětí byl průměrný věk diagnózy AB 3,39 let. Průměrné koncentrace PM_{2,5} v prenatálním období byly 36,2 µg/m³ a v období prvního roku života 35,6 µg/m³.

Výsledky ukazují, že zvýšení koncentrace PM_{2,5} o 10 µg/m³ během prenatálního období a během prvního roku života je pozitivně spojeno s rozvojem AB. Nejvýraznější asociace byly pozorovány během 6. až 22. týdne gestačního období (nejvýraznější vliv byl pozorován ve 12. týdnu) a 9. až 46. týdne po narození (s nejvýraznější asociací ve 36. týdnu života).

6.2 Vliv životního stylu matky na rozvoj astma bronchiale u potomka

Lim s kolegy (2014) na březích myších testovali, zda může stres matky během těhotenství zvýšit náchylnost k rozvoji AB u potomka. Patnáctý den březosti byly stresované myši na 1 hodinu uzavřeny do velmi malého prostoru, ve kterém byla možnost jejich pohybu výrazně omezena. Nestresované myši byly tuto stejnou dobu pouze drženy bez potravy a bez vody. V dalších experimentech byl nestresovaným samičkám 15. den březosti injekčně vpraven

dexametazon, který napodobuje stresový efekt, a v jiném experimentu byl matkám injekčně vpraven metyrapon, který inhibuje syntézu kortikosteronu. Veškeré tyto testy proběhly ve stejnou dobu. Počet mláďat byl podobný u experimentálních i kontrolních skupin.

Potomci byli následně 4. den života podrobena záměrně nízkému suboptimálnímu protokolu pro indukci AB (intraperionální injekce 5 µg ovalbuminu v 1 mg hydroxidu hlinitého), po kterém následovala aplikace 3% aerosolu ovalbuminu 12. – 14. den života. Je známo, že tento protokol má na normální mláďata naprosto minimální vliv. Pozitivní kontroly dostaly další injekci ovalbuminu v hydroxidu hlinitém 9. den života (po aplikaci 2 injekčních protokolů se u daných subjektů rozvine fenotyp podobný astmatu s hyperreaktivitou dýchacích cest). (Negativní kontroly = potomci nestresovaných matek s aplikací jednoho protokolu, pozitivní kontroly = potomci nestresovaných matek po aplikaci 2 protokolů, zkoumané objekty = potomci stresovaných matek)

15. den byly provedeny fyziologické a 16. den patologické analýzy. Testovaly funkci plic myši při zvyšující se koncentraci metacholinu pomocí celotělové pletysmografie. Usmrceným zvířatům byla provedena bronchoalveolární laváž, tekutina byla centrifugována, vzniklá peleta buněk resuspendována a v ní kvantifikován celkový počet buněk pomocí hemocytometru a provedeno diferenciální počítání buněk (počet eozinofilů v 200 napočítaných buňkách). Histopatologicky byly také hodnoceny plíce myši.

Matkám byla 19. den těhotenství odebrána krev pro zhodnocení hladin kortikosteronu, čímž se zjistilo, že stres z pobytu v malém uzavřeném prostoru bez možnosti pohybu způsobil výrazné zvýšení plazmatických hladin kortikosteronu. U matek, které byly předléčeny metyraponem, k tomuto zvýšení nedošlo a vliv stresu matky na potomky se tím zrušil.

Potomci stresovaných matek měly alergický zánět dýchacích cest a zvýšenou citlivost na metacholin. Potomci stresovaných matek tedy vykazovali výrazně zvýšenou náchylnost k astmatu v porovnání s potomky nestresovaných matek.

6.3 Respirační onemocnění a rozvoj astma bronchiale u dětí v raném věku

Jackson s kolegy (2008) ve své studii zkoumali, jak souvisí onemocnění různými virovými patogeny v raném dětství s rozvojem AB u dětí.

Sledovali 259 dětí, u nichž alespoň jeden z rodičů trpěl respirační alergií a/nebo měl diagnostikované AB, narozených v období od listopadu 1998 do května 2000 od narození do 6 let věku. Dětem během plánovaných návštěv a v období akutní respirační infekce prováděli výplach hlenu z nosohltanu. Tyto vzorky byly analyzovány na přítomnost respiračních virů (respiračního syncytiálního viru, rhinoviru, chřipky A a B, enterovirů, viru parainfluenzy, adenoviru, koronavirů a metapneumovirů). Dále byly ve věku 1 a 3 let měřeny alergenově specifické IgE, kdy hodnoty alergen specifického IgE rovny nebo vyšší než 0,35kU/l byly považovány za pozitivní, a ve věku 5 let bylo provedeno kožní prick testování.

Mezi nejčastěji identifikované viry patřily rhinovirus (RV) (48 %) a respirační syncytiální virus (RSV) (21 %).

Ve věku 6 let mělo 28 % dětí, z nichž bylo 63 % chlapců a 37 % dívek, astma. Dle kožního prick testování byla míra senzibilizace u dětí s astmatem a dětí bez astmatu podobná.

U dětí, které trpěly AB ve věku 6 let, se frekvence epizod pískotů, jež byly vyvolány RV v prvních třech letech života zvyšovala, zatímco u dětí, které ve věku 6 let astmatem netrpěly, se tato frekvence snižovala.

Děti, které během kojeneckého věku sípali při onemocnění RV, měly 2,9x vyšší pravděpodobnost rozvoje AB než děti, které při tomto onemocnění nesípaly, ovšem pískoty spojené s onemocněním RSV tuto pravděpodobnost nijak výrazně nezvyšovaly. Ve druhém roce života platily stejné závislosti, ovšem s tím, že děti, které pískaly při onemocnění RV měly riziko rozvoje AB 12,7x vyšší než děti, které nepískaly. Během třetího roku života už výrazně zvyšovalo riziko rozvoje AB také pískání během onemocnění s RSV. Ve vyhodnocení za celé tři první roky života vyšlo, že děti, které pískaly během onemocnění s RSV, měly 2,6x zvýšené riziko rozvoje AB oproti dětem, které během onemocnění s RSV nebo RV nepískaly. Děti, které pískaly při onemocnění virem RV měly 9,8x vyšší riziko rozvoje AB oproti dětem, které během onemocnění těmito viry nepískaly.

6.4 Vliv kvality výživy na rozvoj astma bronchiale

Singh s kolegy (2015) ve své studii zkoumal kvalitu výživy a následný rozvoj metabolického syndromu na rozvoj AB na myších. Myši samci byli nejprve týden aklimatizováni a po tomto týdnu rozděleni po 6 do 3 skupin. První skupina byla kontrolní, druhá skupina

byla na dietě s vysokým obsahem tuku, ve které 60 % energie pocházelo z tuků, a třetí skupina byla na dietě s vysokým obsahem fruktózy, ve které 70 % energie pocházelo z fruktózy. Myši byly takto krmeny 18 týdnů, bylo sledováno jejich chování a jejich váhový přírůstek.

17. týden byly všechny myši zváženy, byl jim změřen krevní tlak pomocí manžety na ocásek a podstoupily měření vydechovaného NO v celotělovém pletysmografu. Dále byl také stanoven podíl hmotnosti tukové tkáně. Po uplynutí 18 týdnů byla změřena hyperreaktivita dýchacích cest, kdy byly myši nejprve plně anestetizovány a následně jim do průdušnice byla zavedena kanyla napojená na ventilátor a byl měřen plicní odpor a elastance. Z krve získané plicní punkcí byla změřena glykémie a v séru byla stanovena hladina cholesterolu, triacylglycerolů a inzulínu. Metodou ELISA byly ve frakci plicního proteinu získané z homogenizované tkáně plic každé skupiny myši a v séru stanoveny hladiny asymetrického dimethylargininu, který soutěží o vazbu na syntázu oxidu dusnatého s L-argininem. Pokud se naváže asymetrický dimethylarginin, vznikají ROS reagující s NO za vzniku reaktivních forem dusíku. Plicní proteiny byly použity také pro Western blot ke stanovení endoteliální syntázy oxidu dusnatého a indukovatelné syntázy NO, které byly dále stanoveny také imunohistochemicky. Byla provedena také histopatologie plic a měření hladiny argininu v plicích pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie, pro kterou byly nutno myším plíce chirurgicky vyříznout, homogenizovat v kapalném dusíku, zlyzovat, centrifugovat a proteiny vysrážet kyselinou trichloroctovou, znovu centrifugovat a odstranit supernatanty a odebrat pelety. Proteinové pelety byly upraveny, hydrolyzovány a připraveny pro analýzu na vysokoúčinném chromatografu a připravené vzorky byly spolu se standardy změřeny.

Myši krmené stravou s vysokým podílem tuků měly více jak 40% nárůst tělesné hmotnosti a zdvojnásobenou tukovou hmotu oproti kontrolám, u myši krmených stravou bohatou na fruktózu nebyl zaznamenán žádný nárůst hmotnosti ani tukové hmoty oproti kontrolním myším. Obě testované skupiny měly výrazně zvýšený cholesterol a inzulín v séru. Myši krmené stravou s vysokým podílem fruktózy měly výrazně zvýšený krevní tlak a plicní rezistenci. Plicní rezistence po stimulaci metacholinem byla zvýšena a vydechované hladiny NO byly naopak sníženy stejně jako poměr L-argininu a asymetrického dimethylargininu, který vyjadřuje biologickou dostupnost argininu pro syntézu NO, v plicích u obou testovaných skupin. Zánětlivé buňky nebyly zvýšeny v plicích ani jedné skupiny, ale obě testované skupiny na speciální dietě měly výrazně zvýšený

obsah subepiteliálního kolagenu v plicích. V závěru autoři uvádějí, že obě skupiny myší, které byly na speciální dietě, měly rozvinutý metabolický syndrom a zároveň také fenotyp podobný astmatu u lidí.

6.5 Vliv předčasného porodu na rozvoj astma bronchiale

Zhang s kolegy (2018) ve své studii založené na průzkumu provedeném v letech 2011 a 2012 zkoumali, jak předčasný porod ovlivňuje rozvoj astma bronchiale u dítěte. Do studie bylo zahrnuto 90 721 (12 % dětí bylo narozeno předčasně, 15 % dětí mělo astma) dětí ve věku 0 – 17 let z území Spojených států Amerických. Údaje (zda bylo dítěti diagnostikováno AB, zda bylo dítě narozeno s nízkou (porodní hmotnost nižší než 2 500 g) nebo normální porodní hmotností, pohlaví dítěte, zda bylo dítě narozeno předčasně (před 37. týdnem těhotenství) nebo v termínu atd.) použité ve studii byly získány v telefonickém průzkumu.

Byla provedena statistická analýza pro určení souvislosti předčasného porodu s rozvojem astmatu, nízké porodní hmotnosti s rozvojem AB a analýza zkoumající vliv obou těchto faktorů současně na rozvoj AB a dále statistická analýza upravená podle rasy a pohlaví dítěte. V neupraveném modelu statistické analýzy měly děti narozené předčasně 1,67x vyšší pravděpodobnost rozvoje astmatu než děti narozené v termínu a děti s nízkou porodní hmotností měly 1,46x vyšší pravděpodobnost rozvoje astmatu oproti dětem s normální porodní váhou (2 500 g a více). Po úpravě dostali autoři výsledky, které říkají, že děti narozené předčasně mají 1,43x vyšší pravděpodobnost rozvoje astmatu než děti narozené v termínu a, že u dětí narozených předčasně a s nízkou porodní hmotností je 1,77x vyšší pravděpodobnost rozvoje astmatu než u dětí narozených v termínu a s normální porodní váhou. Dále bylo také zjištěno, že děti mužského pohlaví měly 1,29x vyšší pravděpodobnost rozvoje astmatu než děti ženského pohlaví.

Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo nastudovat a čtenáři předat informace o onemocnění astma bronchiale v dětském věku, a to konkrétně údaje o patogenezi, diagnostice, léčbě a rizikových faktorech pro rozvoj tohoto onemocnění.

Astma bronchiale je zánětlivé onemocnění, jehož se účastní vrozená i adaptivní imunita. Při tomto onemocnění dochází k remodelaci dýchacích cest, která je pro astma bronchiale charakteristická, a jež má svůj podíl na klinických příznacích. Změny jsou pozorovatelné také na epigenetické úrovni.

Astma bronchiale není možné vyléčit, u pacientů s tímto onemocněním je tedy snaha o takové nastavení léčby, při němž bude onemocnění kontrolované a s co nejméně příznaky. V současné době je dostupných několik typů léků, které je možné k terapii využít. Mezi nejnovější typ léčby patří léčba biologická, při které se využívá protilátek proti receptorům, lidským imunoglobulinům a interleukinům.

Existuje mnoho výzkumů zabývajících se různými rizikovými faktory, které výrazně ovlivňují rozvoj astma bronchiale, ale také spoustu studií, které se věnují protektivním faktorům.

Přes všechny tyto snahy prevalence astmatu neustále roste, hlavně ve vyspělých částech světa. Díky pokrokům v diagnostice a léčbě je mortalita ale nízká. Přesto astma bronchiale může snižovat kvalitu života a neléčené onemocnění může vést až ke smrti pacienta.

Použitá literatura

1. ABSOLONOVÁ, K., MATUCHA, P. a ŠTERZL, I. 2021. Th1, Th2 a Th17 lymfocyty u autoimunitních tyreopatií. *Vnitřní Lékařství*, 67 (8), 23-28.
2. AKAR-GHIBRIL, N., CASALE T., CUSTOVIC A. a PHIPATANAKUL W. Allergic Endotypes and Phenotypes of Asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2020, 8(2), 429-440.
3. AKHOURI, S. a S. A. HOUSE. Allergic Rhinitis. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022, 24.1.2022, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538186/> [2022-05-06].
4. All About Asthma in Children. *JOHNS HOPKINS MEDICINE*. Maryland: JOHNS HOPKINS MEDICINE, 2022. <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/asthma/asthma-in-children> [2022-04-07].
5. ANSOTEGUI, I. J., G. MELIOLI, G. W. CANONICA, et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. *World Allergy Organization Journal*. 2020, 13(2).
6. ATARASHI, K., T. TANOUE, T. SHIMA, et al. Induction of Colonic Regulatory T Cells by Indigenous Clostridium Species. *Science*. 2011, 331(6015), 337-341.
7. AURORA, P., J. STOCKS, C. OLIVER, et al. Quality Control for Spirometry in Preschool Children with and without Lung Disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2004, 169(10), 1152-1159.
8. BACKMAN, K., E. PIIPPO-SAVOLAINEN, H. OLLIKAINEN, et al. Increased asthma risk and impaired quality of life after bronchiolitis or pneumonia in infancy. *Pediatric Pulmonology*. 2014, 49(4), 318-325.
9. BAGNASCO, D., M. FERRANDO, G. VARRICCHI, et al. A Critical Evaluation of Anti-IL-13 and Anti-IL-4 Strategies in Severe Asthma. *International Archives of Allergy and Immunology*. 2016, 170(2), 122-131.
10. BANDERALI, G., A. MARTELLI, M. LANDI, et al. Short and long term health effects of parental tobacco smoking during pregnancy and lactation: a descriptive review. *Journal of Translational Medicine*. 2015, 13(1).
11. BARKO, P.C., M.A. MCMICHAEL, K.S. SWANSON a D.A. WILLIAMS. The Gastrointestinal Microbiome: A Review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2018, 32(1), 9-25.
12. BATEMAN, E. D., S. S. HURD, P. J. BARNES, et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *European Respiratory Journal*. 2008, 31(1), 143-178.
13. BEARD, S. Rhinitis. *Primary Care: Clinics in Office Practice*. 2014, 41(1), 33-46.
14. BERÁNKOVÁ, K. Aktuální pohled na léčbu astmatu u dětí nejnižších věkových skupin. *Pediatric pro praxi*. 2011, 12(5), 306-308.
15. BERENTZEN, N. E., V. L. VAN STOKKOM, U. GEHRING et al. Associations of sugar-containing beverages with asthma prevalence in 11-year-old children: the PIAMA birth cohort. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2015, 69(3), 303-308.
16. BERRIDGE, M. J. Vitamin D cell signalling in health and disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2015, 460(1), 53-71.

17. BEUTHER, D. A. a E. R. SUTHERLAND. Overweight, Obesity, and Incident Asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2007, 175(7), 661-666.
18. BEUTHER, David A. a E. Rand SUTHERLAND. Overweight, Obesity, and Incident Asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2007, 175(7), 661-666.
19. BIASUCCI, G., M. RUBINI, S. RIBONI, et al. Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut. *Early Human Development*. 2010, 86(1), 13-15.
20. BIRCH K. a A.L.PEARSON-SHAVER, Allergy Testing. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537020/> [2022-04-17].
21. BLOTTA, M. H.; DEKRUYFF, R. H.; UMETSU D. T. Corticosteroids inhibit IL-12 production in human monocytes and enhance their capacity to induce IL-4 synthesis in CD4+ lymphocytes. *The Journal of Immunology*. 1997, 158(12), 5589-5595.
22. BOWATTE, G., C. LODGE, A. J. LOWE, et al. The influence of childhood traffic-related air pollution exposure on asthma, allergy and sensitization: a systematic review and a meta-analysis of birth cohort studies. *Allergy*. 2015, 70(3), 245-256.
23. BRAUNOVÁ, J. Alergie na hmyzí bodnutí. *Interní medicína pro praxi*. 2001, 3(4), 153-154.
24. Bronchial Asthma. WebMD. 2021, <https://www.webmd.com/asthma/guide/bronchial-asthma> [2022-05-15].
25. BURGESS, J. K, T. MAUAD, G. TJIN, et al. The extracellular matrix – the under-recognized element in lung disease?. *The Journal of Pathology*. 2016, 240(4), 397-409.
26. BURKE, H., J. LEONARDI-BEE, A. HASHIM, et al. Prenatal and Passive Smoke Exposure and Incidence of Asthma and Wheeze: Systematic Review and Meta-analysis. *Pediatrics*. 2012, 129(4), 735-744.
27. BUSSE, W. W. Biological treatments for severe asthma: A major advance in asthma care. *Allergology International*. 2019, 68(2), 158-166.
28. BUSSE, W. W., Wayne J. MORGAN, P. J. GERGEN, et al. Randomized Trial of Omalizumab (Anti-IgE) for Asthma in Inner-City Children. *New England Journal of Medicine*. 2011, 364(11), 1005-1015.
29. BYSTRONĚ, J. Alergická rýma. https://www.prolekare.cz/kreditovane-kurzy/alerpicka-ryma-26/alerpicka_ryma-22 [2022-02-03].
30. CAIT, A, M R HUGHES, F ANTIGNANO, et al. Microbiome-driven allergic lung inflammation is ameliorated by short-chain fatty acids. *Mucosal Immunology*. 2018, 11(3), 785-795.
31. CALAMELLI, E., L. LIOTTI, I. BEGHETTI, et al. Component-Resolved Diagnosis in Food Allergies. *Medicina*. 2019, 55(8).
32. CALVO, C., M. L. GARCÍA-GARCÍA, C. BLANCO, et al. Role of Rhinovirus in Hospitalized Infants With Respiratory Tract Infections in Spain. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 2007, 26(10), 904-908.
33. CARR, T. F., A. A. ZEKI a M. KRAFT. Eosinophilic and Noneosinophilic Asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2018, 197(1), 22-37.
34. CASTRO, M., J. CORREN, I. D. PAVORD, et al. Dupilumab Efficacy and Safety in Moderate-to-Severe Uncontrolled Asthma. *New England Journal of Medicine*. 2018, 378(26), 2486-2496.

35. Celkové IgE v séru. IKEM. https://www2.ikem.cz/plm_lp/_LP_19629-L0000006.htm [2022-05-15].
36. COLLADO, M.C., S. DELGADO, A. MALDONADO a J.M. RODRÍGUEZ. Assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women by quantitative real-time PCR. *Letters in Applied Microbiology*. 2009, 48(5), 523-528.
37. COOKSON H., GRANELL R., JOINSON C., et al. Mothers' anxiety during pregnancy is associated with asthma in their children. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2009,123(4), 847-853.
38. COSTA, S. M. R., E. ISGANAITIS, T. J. MATTHEWS, et al. Maternal obesity programs mitochondrial and lipid metabolism gene expression in infant umbilical vein endothelial cells. *International Journal of Obesity* . 2016, 40(11), 1627-1634.
39. COWBURN, A. S., K. SLADEK, J. SOJA, et al. Overexpression of leukotriene C4 synthase in bronchial biopsies from patients with aspirin-intolerant asthma. *Journal of Clinical Investigation*. 1998, 101(4), 834-846.
40. CRINER, G. J., B. R. CELLI, C. E. BRIGHTLING, et al. Benralizumab for the Prevention of COPD Exacerbations. *New England Journal of Medicine*. 2019, 381(11), 1023-1034.
41. D'AMATO, M., L. CECCHI, I. ANNESI-MAESANO a G. D'AMATO. News on Climate Change, Air Pollution, and Allergic Triggers of Asthma. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*. 2018, 28(2), 91-97.
42. DAŇKOVÁ, J. Dendritické buňky a jejich využití v lékařské praxi. Brno, 2009. Diplomová práce. MASARYKOVA UNIVERZITA- PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA.
43. DE JONG, C. C.M., E. S.L. PEDERSEN, R. MOZUN, et al. Diagnosis of asthma in children: the contribution of a detailed history and test results. *European Respiratory Journal*. 2019, 54(6).
44. DENCKER, M., L. P. MALMBERG, S. VALIND, et al. Reference values for respiratory system impedance by using impulse oscillometry in children aged 2-11 years. *Clinical Physiology and Functional Imaging*. 2006, 26(4), 247-250.
45. DICKSON, R. P., J. R. ERB-DOWNWARD, F. J. MARTINEZ a G. B. HUFFNAGLE. The Microbiome and the Respiratory Tract. *Annual Review of Physiology*. 2016, 78(1), 481-504.
46. DODIG, S. a I. ČEPELAK. The potential of component-resolved diagnosis in laboratory diagnostics of allergy. *Biochemia Medica*. 2018, 28(2).
47. DOMINGUEZ-BELLO, M. G., E. K. COSTELLO, M. CONTRERAS, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010, 107(26), 11971-11975.
48. DUMAS, O., R. VARRASO, M. W. GILLMAN, et al. Longitudinal study of maternal body mass index, gestational weight gain, and offspring asthma. *Allergy*. 2016, 71(9), 1295-1304.
49. DURACK, J., L. S. CHRISTIAN, S. NARIYA, et al. Distinct associations of sputum and oral microbiota with atopic, immunologic, and clinical features in mild asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2020, 146(5), 1016-1026.
50. D'VAZ, N., S. J. MELDRUM, J. A. DUNSTAN, et al. Fish oil supplementation in early infancy modulates developing infant immune responses. *Clinical & Experimental Allergy*. 2012, 42(8), 1206-1216.

51. DWEIK, R. A., P. B. BOGGS, S. C. ERZURUM, et al. An Official ATS Clinical Practice Guideline. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2011, 184(5), 602-615.
52. EIFAN, A. O. a S. R. DURHAM. Pathogenesis of rhinitis. *Clinical & Experimental Allergy*. 2016, 46(9), 1139-1151.
53. EIGEN, H., H. BIELER, D. GRANT, et al. Spirometric Pulmonary Function in Healthy Preschool Children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2001, 163(3), 619-623
54. EIRINGHAUS, K., H. RENZ, P. MATRICARDI a C. SKEVAKI. Component-Resolved Diagnosis in Allergic Rhinitis and Asthma. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*. 2019, 3(5), 883-898.
55. ELENKOV I.J. Glucocorticoids and the Th1/Th2 balance. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2004, 1024 (1):138-146.
56. ESTEBAN-GORGOJO, I., D. ANTOLÍN-AMÉRIGO, J. DOMÍNGUEZ-ORTEGA a S. QUIRCE. Non-eosinophilic asthma: current perspectives. *Journal of Asthma and Allergy*. 2018, 11, 267-281.
57. EVERAERE, L., S. AIT-YAHIA, O. MOLENDI-COSTE, et al. Innate lymphoid cells contribute to allergic airway disease exacerbation by obesity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2016, 138(5), 1309-1318.
58. FAHY, J. V. Remodeling of the Airway Epithelium in Asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2001, 164(2), 46-51.
59. FERENČÍK, M. Imunitní systém: informace pro každého. Vyd. 1. české. Praha: Grada, 2005, 139-160. ISBN 80-247-1196-6.
60. FITZGERALD, J.M., E. R BLEECKER, P. NAIR, et al. Benralizumab, an anti-interleukin-5 receptor α monoclonal antibody, as add-on treatment for patients with severe, uncontrolled, eosinophilic asthma (CALIMA): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *The Lancet* 2016, 388(10056), 2128-2141.
61. FITZPATRICK, A. M., C. E. BAENA-CAGNANI a L. B. BACHARIER. Severe asthma in childhood. *Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology*. 2012, 12(2), 193-201.
62. FLAHERMAN, V. A meta-analysis of the effect of high weight on asthma. *Archives of Disease in Childhood*. 2006, 91(4), 334-339.
63. FORNO, E., O. M. YOUNG, R. KUMAR, et al. Maternal Obesity in Pregnancy, Gestational Weight Gain, and Risk of Childhood Asthma. *Pediatrics*. 2014, 134(2), 535-546.
64. FORNO, E., Y.-Y. HAN, J. MULLEN a J. C. CELEDÓN. Overweight, Obesity, and Lung Function in Children and Adults—A Meta-analysis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2018, 6(2), 570-581.
65. FRATI, F., C. SALVATORI, C. INCORVAIA, et al. The Role of the Microbiome in Asthma: The Gut–Lung Axis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, 20(1). ISSN 1422-0067.
66. FREIER, E., C. S. WEBER, U. NOWOTTNE, et al. Decrease of CD4+FOXP3+ T regulatory cells in the peripheral blood of human subjects undergoing a mental stressor. *Psychoneuroendocrinology*. 2010, 35(5), 663-673.

67. GALANT, S. P., H. D. KOMAROW, H.-W. SHIN, et al. The case for impulse oscillometry in the management of asthma in children and adults. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2017, 118(6), 664-671.
68. GALLUCCI, M., P. CARBONARA, A. M. G. PACILLI, et al. Use of Symptoms Scores, Spirometry, and Other Pulmonary Function Testing for Asthma Monitoring. *Frontiers in Pediatrics*. 2019, 7 (54).
69. GILLILAND, F. D. Obesity and the Risk of Newly Diagnosed Asthma in School-age Children. *American Journal of Epidemiology*. 2003, 158(5), 406-415.
70. Global Initiative for Asthma, Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2021, www.ginasthma.org [2022-04-20].
71. GOEDICKE-FRITZ, S., C. HÄRTEL, G. KRASTEVA-CHRIST, et al. Preterm Birth Affects the Risk of Developing Immune-Mediated Diseases. *Frontiers in Immunology*. 2017, 8 (1266).
72. GOKSÖR, E., M. ÅMARK, B. ALM, et al. High risk of adult asthma following severe wheezing in early life. *Pediatric Pulmonology*. 2015, 50(8), 789-797.
73. GREEN, B. J., S. WIRIYACHAIPORN, C. GRAINGE, et al. Potentially Pathogenic Airway Bacteria and Neutrophilic Inflammation in Treatment Resistant Severe Asthma. *PLoS ONE*. 2014, 9(6).
74. GUILBERT, T. W., L. B. BACHARIER a A. M. FITZPATRICK. Severe Asthma in Children. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2014, 2(5), 489-500.
75. GUNAWARDHANA, L. P, P. G GIBSON, J. L SIMPSON, et al. Characteristic DNA methylation profiles in peripheral blood monocytes are associated with inflammatory phenotypes of asthma. *Epigenetics*. 2014, 9(9), 1302-1316.
76. GUPTA, A., A. SJOUKES, D. RICHARDS, et al. Relationship between Serum Vitamin D, Disease Severity, and Airway Remodeling in Children with Asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2011, 184(12), 1342-1349.
77. GUTOVÁ, V. Současný přístup k diagnostice a léčbě atopického ekzému. *Dermatologie pro praxi*. 2010, 4 (1), 10-14.
78. HALL, S. C. a D. K. AGRAWAL. Vitamin D and Bronchial Asthma: An Overview of Data From the Past 5 Years. *Clinical Therapeutics*. 2017, 39(5), 917-929.
79. HAN, Y.-Y., E. FORNO, J. M. BREHM, et al. Diet, interleukin-17, and childhood asthma in Puerto Ricans. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2015, 115(4), 288-293.
80. HANSEN, C. H. F., L. S. F. ANDERSEN, Ł. KRYCH, et al. Mode of Delivery Shapes Gut Colonization Pattern and Modulates Regulatory Immunity in Mice. *The Journal of Immunology*. 2014, 193(3), 1213-1222.
81. HARB, H. a T. A. CHATILA. Mechanisms of Dupilumab. *Clinical & Experimental Allergy*. 2019, 50(1), 5-14.
82. HASEGAWA, K., Y TSUGAWA, B. L. LOPEZ, et al. Body Mass Index and Risk of Hospitalization among Adults Presenting with Asthma Exacerbation to the Emergency Department. *Annals of the American Thoracic Society*. 2014, 11(9), 1439-1444.
83. HEIJINK, I., A. VAN OOSTERHOUT, N. KLIPHUIS, et al. Oxidant-induced corticosteroid unresponsiveness in human bronchial epithelial cells. *Thorax*. 2013, 69(1), 5-13.

84. HEINZERLING, L., A. MARI, K.-C. BERGMANN, et al. The skin prick test – European standards. *Clinical and Translational Allergy*. 2013, 3(1).
85. HEINZERLING, L., A. MARI, K.-C. BERGMANN, et al. The skin prick test – European standards. *Clinical and Translational Allergy*. 2013, 3(1).
86. HELOU, D. G., P. SHAFIEI-JAHANI, R. LO, et al. PD-1 pathway regulates ILC2 metabolism and PD-1 agonist treatment ameliorates airway hyperreactivity. *Nature Communications*. 2020, 11(1).
87. HEMMINGS, O., M. KWOK, R. MCKENDRY a A. F. SANTOS. Basophil Activation Test: Old and New Applications in Allergy. *Current Allergy and Asthma Reports*. 2018, 18(12).
88. HILTY, M., C. BURKE, H. PEDRO, et al. Disordered Microbial Communities in Asthmatic Airways. *PLoS ONE*. 2010, 5(1).
89. HINKS, T. S.C., S. J. LEVINE a G. G. BRUSSELLE. Treatment options in type-2 low asthma. *European Respiratory Journal*. 2021, 57(1).
90. HO, W.-C., Y.-S. LIN, J. L CAFFREY, et al. Higher body mass index may induce asthma among adolescents with pre-asthmatic symptoms: a prospective cohort study. *BMC Public Health*. 2011, 11(1).
91. HOLT, P. G., J. W. UPHAM a P. D. SLY. Contemporaneous maturation of immunologic and respiratory functions during early childhood: Implications for development of asthma prevention strategies. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2005, 116(1), 16-24.
92. HOMER, R. J. a J. A. ELIAS. Airway Remodeling in Asthma: Therapeutic Implications of Mechanisms. *Physiology*. 2005, 20(1), 28-35.
93. HOYTE, F. C. L. a H. S. NELSON. Recent advances in allergic rhinitis. *F1000Research*. 2018, 7 (1333).
94. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2016/20160909135675/anx_135675_cs.pdf [2022-05-15].
95. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/cinquaero-epar-product-information_cs.pdf [2022-05-15].
96. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/dupixent-epar-product-information_cs.pdf [2022-05-15].
97. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/fasenra-epar-product-information_cs.pdf [2022-05-15].
98. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/nucala-epar-product-information_cs.pdf [2022-05-15].
99. HUANG, Y. J. a H. A. BOUSHEY. The microbiome in asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2015, 135(1), 25-30.
100. HUANG, Y. J., S. NARIYA, J. M. HARRIS, et al. The airway microbiome in patients with severe asthma: Associations with disease features and severity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2015, 136(4), 874-884.
101. HUFNAGL, K., I. PALI-SCHÖLL, F. ROTH-WALTER a E. JENSEN-JAROLIM. Dysbiosis of the gut and lung microbiome has a role in asthma. *Seminars in Immunopathology*. 2020, 42(1), 75-93.
102. HUMBERG, A., I. FORTMANN, B. SILLER, et al. Preterm birth and sustained inflammation: consequences for the neonate. *Seminars in Immunopathology*. 2020, 42(4), 451-468.

103. HYNES, G. M. a T. S.C. HINKS. The role of interleukin-17 in asthma: a protective response?. *ERJ Open Research*. 2020, 6(2).
104. CHAUDHURI, R., C. MCSHARRY, J. BRADY, et al. Sputum matrix metalloproteinase-12 in patients with chronic obstructive pulmonary disease and asthma: Relationship to disease severity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2012, 129(3), 655-663.e8.
105. CHEN, W., N. BOUTAOUI, J. M. BREHM, et al. ADCYAP1R1 and Asthma in Puerto Rican Children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2013, 187(6), 584-588.
106. CHIDA, Y., N. SUDO, J. SONODA, et al. Early-Life Psychological Stress Exacerbates Adult Mouse Asthma via the Hypothalamus–Pituitary–Adrenal Axis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2007, 175(4), 316-322.
107. Childhood Asthma. WebMD. 2021, <https://www.webmd.com/asthma/children-asthma> [2022-04-15].
108. CHLÁDKOVÁ, J. Současný pohled na průduškovou obstrukci a astma u dětí. *Pediatric pro praxi*. 2011, 12(1), 8-11.
109. CHUN, Y., A. DO, G. GRISHINA, et al. Integrative study of the upper and lower airway microbiome and transcriptome in asthma. *JCI Insight*. 2020, 5(5).
110. CHUNG, K. F., S. E. WENZEL, J. L. BROZEK, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *European Respiratory Journal*. 2014, 43(2), 343-373.
111. CHVOSTOVÁ, J. Nové možnosti léčby bronchiální. Hradec Králové, 2009. Diplomová práce. UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ.
112. JACKSON, D. J., R. E. GANGNON, M. D. EVANS, et al. Wheezing Rhinovirus Illnesses in Early Life Predict Asthma Development in High-Risk Children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2008, 178(7), 667-672.
113. JANÍČKOVÁ, H. Akutní astma. *Pediatric pro praxi*. 2001, 2001(3), 124-128.
114. JAT, K. R. Spirometry in children. *Primary Care Respiratory Journal*. 2013, 22(2), 221-229.
115. JONES, B. a J. CHEN. Inhibition of IFN- γ transcription by site-specific methylation during T helper cell development. *The EMBO Journal*. 2006, 25(11), 2443-2452. ISSN 0261-4189.
116. JUNG, C.-R., W.-T. CHEN, Y.-H. TANG a B.-F. HWANG. Fine particulate matter exposure during pregnancy and infancy and incident asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2019, 143(6), 2254-2262.
117. KALCHIEM-DEKEL, O., X. YAO a S. J. LEVINE. Meeting the Challenge of Identifying New Treatments for Type 2-Low Neutrophilic Asthma. *Chest Journal*. 2020, 157(1), 26-33.
118. KAPLANSKI, G. Interleukin-18: Biological properties and role in disease pathogenesis. *Immunological Reviews*. 2018, 281(1), 138-153. ISSN 01052896.
119. KARIYAWASAM, H. H. a D. S. ROBINSON. The role of eosinophils in airway tissue remodelling in asthma. *Current Opinion in Immunology*. 2007, 19(6), 681-686.
120. KAŠÁK, V. Bronchiální astma. *Medicína pro praxi*. 2010, 7 (8), 319-321.
121. KAŠÁK, V. Bronchiální astma. *Medicína pro praxi*. 2010, 7(8-9), 319-321.
122. KATO, A. Group 2 Innate Lymphoid Cells in Airway Diseases. *Chest Journal*. 2019, 156(1), 141-149.

123. KIKUCHI, I., S. KIKUCHI, T. KOBAYASHI, et al. Eosinophil Trans-Basement Membrane Migration Induced by Interleukin-8 and Neutrophils. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2006, 34(6), 760-765.
124. KIM, B.-J. a H. P. JONES. Epinephrine-primed murine bone marrow-derived dendritic cells facilitate production of IL-17A and IL-4 but not IFN- γ by CD4⁺ T cells. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2010, 24(7), 1126-1136.
125. KIM, H. Y., H. J. LEE, Y.-J. CHANG, et al. Interleukin-17-producing innate lymphoid cells and the NLRP3 inflammasome facilitate obesity-associated airway hyperreactivity. *Nature Medicine*. 2014, 20(1), 54-61.
126. KIM, H., A. R. SITARIK, K. WOODCROFT, et al. Birth Mode, Breastfeeding, Pet Exposure, and Antibiotic Use: Associations With the Gut Microbiome and Sensitization in Children. *Current Allergy and Asthma Reports*. 2019, 19(4).
127. KISTEMAKER, L. E.M. a R. GOSENS. Acetylcholine beyond bronchoconstriction: roles in inflammation and remodeling. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2015, 36(3), 164-171.
128. KNIBBS, L. D., A. M. CORTÉS DE WATERMAN, B. G. TOELLE, et al. The Australian Child Health and Air Pollution Study (ACHAPS): A national population-based cross-sectional study of long-term exposure to outdoor air pollution, asthma, and lung function. *Environment International*. 2018, 120, 394-403.
129. KOMAROW, H. D., I. A. MYLES, A. UZZAMAN a D. D. METCALFE. Impulse oscillometry in the evaluation of diseases of the airways in children. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2011, 106(3), 191-199.
130. KOMAROW, H. D., J. SKINNER, M. YOUNG, et al. A study of the use of impulse oscillometry in the evaluation of children with asthma: Analysis of lung parameters, order effect, and utility compared with spirometry. *Pediatric Pulmonology*. 2012, 47(1), 18-26.
131. KONDO, Y., T. YOSHIMOTO, K. YASUDA, et al. Administration of IL-33 induces airway hyperresponsiveness and goblet cell hyperplasia in the lungs in the absence of adaptive immune system. *International Immunology*. 2008, 20(6), 791-800.
132. KOPELENTOVÁ, E. a E. VERNEROVÁ. Potravinové alergie z pohledu alergologa. *Medicína pro praxi*. 2016, 13 (5), 242-247.
133. KORPPI, M. Bronchial Asthma and Hyperreactivity After Early Childhood Bronchiolitis or Pneumonia. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*. 1994, 148(10), 1079-1084.
134. KRČMOVÁ, I. a J. NOVOSAD. Alergická rýma a alergické bronchiální astma, astmatický ekvivalent. *Medicína pro praxi*. 2013, 10(8-9), 286-290.
135. KRČMOVÁ, I. a J. NOVOSAD. Bronchiální astma – praktické aspekty. *Interní medicína pro praxi*. 2010, 12(4), 196-199.
136. KRČMOVÁ, I. a J. NOVOSAD. Některé diagnostické aspekty bronchiálního astmatu. *Medicína pro praxi*. 2014, 11 (5), 200-3.
137. KRČMOVÁ, I., V. ŠPIČÁK a V. KAŠÁK. ASTHMA BRONCHIALE. *Interní medicína pro praxi*. 2001, 2001(10), 442-445.
138. KUNEŠOVÁ, V. Antihistamines indicated for systemic and topical treatment. *Praktické lékařství*. 2020, 16(2), 67-73.
139. KURUVILLA, M. E., F. E.-H. LEE a G. B. LEE. Understanding Asthma Phenotypes, Endotypes, and Mechanisms of Disease. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2019, 56(2), 219-233.

140. KYRIAKOPOULOS, C., A. GOGALI, K. BARTZIOKAS a K. KOSTIKAS. Identification and treatment of T2-low asthma in the era of biologics. *ERJ Open Research*. 2021, 7(2).
141. LACEY, M. a M. MISTRÍK. Molekulárně genetický pohled na podstatu buněčné senescence v kontextu stárnutí organismu. *Časopis Lékařů českých*. 2020, 159(2), 88-92.
142. LAL, G., N. ZHANG, W. VAN DER TOUW, et al. Epigenetic Regulation of Foxp3 Expression in Regulatory T Cells by DNA Methylation. *The Journal of Immunology*. 2008, 182(1), 259-273.
143. LAMBRECHT, B. N., H. HAMMAD a J. V. FAHY. The Cytokines of Asthma. *Immunity*. 2019, 50(4), 975-991.
144. LEE, C. G., H. LINK, P. BALUK, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces remodeling and enhances Th2-mediated sensitization and inflammation in the lung. *Nature Medicine*. 2004, 10(10), 1095-1103.
145. LEMANSKE JR., R. F., D. J. JACKSON, R. E. GANGNON, et al. Rhinovirus illnesses during infancy predict subsequent childhood wheezing. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2005, 116(3), 571-577.
146. LEMANSKE, R. F., D. T. MAUGER, C. A. SORKNESS, et al. Step-up Therapy for Children with Uncontrolled Asthma Receiving Inhaled Corticosteroids. *New England Journal of Medicine*. 2010, 362(11), 975-985.
147. LEÓN, B. a A. BALLESTEROS-TATO. Modulating Th2 Cell Immunity for the Treatment of Asthma. *Frontiers in Immunology*. 2021, 12 (637948).
148. LICARI, A., S. MANTI, R. CASTAGNOLI, et al. Immunomodulation in Pediatric Asthma. *Frontiers in Pediatrics*. 2019, 7 (289).
149. LIM R., A.V. FEDULOV, L. KOBZIK. Maternal stress during pregnancy increases neonatal allergy susceptibility: role of glucocorticoids. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2014, 307(2), 141-148.
150. LIU, J., M. BALLANEY, U. AL-ALEM, et al. Combined Inhaled Diesel Exhaust Particles and Allergen Exposure Alter Methylation of T Helper Genes and IgE Production In Vivo. *Toxicological Sciences*. 2008, 102(1), 76-81.
151. LLUIS, A., M. DEPNER, B. GAUGLER, et al. Increased regulatory T-cell numbers are associated with farm milk exposure and lower atopic sensitization and asthma in childhood. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2014, 133(2), 551-559.
152. LO, C.-Y., C. MICHAELOUDES, P. K. BHAVSAR, et al. Increased phenotypic differentiation and reduced corticosteroid sensitivity of fibrocytes in severe asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2015, 135(5), 1186-1195.
153. LØDRUP CARLSEN, K. C., J. J. K. JAAKKOLA, P. NAFSTAD a K.-H. CARLSEN. In utero exposure to cigarette smoking influences lung function at birth. *European Respiratory Journal*. 1997, 10(8), 1774-1779.
154. LOGOTHETI, M., P. AGIOUTANTIS, P. KATSAOUNOU a H. LOUTRARI. Microbiome Research and Multi-Omics Integration for Personalized Medicine in Asthma. *Journal of Personalized Medicine*. 2021, 11(12).
155. LOVERDOS, K., G. BELLOS, L. KOKOLATOU, et al. Lung Microbiome in Asthma: Current Perspectives. *Journal of Clinical Medicine*. 2019, 8(11).
156. LU, K. D., P. N. BREYSSE, G. B. DIETTE, et al. Being overweight increases susceptibility to indoor pollutants among urban children with asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2013, 131(4), 1017-1023.

157. LUND, S. J., A. PORTILLO, K. CAVAGNERO, et al. Leukotriene C4 Potentiates IL-33–Induced Group 2 Innate Lymphoid Cell Activation and Lung Inflammation. *The Journal of Immunology*. 2017, 199(3), 1096-1104.
158. MAAZI, H., N. PATEL, I. SANKARANARAYANAN, et al. ICOS: ICOS-Ligand Interaction Is Required for Type 2 Innate Lymphoid Cell Function, Homeostasis, and Induction of Airway Hyperreactivity. *Immunity*. 2015, 42(3), 538-551.
159. MACHOVCOVÁ, A. Kontaktní dermatitidy: část II: epikutánní testy v současné praxi. *Česko- Slovenská dermatologie*. 2016, 91(5), 207- 221.
160. MALTI, N., H. MERZOUK, S.A. MERZOUK, et al. Oxidative stress and maternal obesity: Feto-placental unit interaction. *Placenta*. 2014, 35(6), 411-416.
161. MANNINO, D. M., J. MOTT, J. M. FERDINANDS, et al. Boys with high body masses have an increased risk of developing asthma: findings from the National Longitudinal Survey of Youth (NLSY). *International Journal of Obesity*. 2006, 30(1), 6-13.
162. MATHIEU, E., U. ESCRIBANO-VAZQUEZ, D. DESCAMPS, et al. Paradigms of Lung Microbiota Functions in Health and Disease, Particularly, in Asthma. *Frontiers in Physiology*. 2018, 9 (1168).
163. MEDSKER, B., E. FORNO, H. SIMHAN a J. C. CELEDÓN. Prenatal Stress, Prematurity, and Asthma. *Obstetrical & Gynecological Survey*. 2015, 70(12), 773-779.
164. MENDEZ, R., S. BANERJEE, S. K. BHATTACHARYA a S. BANERJEE. Lung inflammation and disease: A perspective on microbial homeostasis and metabolism. *IUBMB Life*. 2019, 71(2), 152-165.
165. Methacholine Challenge Test. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2021, 14.8.2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547716/> [2022-04-14].
166. MICHALIK, M., K. WÓJCIK-PSZCZOŁA, M. PAW, et al. Fibroblast-to-myofibroblast transition in bronchial asthma. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2018, 75(21), 3943-3961.
167. MICHALIKOVÁ, B. KMENOVÉ A PROGENITOROVÉ BUŇKY PLIC. Brno, 2016. Bakalářská práce. MASARYKOVA UNIVERZITA Přírodovědecká fakulta.
168. MILGROM, H., W. BERGER, A. NAYAK, et al. Treatment of Childhood Asthma With Anti-Immunoglobulin E Antibody (Omalizumab). *Pediatrics*. 2001, 108(2), 36-36.
169. MILIKU, K. a M. AZAD. Breastfeeding and the Developmental Origins of Asthma: Current Evidence, Possible Mechanisms, and Future Research Priorities. *Nutrients*. 2018, 10(8).
170. MOORE, L. D, T. LE a G. FAN. DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacology*. 2013, 38(1), 23-38.
171. MOSSAVI, S., K. MILIKU, S. SEPEHRI, et al. The Prebiotic and Probiotic Properties of Human Milk: Implications for Infant Immune Development and Pediatric Asthma. *Frontiers in Pediatrics*. 2018, 6 (197).
172. MORAL, L., M. ASENSI MONZÓ, J. C. JULIÁ BENITO, et al. Pediatric asthma: The REGAP consensus. *Anales de Pediatría (English Edition)*. 2021, 95(2), 125-125.
173. MORITA, H., S. NAKAE, H. SAITO a K. MATSUMOTO. IL-33 in clinical practice: Size matters?. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2017, 140(2), 381-383.
174. MURDACA, G., A. GEROSA, F. PALADIN, et al. Vitamin D and Microbiota: Is There a Link with Allergies?. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, 22(8).

175. MUTHUPALANIAPPEN, L. a A. JAMIL. Prick, patch or blood test? A simple guide to allergy testing. *Malaysian Family Physician*. 2021, 16(2), 19-26.
176. NADEAU, K., C. MCDONALD-HYMAN, E. M. NOTH, et al. Ambient air pollution impairs regulatory T-cell function in asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010, 126(4), 845-852.
177. NAGATA, M., J. B. SEDGWICK, H. KITA a W. W. BUSSE. Granulocyte Macrophage Colony-stimulating Factor Augments ICAM-1 and VCAM-1 Activation of Eosinophil Function. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 1998, 19(1), 158-166.
178. NAKAGOME, K. a M. NAGATA. Involvement and Possible Role of Eosinophils in Asthma Exacerbation. *Frontiers in Immunology*. 2018, 9 (2220).
179. NAKAGOME, K. a M. NAGATA. Pathogenesis of airway inflammation in bronchial asthma. *Auris Nasus Larynx*. 2011, 38(5), 555-563.
180. NAKAMURA, Y., J. TAMAOKI, H. NAGASE, et al. Japanese guidelines for adult asthma 2020. *Allergology International*. 2020, 69(4), 519-548.
181. NEWCOMB, D. C a R S. PEEBLES. Th17-mediated inflammation in asthma. *Current Opinion in Immunology*. 2013, 25(6), 755-760.
182. O'BYRNE, P. M., S. PEDERSEN, C. J. LAMM, et al. Severe Exacerbations and Decline in Lung Function in Asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2009, 179(1), 19-24.
183. ODDY, W. H. Breastfeeding, Childhood Asthma, and Allergic Disease. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2017, 70 (2), 26-36.
184. OGBUANU, I. U., W. KARMAUS, S. H. ARSHAD, et al. Effect of breastfeeding duration on lung function at age 10 years: a prospective birth cohort study. *Thorax*. 2008, 64(1), 62-66.
185. OHNO, I. Neuropsychiatry phenotype in asthma: Psychological stress-induced alterations of the neuroendocrine-immune system in allergic airway inflammation. *Allergology International*. 2017, 66, 2-8.
186. OKABE, Y., Y. ADACHI, T. ITAZAWA, et al. Association between obesity and asthma in Japanese preschool children. *Pediatric Allergy and Immunology* . 2012, 23(6), 550-555.
187. OKUBO, K., Y. KURONO, K. ICHIMURA, et al. Japanese guidelines for allergic rhinitis 2020. *Allergology International*. 2020, 69(3), 331-345.
188. OKUBO, Y., K. NOCHIOKA, H. HATAYA, et al. Burden of Obesity on Pediatric Inpatients with Acute Asthma Exacerbation in the United States. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2016, 4(6), 1227-1231
189. OKUBO, Y., N. MICHIHATA, K. YOSHIDA, et al. Impact of pediatric obesity on acute asthma exacerbation in Japan. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2017, 28(8), 763-767.
190. ORTEGA, H. G., M. C. LIU, I. D. PAVORD, et al. Mepolizumab Treatment in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *New England Journal of Medicine*. 2014, 371(13), 1198-1207.
191. PAREDI, P., S. A. KHARITONOV a P. J. BARNES. Elevation of Exhaled Ethane Concentration in Asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2000, 162(4), 1450-1454.

192. PASCUAL, M., M. SUZUKI, M. ISIDORO-GARCIA, et al. Epigenetic changes in B lymphocytes associated with house dust mite allergic asthma. *Epigenetics*. 2014, 6(9), 1131-1137.
193. PAUWELS, R. A, S. PEDERSEN, W. W BUSSE, et al. Early intervention with budesonide in mild persistent asthma: a randomised, double-blind trial. *The Lancet* 2003, 361(9363), 1071-1076.
194. PAVELEK, Z. a M. VALIŠ, Základní diagnostika a léčba roztroušené sklerózy. *Medicína pro praxi*. Solen, 2015, 12(2), 77-82.
195. PEEBLES, R. S. a M. A. ARONICA. Proinflammatory Pathways in the Pathogenesis of Asthma. *Clinics in Chest Journal Medicine*. 2019, 40(1), 29-50.
196. PELAIA, G., A. VATRELLA, M. T. BUSCETI, et al. Cellular Mechanisms Underlying Eosinophilic and Neutrophilic Airway Inflammation in Asthma. *Mediators of Inflammation*. 2015, 2015 (879783), 1-8.
197. PENDERS, J., C. THIJS, C. VINK, et al. Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota in Early Infancy. *Pediatrics*. 2006, 118(2), 511-521.
198. PETRŮ, V. Co víme o dětském astmatu. *Pediatric pro Praxi*. 2008, 9 (3), 148-150.
199. PETRŮ, V. MODERNÍ DIAGNOSTIKA A LÉČBA ODERNÍ DIAGNOSTIKA A LÉČBA BRONCHIÁLNÍHO ASTMATU U DĚTÍ. *Ambulantná terapie*. 2006, 5(2), 111-114.
200. POHL, J. Astma bronchiale. *Pediatric pro praxi*. 2001, 5 (2), 234-237.
201. POLOSA, R. a N. C. THOMSON. Smoking and asthma: dangerous liaisons. *European Respiratory Journal*. 2013, 41(3), 716-726.
202. PONČÁKOVÁ, I. Current treatment options for allergies in children. *Pediatric pro praxi*. 2021, 22(2), 105-111.
203. POPOVIĆ-GRLE, S., A. ŠTAJDUHAR, M. LAMPALO a D. RNJAK. Biomarkers in Different Asthma Phenotypes. *Genes*. 2021, 12(6).
204. PROTUDJER, J. L.P., G. P. SEVENHUYSEN, C. D. RAMSEY, et al. Low vegetable intake is associated with allergic asthma and moderate-to-severe airway hyperresponsiveness. *Pediatric Pulmonology*. 2012, 47(12), 1159-1169.
205. RIDER, C. F. a C. CARLSTEN. Air pollution and DNA methylation: effects of exposure in humans. *Clinical Epigenetics*. 2019, 11(1).
206. ROSA, M. J., A. G. LEE a R. J. WRIGHT. Evidence establishing a link between prenatal and early-life stress and asthma development. *Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology*. 2018, 18(2), 148-158.
207. ROSS, K. R., R. GUPTA, M. D. DEBOER, et al. Severe asthma during childhood and adolescence: A longitudinal study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2020, 145(1), 140-146.
208. ROUND, J. L. a S. K. MAZMANIAN. Inducible Foxp3 + regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010, 107(27), 12204-12209.
209. ROYER, J. F., P. SCHRATL, S. LORENZ, et al. A novel antagonist of CRTH2 blocks eosinophil release from bone marrow, chemotaxis and respiratory burst. *Allergy*. 2007, 62(12), 1401-1409.

210. SACHDEVA, K., D. C. DO, Y. ZHANG, et al. Environmental Exposures and Asthma Development: Autophagy, Mitophagy, and Cellular Senescence. *Frontiers in Immunology*. 2019, 10 (2787).
211. SAITO, A., H. OKAZAKI, I. SUGAWARA, et al. Potential Action of IL-4 and IL-13 as Fibrogenic Factors on Lung Fibroblasts in vitro. *International Archives of Allergy and Immunology*. 2003, 132(2), 168-176.
212. SEDLÁČKOVÁ, L., B. NOVOTNÁ, J. PAUKERT, et al. Kožní testy v diagnostice lékové alergie: Doporučení Pracovní skupiny pro lékové alergie ČSAKI. *Alergie*. 2015, 2015(4), 268-276.
213. SEDLÁK, V. Sledování zánětu dýchacích cest u pacientů s různými formami bronchiální obstrukce: Sledování ukazatelů oxidativního stresu v kondenzátu vydechaného vzduchu u pacientů s těžkým refrakterním astmatem. Hradec Králové, 2013. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové.
214. SHAH, M., STANFORD a D'SOUZA. Fluticasone propionate-salmeterol versus inhaled corticosteroids plus montelukast: outcomes study in pediatric patients with asthma. *Journal of Asthma and Allergy*. 2013, 2013 (6), 1-10.
215. SCHLEICH, F., S. DEMARCHE a R. LOUIS. Biomarkers in the Management of Difficult Asthma. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2016, 16(14), 1561-1573.
216. SIDHU, S. S., S. YUAN, A. L. INNES, et al. Roles of epithelial cell-derived periostin in TGF- β activation, collagen production, and collagen gel elasticity in asthma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010, 107(32), 14170-14175.
217. SIGURS, N., P. M. GUSTAFSSON, R. BJARNASON, et al. Severe Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis in Infancy and Asthma and Allergy at Age 13. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2005, 171(2), 137-141.
218. SIM, Y. S., J.-H. LEE, W.-Y. LEE, et al. Spirometry and Bronchodilator Test. *Tuberculosis and Respiratory Diseases*. 2017, 80(2), 105-112.
219. SIN, B. a A. TOGIAS. Pathophysiology of Allergic and Nonallergic Rhinitis. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2011, 8(1), 106-114.
220. SINGH, D., A. RAVI a T. SOUTHWORTH. CRTh2 antagonists in asthma: current perspectives. *Clinical Pharmacology: Advances and Applications*. 2017, 9, 165-173.
221. SINGH, V. P., R. AGGARWAL, S. SINGH, et al. Metabolic Syndrome Is Associated with Increased Oxo-Nitrative Stress and Asthma-Like Changes in Lungs. *PLOS ONE*. 2015, 10(6).
222. SMITH, S. G., R. CHEN, M. KJARSGAARD, et al. Increased numbers of activated group 2 innate lymphoid cells in the airways of patients with severe asthma and persistent airway eosinophilia. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2016, 137(1), 75-86.
223. SONG, J.-S., J.-S. YOU, S.-I. JEONG, et al. Serum periostin levels correlate with airway hyper-responsiveness to methacholine and mannitol in children with asthma. *Allergy*. 2015, 70(6), 674-681.
224. SONNENBERG-RIETHMACHER, E., M. MIEHE a D. RIETHMACHER. Periostin in Allergy and Inflammation. *Frontiers in Immunology*. 2021, 12. ISSN 1664-3224.
225. SONNENSCHNEIN-VAN DER VOORT, A. M.M., L. R. ARENDS, J. C. DE JONGSTE, et al. Preterm birth, infant weight gain, and childhood asthma risk: A meta-analysis of 147,000 European children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2014, 133(5), 1317-1329.

226. SPAHN, J. D., J. MALKA a S. J. SZEFLER. Current application of exhaled nitric oxide in clinical practice. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2016, 138(5), 1296-1298.
227. SZEFLER, S. J., J. F. CHMIEL, A. M. FITZPATRICK, et al. Asthma across the ages: Knowledge gaps in childhood asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2014, 133(1), 3-13.
228. ŠETINOVÁ, I. *Vnitřní lékařství*. 2020, 66 (6), 340-344.
229. ŠIMEČKOVÁ, Š. *Buněčná senescence a nádorová onemocnění*. Brno, 2011. Bakalářská práce. MASARYKOVA UNIVERZITA Přírodovědecká fakulta.
230. ŠPIČÁK, V. *Farmakologie průduškového astmatu*. *Interní medicína pro praxi*. 2011, 13(12), 476-480.
231. TABAK, C., A. H. WIJGA, G. DE MEER, et al. Diet and asthma in Dutch school children (ISAAC-2). *Thorax*. 2006, 61(12), 1048-1053.
232. TAGAYA, E. a J. TAMAOKI. Mechanisms of Airway Remodeling in Asthma. *Allergology International*. 2007, 56(4), 331-340.
233. TAKAYAMA, G., K. ARIMA, T. KANAJI, et al. Periostin: A novel component of subepithelial fibrosis of bronchial asthma downstream of IL-4 and IL-13 signals. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2006, 118(1), 98-104.
234. TAMIMI, A., D. SERDAREVIC a N. A. HANANIA. The effects of cigarette smoke on airway inflammation in asthma and COPD: Therapeutic implications. *Respiratory Medicine*. 2012, 106(3), 319-328.
235. TAYLOR, S. L., L. E.X. LEONG, J. M. CHOO, et al. Inflammatory phenotypes in patients with severe asthma are associated with distinct airway microbiology. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2018, 141(1), 94-103.
236. TEŘL, M. *Doporučený postup diagnostiky a léčby bronchiálního astmatu*. Geum, 2015. ISBN 978-80-87969-08-3.
237. THOMSON, N. C. Novel approaches to the management of noneosinophilic asthma. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*. 2016, 10(3), 211-234.
238. TIOTIU, A. I., P. NOVAKOVA, D. NEDEVA, et al. Impact of Air Pollution on Asthma Outcomes. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020, 17(17).
239. TOMČALOVÁ, Ž. *Alergie – současné terapeutické možnosti*. *Pediatric pro praxi*. 2014, 15(5), 280-286.
240. TOSKALA, E. a D. W. KENNEDY. Asthma risk factors. *International Forum of Allergy & Rhinology*. 2015, 5(1), 11-16.
241. TURŽÍKOVÁ, J. *Novinky v přístupu k dětskému pacientovi s alergickou rýmou a asthma bronchiale*. *Pediatric pro praxi*. Solen, 2012, 13(4), 88-94.
242. ULLMANN, N., C. J. BOSSLEY, L. FLEMING, et al. Blood eosinophil counts rarely reflect airway eosinophilia in children with severe asthma. *Allergy*. 2013, 68(3), 402-406.
243. VAŇKOVÁ, R., J. ČELAKOVSKÁ, J. KREJSEK, et al. Molekulárně definované alergeny a jejich využití v diagnostice alergického zánětu (atopické dermatitidy). *Česko-slovenská dermatologie*. 2020, 2020(4), 127-140.
244. VÁVROVÁ, H. *Nová doporučení v diagnostice a léčbě astmatu v dětském věku*. *Pediatric pro praxi*. 2014, 15(2), 76-78.
245. VERNEROVÁ, E. *Alergie a astma, současný stav poznání a léčby*. *Medicína pro praxi*. 2012, 9(4), 156-162.

246. VIKTORINOVÁ, M. 2008. Kopřivky vyvolané imunologickými mechanizmy. *Dermatologie pro praxi*. 2008, 2 (5), 218-222.
247. Výdechoměry. Netmedik. <https://www.netmedik.cz/vydechomery/> [cit. 2022-05-15].
248. WAGENER, A. H., S. B. DE NIJS, R. LUTTER, et al. External validation of blood eosinophils, FE NO and serum periostin as surrogates for sputum eosinophils in asthma. *Thorax*. 2015, 70(2), 115-120.
249. WANG, B., H. CHEN, Y. L. CHAN, et al. Why Do Intrauterine Exposure to Air Pollution and Cigarette Smoke Increase the Risk of Asthma?. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2020, 8 (38).
250. WANG, L., C. S. HOLLENBEAK, D. T. MAUGER, et al. Cost-effectiveness analysis of fluticasone versus montelukast in children with mild-to-moderate persistent asthma in the Pediatric Asthma Controller Trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2011, 127(1), 161-166.
251. WANG, Y. M., M. BAKHTIAR a S. I. ALEXANDER. ILC2: There's a New Cell in Town. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2017, 28(7), 1953-1955.
252. WOOD, L. G., M. L. GARG a P. G. GIBSON. A high-fat challenge increases airway inflammation and impairs bronchodilator recovery in asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2011, 127(5), 1133-1140.
253. XU, C.-J., C. SÖDERHÄLL, M. BUSTAMANTE, et al. DNA methylation in childhood asthma: an epigenome-wide meta-analysis. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2018, 6(5), 379-388.
254. XU, H., L. TONG, P. GAO, et al. Combination of ipratropium bromide and salbutamol in children and adolescents with asthma: A meta-analysis. *PLOS ONE*. 2021, 16(2), 167-179.
255. YAGI, K., G. B. HUFFNAGLE, N. W. LUKACS a N. ASAI. The Lung Microbiome during Health and Disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, 22(19).
256. YAMAUCHI, K. a H. INOUE. Airway Remodeling in Asthma and Irreversible Airflow Limitation —ECM Deposition in Airway and Possible Therapy for Remodeling—. *Allergology International*. 2007, 56(4), 321-329.
257. YAMAUCHI, K. a M. OGASAWARA. The Role of Histamine in the Pathophysiology of Asthma and the Clinical Efficacy of Antihistamines in Asthma Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, 20(7).
258. YANG, I. V., B. S. PEDERSEN, A. LIU, et al. DNA methylation and childhood asthma in the inner city. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2015, 136(1), 69-80.
259. ZHANG, J., C. MA, A. YANG, et al. Is preterm birth associated with asthma among children from birth to 17 years old? -A study based on 2011-2012 US National Survey of Children's Health. *Italian Journal of Pediatrics*. 2018, 44(1).
260. ZHANG, S., HOWARD P.H. a ROCHE W.R. Cytokine production by cell cultures from bronchial subepithelial myofibroblasts. *J Pathol*. 1996;180(1):95-101.
261. ZOSKY, G. R., L. J. BERRY, J. G. ELLIOT, et al. Vitamin D Deficiency Causes Deficits in Lung Function and Alters Lung Structure. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2011, 183(10), 1336-1343.