

Received: 2013.05.27
Accepted: 2014.01.31
Published: 2014.04.09

Alergeny roztoczy

Allergens of mites

Emilia Siwak^{1,2}, Anna Skotny¹, Ewa Zbrojewicz¹, Anna Wolańczyk-Mędrala¹,
Wojciech Mędrala¹, Irena Kustrzeba-Wójcicka²

¹ Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Geriatrii i Alergologii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

² Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Streszczenie

Alergeny roztoczy są zaliczane do grupy alergenów inhalacyjnych o właściwościach antygenowych o dużym znaczeniu w patogenezie chorób układu oddechowego i skóry. Do najczęstszych schorzeń związanych z przewlekłą ekspozycją na te aeroalergeny należą: alergiczny nieżyt nosa, astma oskrzelowa oraz atopowe zapalenie skóry. Alergeny roztoczy są białkami prostymi lub glikoproteinami o zróżnicowanej budowie cząsteczkowej oraz odmiennych funkcjach biochemicznych. Zdolność uczulająca tych białek wynika z ich właściwości fizykochemicznych. Poszczególne alerogeny pełnią m.in. funkcje białek strukturalnych, działają jako enzymy, transportują lipidy, wiążą jony metali oraz mają zdolność glikozylacji. Proteazy alergenowe roztoczy degradują ponadto białka nabłonka skóry, w wyniku czego osłabiają jej naturalną barierę ochronną i wywołują odpowiedź układu immunologicznego. Cząsteczki te indukują również uwalnianie cytokin prozapalnych: interleukiny 4 (IL-4), interleukiny 6 (IL-6), interleukiny 8 (IL-8), eotaksyny, a także czynnika stymulującego kolonie granulocytów i makrofagów – GM-CSF. W artykule przedstawiono strukturę trzeciorzędową głównych i pośrednich alergenów roztoczy oraz ich klasyfikację. Opierając się na doniesieniach literaturowych dotyczących budowy chemicznej białek uczulających, podkreślono, że odmienności strukturalne między białkami homologicznymi o właściwościach alergizujących dotyczą rozmieszczenia reszt aminokwasowych na powierzchni cząsteczki. Powinowactwo do wiązania przez IgE oraz podobieństwa i różnice w sekwencji aminokwasowej alergenów stanowiły również podstawę do określenia reaktywności krzyżowej białek uczulających. W pracy wskazano przykład tego zjawiska, opisując istnienie wspólnych alergenów dla różnych gatunków roztoczy.

Słowa kluczowe:

alergeny roztoczy • białka uczulające • IgE • *Dermatophagoides pteronyssinus* • *Dermatophagoides farinae*

Summary

Mite allergens belong to the group of inhalant allergens and represent antigenic substances which are particularly important in the pathogenesis of respiratory system diseases and skin diseases. The most common diseases associated with chronic exposure to these aeroallergens include: allergic rhinitis, bronchial asthma and atopic dermatitis. Mite allergens are simple proteins or glycoproteins with different molecular structures and various biochemical functions. The sensitizing capacity of these proteins is connected from their physicochemical properties. Individual allergens perform, among others, the functions of structural proteins, act as enzymes, transport lipids, bind metal ions, and are capable of glycosylation. In addition, mite allergenic proteases degrade proteins of the skin epithelium-resulting in a weakening of its natural protective barrier-and induce the immune response. The proteases also induce the release of pro-inflammatory cytokines: interleukin-4 (IL-4), interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8), eotaxin, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-GM-CSF. The article presents the tertiary structure of major and mid-range mite allergens and their classification. Based on literature reports concerning the chemical structure of allergenic proteins, it was emphasized that the structural differences between homologous proteins with allergenic

Keywords:	properties relate to the distribution of amino acid residues on the surface of the molecule. IgE binding affinity and the similarities and differences in the amino acid sequence of the allergens were also the basis for determining cross-reactivity of allergenic proteins. The paper shows an example of this phenomenon, describing the existence of common allergens for various mite species. mite allergens • sensitizing proteins • IgE • <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> • <i>Dermatophagoides farinae</i>
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1098023
Word count:	1859
Tables:	1
Figures:	—
References:	56

Adres autorki: mgr inż. Emilia Siwak, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Geriatrii i Alergologii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. M. Skłodowskiej-Curie 66, 50-369 Wrocław; e-mail: emiliasiwak88@gmail.com

ROZTOCZE — CHARAKTERYSTYKA ORGANIZMÓW

Roztocze (*Acari*) to rząd pajęczaków zamieszkujących wszystkie strefy klimatyczne, w tym również obszary polarne. Wśród kilkudziesięciu tysięcy znanych gatunków większość odżywia się saprofagicznie, niektóre przenoszą choroby, a część jest zaliczana do pasożytów zewnętrznych człowieka i zwierząt (np. *Sarcoptes scabiei* czy przedstawiciele rodziny *Dermanyssidae* i *Ixodidae*). Wiele gatunków może również uczulać człowieka. Alergołodzi dzielą roztocze na dwie grupy: mieszkaniowe (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Euroglyphus maynei*) oraz magazynowe (*Acarus siro*, *Lepidoglyphus destructor*, *Glycyphagus domesticus*, *Tyrophagus putrescentiae*) [42]. Dwa gatunki roztoczy kurzu domowego *D. pteronyssinus* i *D. farinae* stanowią przeważające źródło białek uczulających, wywołujących choroby alergiczne u ludzi, takie jak przewlekły nieżyt nosa, astmę oskrzelową oraz atopowe zapalenie skóry [10,17,53]. Optymalne warunki rozwoju przedstawicieli tych gatunków zapewniają odpowiednia wilgotność względna i temperatura powietrza, które w przypadku *D. pteronyssinus* wynoszą: odpowiednio 80% i 25°C. W warunkach istotnie odbiegających od wymienionych dochodzi do znacznego zahamowania wzrostu hodowli [39,42]. Tovey i wsp. wykazali, że białko Der p 1, obecne w próbkach powietrza pochodzącego z pomieszczeń domowych, występuje w postaci cząsteczek o średnicy większej niż 10 µm [54]. Ze względu na rozmiary alergen ten jest zatrzymywany w przednim i w środkowym odcinku jamy nosowej oraz w części ustnej gardła [45]. Tylko sporadycznie białko Der p 1 może przedostawać się wraz z wdychanym powietrzem do płuc [13,40,45,54].

ALERGENY ROZTOCZY — PODZIAŁ ZE WZGLĘDU NA ALERGENNOŚĆ I WŁAŚCIWOŚCI BIOCHEMICZNE

W literaturze przedstawiono kilka podziałów alergenów roztoczy dokonanych na podstawie siły właściwości uczulających, budowy strukturalnej, masy cząsteczkowej oraz funkcji biologicznej [5]. Szczególnie interesująco prezentowały się wyniki badań mających określić biochemiczną funkcję poszczególnych białek alergenowych. Jak się okazało, funkcje te są zróżnicowane, a poszczególne białka to: proteazy cysteinowe, białka strukturalne, białka transportujące lipidy, profiliny oraz białka wiążące ligandy [5]. Alergeny roztoczy są białkami prostymi lub glikoproteinami o masie cząsteczkowej 11-190 kDa. Alergeny o najsilniejszych właściwościach uczulających, stanowiące główną przyczynę alergicznego nieżyty nosa i astmy pochodzą m.in. z *D. pteronyssinus* i *D. farinae* [3,12]. Wyizolowany cDNA alergen Der p 1 koduje syntezę białka o sekwencji identycznej w 82% z sekwencją papainopodobnych proteaz cysteinowych [9].

ALERGENY DER P 1 I DER F 1

Proteazy cysteinowe Der p 1 i Der f 1 według nomenklatury Międzynarodowej Unii Towarzystw Immunologicznych (International Union of Immunological Societies, IUIS) należą do grupy 1 alergenów roztoczy [1]. Są to cząsteczki o ciężarze 25 kDa, których homologia sekwencji aminokwasów wynosi 89% [8,16]. Thomas i wsp. uważają, że białka te są wydzielane jako enzymy trawienne do jelit roztoczy [51], a następnie kumulują się głównie w kulkach kałowych przedstawicieli rodzaju *Dermatophagoides* (pozo-

stała część antygenów alergizujących jest gromadzona w ciałach stawonogów oraz ich oskórku) [51]. W odcho-
dach tych pajęczaków zawartość Der p 1 wynosi nawet 10 mg/ml [54]. Szacuje się, że wystarczy zaledwie 2 µg białek uczulających z grupy 1 w 1 gramie kurzu, by wywo-
łać nadwrażliwość na alergen roztoczy kurzu domowego [11]. Proteazy Der p 1 i Der f 1 nie tylko wywołują reak-
cje alergiczne, ale także degradują białka nabłonka skóry [23]. Struktura krystaliczna tych alergenów oraz ich rekombinowane prodromy zostały zdefiniowane i opi-
sane przez Chruszcza i wsp. [7,8]. Dowiedziono, że mimo dużej homologii sekwencji, Der p 1 i Der f 1 nie mają iden-
tycznej struktury. Der p 1 jest monomerym zawierającym w swojej budowie miejsce wiążące jon metalu. Zespół Chruszcza na podstawie badań dyfrakcyjnych wykazał, że jest to jon Ca^{2+} [8]. Der p 1 zmienia przepuszczalność nabłonka dróg oddechowych w wyniku proteolizy białek okludyny i kładyny, które tworzą motyw strukturalny zwany obwódką zamykającą, regulującą przepuszczalność tkanki nabłonkowej w drogach oddechowych. Dodatkowo Der p 1 indukuje uwalnianie mediatorów prozapalnych: interleukiny 6 (IL-6) oraz interleukiny 8 (IL-8), eotaksyny, a także czynnika stymulującego granulocyty i makro-
fagi (granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF) [24]. Poza tym, przez stymulowanie bazofili i komórek tucznych drogą IgE-zależną, doprowadza do uwalniania i syntezy *de novo* interleukiny 4 [3]. Wyka-
zано też, że proteaza ta zwiększa skurcz mięśni gładkich oskrzeli królików wywołany przez acetylocholinę oraz zmniejsza odwracalny skurcz tkanki mięśniowej dolnych dróg oddechowych wywołany przez izoprenalinę [20]. Na podstawie eksperymentów *in vitro* dowiedziono, że alergen Der p 1 dzięki swoistej proteolizie cząsteczki CD23 (receptora o niskim powinowactwie do IgE), znajdującego się na powierzchni ludzkich limfocytów B może zwiększać wytwarzanie przeciwciał IgE [20,25,33,43,49]. Białko Der p 1 oddziałuje także na limfocyty T, rozdzielając podjednostki receptora CD25 obecnego na ich powierzchni. Aktywność ta prowadzi do zmniejszenia sekrecji interfe-
ronu γ , aktywatora makrofagów. Receptor CD25 jest niezbędny w procesie proliferacji limfocytów Th1, a jego rozszczepienie przez alergen Der p 1 może skierować odpowiedź immunologiczną w kierunku namnażania limfocytów Th2 [44]. Proteaza cysteinowa wyizolowana z *D. pteronyssinus* ma również zdolność rozdzielania białka CD40 na mniejsze fragmenty, w wyniku czego komórki dendrytyczne zmniejszają wytwarzanie IL-12, odgrywa-
jącej główną rolę w stymulowaniu limfocytów T. Jedno-
cześnie wykazano, że komórki dendrytyczne pacjentów uczulonych na *D. pteronyssinus* w obecności alergenu Der p 1 wydzielają więcej cytokin (IL-6, IL-10) i chemokin (CCL-17, CCL-22) oraz mniej IL-12 niż komórki prezen-
tujące antygen u osób zdrowych [19]. Znane są również inne funkcje alergenu Der p 1, takie jak inaktywacja α_1 -
-antytrypsyny, glikoproteiny osocza krwi czy inaktywacja inhibitorów elastazy. α_1 -antytrypsyna jest inhibitorem proteaz serynowych wywołujących stany zapalne w dro-
gach oddechowych, dlatego zablokowanie jej aktywności nasila proces przewlekłego zapalenia [30]. Inaktywacja inhibitorów elastazy, uwalnianiej w wyniku reakcji zapal-

nej przez granulocyty obojętnochłonne, może się przyczynić do zmian w tkankach wywołanych aktywnością tych komórek. Zespół Deba prowadził doświadczenia na myszach, na podstawie których wykazał, że Der p 1 powoduje degradację białek A i D surfaktantu w pęcherzykach płucnych [14]. Białka surfaktantu należą do rodziny wapniowo zależnych lektyn, aktywujących pęcherzykowe makrofagi i pełnią ważną rolę w mechanizmie obronnym organizmu na poziomie płuc [14].

Miike i Kita wykazali, że alergen Der f 1 pobudza degranulację ludzkich eozynofili, co powoduje uwalnianie neurotoksyny, która z kolei zwiększa odpowiedź immunologiczną limfocytów Th2 [36]. Alergen Der f 1 podobnie do Der p 1 występuje w formie monomeru. Chruszcz i wsp. obecnie twierdzą, że w jego strukturze również występuje domena wiążąca jon Ca^{2+} [8], a jeszcze w 2009 r. inni badacze podawali, że w strukturze proteazy nie ma tej domeny [7,8]. Funkcja jonu wapnia jest wciąż nieznana. Jego rola prawdopodobnie nie jest bardzo istotna dla zachowania całkowitej konformacji białka, choć przypuszcza się, że bierze on udział w wiązaniu innych ligandów [8]. Doniesienia literaturowe o aktywności proteolitycznej Der f 1 w odpowiedzi prozapalnej wskazu-
ją, że znacznie osłabia on funkcję barierową skóry [8]. Naukowcy z Japonii ponadto wykazali, że Der f 1 dzięki aktywności proteolitycznej może indukować aktywację transformującego czynnika wzrostu (transforming growth factor β , TGF- β), odpowiedzialnego za kontrolę proliferacji oraz różnicowanie większości typów komórek [37]. Białko TGF- β jest cytokiną przeciwzapalną zaangażowaną w patofizjologię astmy oskrzelowej, w szczególności w zmiany strukturalne w oskrzelach, zwane remodelingiem dróg oddechowych [35,41]. Alergen Der f 1 występuje w pięciu znanych formach polimorficznych, a zespół Thomasa opisał 23 izoformy Der p 1 [52]. Różnice między rozpatrywanymi proteinazami są prawdopodobnie przyczyną odmienności wiązania IgE. Mimo że alergen te wykazują wysoką reaktywność krzyżową u ludzi, to jednak wiązanie wspomnianych przeciwciał wskazuje na wysoki stopień specyficzności gatunkowej tych białek [6,26,33].

Różnice strukturalne między alergenami Der p 1 i Der f 1 dotyczą czterech fragmentów powierzchniowych. Jednak podobieństwo pozostałych fragmentów stanowi przypuszczalną podstawę dla reaktywności krzyżowej. Wiązanie cząsteczek wody może mieć duże znaczenie z punktu widzenia katalitycznej aktywności proteaz cysteinowych. Analiza kompleksów wielocząsteczkowych wykazała, że cząsteczki wody wpływają na lepsze dopasowanie powierzchni oddziałujących ze sobą [50].

ALERGENY DER P 2 I DER F 2

Alergeny Der p 2 i Der f 2 to cząsteczki o ciężarze 15 kDa, reprezentujące według nomenklatury Międzynarodowej Unii Towarzystw Immunologicznych 2 grupę alergenów roztoczy, których wzajemna homologia sięga 88% [55].

Stewart i wsp. przypuszczali, że białka te są lizozymami, jednak hipoteza ta nie została potwierdzona [21,46]. Der p 2 i Der f 2 nie pełnią funkcji enzymatycznych, lecz należą do rodziny białek mających domenę ML wiążącą lub transportującą lipidy, podobnie jak białka NPC2 (Niemann-Pick type C2 proteins). NPC2 jest homologiem alergenów roztoczy z grupy 2, który pełni funkcję glikoproteiny lizosomalnej wiążącej cholesterol [28,34]. Mimo że Der p 2 nie ma aktywności proteolitycznej, istotnie wpływa na funkcjonowanie dróg oddechowych. Alergen ten reguluje uwalnianie czynnika wzrostu komórek nerwowych (nerve growth factor, NGF) z nabłonka dróg oddechowych z udziałem reaktywnych form tlenu (reactive oxygen species, ROS) [18]. Badania modelowe na zwierzętach dowodzą, że nadmierne wytwarzanie ROS, kontrolujących uwalnianie NGF, prowadzi do powstawania stanów zapalnych w nabłonku dróg oddechowych, a w konsekwencji do jego uszkodzenia i przebudowy [38,56]. Zjawiska te są podstawą do rozwoju chorób alergicznych [4].

Derewenda badał budowę cząsteczek alergenów Der p 2 i Der f 2, w której wyróżnił przeciwrównoległe struktury beta oraz hydrofobową kieszeń [15,29]. Przestrzenną strukturę Der f 2 tworzą dwie przeciwrównoległe struktury β przykrywające się wzajemnie, charakterystyczne dla nadrodziny immunoglobulin [10]. W cząsteczce tego alergenu ponadto występują trzy mostki dwusiarczkowe wiążące kowalencyjnie reszty aminokwasowe 8 i 119,

21 i 27 oraz 73 i 78, które są bardzo ważne dla wiązania Der f 2 przez IgE [48]. Białka te są wysoce termostabilne i zachowują aktywność nawet w temperaturze do 100°C [3]. Der p 2 może działać również jako adiuwant wspomagający odpowiedź immunologiczną, dzięki współpracy z receptorami TLR (Toll-like), które pośredniczą w wytwarzaniu cytokin odpowiedzialnych za wywołanie odpowiedzi układu odpornościowego [22]. Alergeny z grupy 1 i 2, określane jako główne alergeny roztoczy, wywołują wysokie miano przeciwciał IgE skierowanych przeciwko tym białkom uczulającym i cytokin Th2 u pacjentów z alergią [53]. Thomas i wsp. w badaniach na grupie 12 alergików uczulonych na roztocze wykazali dodatnie testy skórne na Der p 1 u 11 osób, a u 9 spośród 12 pacjentów zaobserwowano pozytywny wynik testów skórnych z Der p 2 [53]. Homologia reszt tworzących powierzchnię wiążącą immunoglobuliny tych alergenów sięga 86%, a większość z nich jest konserwatywna, co pozwala na podobną zdolność wiązania IgE. Epitopy te zbadano metodami spektroskopii NMR oraz modelowania strukturalnego *in silico*. Podobieństwa między Der f 2 i Der p 2 wyjaśniają wysoką reaktywność krzyżową między tymi alergenami [47]. Szacuje się, że identyczność sekwencji dwóch alergenów sięgająca 70% leży u podstaw wewnątrzgatunkowych reakcji krzyżowych, wśród bliskich gatunków organizmów oraz między gatunkami należącymi do rodzin odległych filogenetycznie, zamieszkujących często inne rejony geograficzne. Rozbieżności między dwoma alergenami homologicznymi

Tabela 1. Alergeny grup pośrednich

Numer grupy alergenów	Funkcja biochemiczna	Inne właściwości	Masa cząsteczkowa [kDa]	Stopień wiązania przez IgE [%]
3	trypsyna	wytwarzanie anafilatoksyn	30	16-100
4	α -amylaza	zdolność glikozylacji	60	40-46
5	nieznana	zwiększanie wytwarzania cytokin	15	50-70
6	chymotrypsyna	posiadanie reszt katalitycznych charakterystycznych dla proteaz serynowych	25	40
7	nieznana	zdolność zmiennej glikozylacji	22	50
8	S-transferaza glutationowa	prawdopodobna reaktywność krzyżowa z <i>Periplaneta americana</i>	26	20-40
9	proteaza serynowa rozkładająca kolagen	aktywacja receptorów PAR-2	28	90
10	tropomiozyna	regulacja morfologii komórek	37	50-95
11	paramiozyna	prawdopodobna reaktywność krzyżowa z pasożytami (<i>Taenia</i> , <i>Schistosoma</i> , <i>Anisakis</i>)	92-94	80
12	nieznana	-	14	50
13	białko wiążące kwasy tłuszczowe	białko cytosolowe	15	10-20
14	apolipochoryna	-	177	90
15	chitynaza	zdolność glikozylacji	62,5	70
16	gelsolina	-	55	50
17	białko wiążące wapń	-	30	35
18	chitynaza	-	60	55
19	białko antybakteryjne	-	7	10
20	kinaza argininowa	-	40	40
21	nieznana	paralog grupy 5	30-40	30

Według [53]

występują przede wszystkim w zakresie ich struktury trzeciorzędowej i dotyczą rozmieszczenia reszt aminokwasowych na powierzchni cząsteczki [3]. Dzięki tym informacjom wykazano, że sekwencja aminokwasowa alergenów pochodzących z różnych gatunków roztoczy *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *D. microceras* i *D. siboney* jest bardzo podobna, sięga 80% [3]. Arlian i wsp. za pomocą immunoelektroforezy krzyżowej ponadto wykazali istnienie około 6 wspólnych alergenów dla *Dermatophagoides pteronyssinus* i *Euroglyphus maynei*, należącego do rodziny Pyroglyphidae [2]. Ten sam zespół badawczy wykazał również blokowanie specyficznych przeciwciał IgE skierowanych przeciwko *E. maynei* przez ekstrakty z *D. pteronyssinus* [31]. Za pomocą metody Western blotting udowodniono, że IgE pacjentów nadwrażliwych na *Dermatophagoides* wiąże większość frakcji elektroforetycznych pochodzących z ekstraktów *E. maynei*. Identyfikacja sekwencji aminokwasowej między alergenem

Eur m 1 a Der p 1 sięgająca 89% może stanowić uzasadnienie tego zjawiska [27,32].

Oprócz alergenów głównych zidentyfikowano wiele alergenów pośrednich, które przedstawia tabela, według [53].

PODSUMOWANIE

Poznanie struktury głównych oraz pośrednich alergenów roztoczy stało się przydatne do zrozumienia reaktywności krzyżowej. Wydaje się, że wiedza ta może się przyczynić do skonstruowania hipotalergenów rekombinowanych, stanowiących bezpieczną alternatywę terapeutyczną dla obecnie stosowanych szczepionek alergenowych. Ponadto badania właściwości chemicznych tych białek w wystarczająco dobrym stopniu tłumaczą inicjację odpowiedzi IgE-zależnej ustroju oraz rozwój schorzeń alergicznych na tym tle.

PIŚMIENICTWO

- [1] Aalberse R.C.: Allergens from mites: implications of cross-reactivity between invertebrate antigens. *Allergy*, 1998; 53 (Suppl. 48): 47-48
- [2] Arlian L.G., Rapp C.M., Fernandez-Caldas E.: Allergenicity of *Euroglyphus maynei* and its cross-reactivity with *Dermatophagoides* species. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1993; 91: 1051-1058
- [3] Bessot J.C., Pauli G.: Mite allergens: an overview. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.*, 2011; 43: 141-156
- [4] Cates E.C., Fattouh R., Johnson J.R., Llop-Guevara A., Jordana M.: Modeling responses to respiratory house dust mite exposure. *Contrib. Microbiol.*, 2007; 14: 42-67
- [5] Chapman M.D., Pomés A., Breiteneder H., Ferreira F.: Nomenclature and structural biology of allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2007; 119: 414-420
- [6] Chapman M.D., Heymann P.W., Wilkins S.R., Brown M.J., Platts-Mills T.A.: Monoclonal immunoassays for major dust mite (*Dermatophagoides*) allergens, Der p 1 and Der f 1, and quantitative analysis of the allergen content of mite and house dust extracts. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1987; 80: 184-194
- [7] Chruszcz M., Chapman M.D., Vailes L.D., Stura E.A., Saint-Remy J.M., Minor W., Pomés A.: Crystal structures of mite allergens Der f 1 and Der p 1 reveal differences in surface-exposed residues that may influence antibody binding. *J. Mol. Biol.*, 2009; 386: 520-530
- [8] Chruszcz M., Pomes A., Glesner J., Vailes L.D., Osinski T., Porebski P.J., Majorek K.A., Heymann P.W., Platts-Mills T.A., Minor W., Chapman M.D.: Molecular determinants for antibody binding on group 1 house dust mite allergens. *J. Biol. Chem.*, 2012; 287: 7388-7398
- [9] Chua K.Y., Stewart G.A., Thomas W.R., Simpson R.J., Dilworth R.J., Plozza T.M., Turner K.J.: Sequence analysis of cDNA coding for a major house dust mite allergen, Der p 1. Homology with cysteine proteases. *J. Exp. Med.*, 1988; 167: 175-182
- [10] Cui Y.: Structural biology of mite allergens. *Mol. Biol. Rep.*, 2013; 40: 681-686
- [11] Custovic A., Chapman M.: Risk levels for mite allergens. Are they meaningful? *Allergy*, 1998; 53 (Suppl. 48): 71-76
- [12] Dai Y.C., Chuang W.J., Chua K.Y., Shieh C.C., Wang J.Y.: Epitope mapping and structural analysis of the anti-Der p 1 monoclonal antibody: insight into therapeutic potential. *J. Mol. Med.*, 2011; 89: 701-712
- [13] De Lucca S., Sporik R., O'Meara T.J., Tovey E.R.: Mite allergen (Der p 1) is not only carried on mite feces. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1999; 103: 174-175
- [14] Deb R., Shakib F., Reid K., Clark H.: Major house dust mite allergens *Dermatophagoides pteronyssinus* 1 and *Dermatophagoides farinae* 1 degrade and inactivate lung surfactant proteins A and D. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 36808-36819
- [15] Derewenda U., Li J., Derewenda Z., Dauter Z., Mueller G.A., Rule G.S., Benjamin D.C.: The crystal structure of a major dust mite allergen Der p 2, and its biological implications. *J. Mol. Biol.*, 2002; 318: 189-197
- [16] Dilworth R.J., Chua K.Y., Thomas W.R.: Sequence analysis of cDNA coding for a major house dust mite allergen, Der f 1. *Clin. Exp. Allergy*, 1991; 21: 25-32
- [17] Eifan A.O., Calderon M.A., Durham S.R.: Allergen immunotherapy for house dust mite: clinical efficacy and immunological mechanisms in allergic rhinitis and asthma. *Expert Opin. Biol. Ther.*, 2013; 13: 1543-1556
- [18] Gandhi V.D., Davidson C., Asaduzzaman M., Nahirney D., Vliagoftis H.: House dust mite interactions with airway epithelium: role in allergic airway inflammation. *Curr. Allergy Asthma Rep.*, 2013; 13: 262-270
- [19] Ghaemmaghami A.M., Gough L., Sewell H.F., Shakib F.: The proteolytic activity of the major dust mite allergen Der p 1 conditions dendritic cells to produce less interleukin-12: allergen-induced Th2 bias determined at the dendritic cell level. *Clin. Exp. Allergy*, 2002; 32: 1468-1475
- [20] Grunstein M.M., Veler H., Shan X., Larson J., Grunstein J.S., Chuang S.: Proasthmatic effects and mechanisms of action of the dust mite allergen, Der p 1, in airway smooth muscle. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2005; 116: 94-101
- [21] Hakkaart G.A., Aalberse R.C., van Ree R.: Lack of lysozyme activity of natural and yeast-derived recombinant Der p 2. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1997; 114: 202-204
- [22] Hammad H., Chieppa M., Perros F., Willart M.A., Germain R.N., Lambrecht B.N.: House dust mite allergen induces asthma via Toll-like receptor 4 triggering of airway structural cells. *Nat. Med.*, 2009; 15: 410-416

- [23] Henriquez O.A., Den Beste K., Hoddeson E.K., Parkos C.A., Nusrat A., Wise S.K.: House dust mite allergen Der p 1 effects on sinonasal epithelial tight junctions. *Int. Forum Allergy Rhinol.*, 2013; 3: 630-635
- [24] Herbert C.A., King C.M., Ring P.C., Holgate S.T., Stewart G.A., Thompson P.J., Robinson C.: Augmentation of permeability in the bronchial epithelium by the house dust mite allergen Der p 1. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1995; 12: 369-378
- [25] Hewitt C.R., Brown A.P., Hart B.J., Pritchard D.I.: A major house dust mite allergen disrupts the immunoglobulin E network by selectively cleaving CD23: innate protection by antiproteases. *J. Exp. Med.*, 1995; 182: 1537-1544
- [26] Heymann P.W., Chapman M.D., Platts-Mills T.A.: Antigen Der f I from the dust mite *Dermatophagoides farinae*: structural comparison with Der p I from *Dermatophagoides pteronyssinus* and epitope specificity of murine IgG and human IgE antibodies. *J. Immunol.*, 1986; 137: 2841-2847
- [27] Hill M.R., Newton M.R., Hart B.J.: Comparative IgE responses to extracts of five species of house dust mite, using Western blotting. *Clin. Exp. Allergy*, 1993; 23: 110-116
- [28] Ichikawa S., Takai T., Inoue T., Yuuki T., Okumura Y., Ogura K., Inagaki F., Hatanaka H.: NMR study on the major mite allergen Der f 2: its refined tertiary structure, epitopes for monoclonal antibodies and characteristics shared by ML protein group members. *J. Biochem.*, 2005; 137: 255-263
- [29] Johannessen B.R., Skov L.K., Kastrup J.S., Kristensen O., Bolwig C., Larsen J.N., Spangfort M., Lund K., Gajhede M.: Structure of the house dust mite allergen Der f 2: implications for function and molecular basis of IgE cross-reactivity. *FEBS Lett.*, 2005; 579: 1208-1212
- [30] Kalsheker N.A., Deam S., Chambers L., Sreedharan S., Brocklehurst K., Lomas D.A.: The house dust mite allergen Der p1 catalytically inactivates α_1 -antitrypsin by specific reactive centre loop cleavage: a mechanism that promotes airway inflammation and asthma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996; 221: 59-61
- [31] Kemp S.F., Lockey R.F., Fernandez-Caldas E., Arlian L.G.: Skin test and crossreactivity studies with *Euroglyphus maynei* and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clin. Exp. Allergy*, 1997; 27: 893-897
- [32] Kent N.A., Hill M.R., Keen J.N., Holland P.W., Hart B.J.: Molecular characterization of group 1 allergen Eur m 1 from house dust mite *Euroglyphus maynei*. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1992; 99: 150-152
- [33] Lind P., Hansen O.C., Horn N.: The binding of mouse hybridoma and human IgE antibodies to the major fecal allergen, Der p I, of *Dermatophagoides pteronyssinus*. Relative binding site location and species specificity studied by solid-phase inhibition assays with radiolabeled antigen. *J. Immunol.*, 1988; 140: 4256-4262
- [34] Liou H.L., Dixit S.S., Xu S., Tint G.S., Stock A.M., Lobel P.: NPC2, the protein deficient in Niemann-Pick C2 disease, consists of multiple glycoforms that bind a variety of sterols. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 36710-36723
- [35] Makinde T., Murphy R.F., Agrawal D.K.: The regulatory role of TGF- β in airway remodeling in asthma. *Immunol. Cell Biol.*, 2007; 85: 348-356
- [36] Miike S., Kita H.: Human eosinophils are activated by cysteine proteases and release inflammatory mediators. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003; 111: 704-713
- [37] Nakamura Y., Miyata M., Shimokawa N., Ohnuma Y., Katoh R., Ogawa H., Okumura K., Nakao A.: House dust mite allergen Der f 1 can induce the activation of latent TGF- β via its protease activity. *FEBS Lett.*, 2009; 583: 2088-2092
- [38] Ogawa H., Azuma M., Uehara H., Takahashi T., Nishioka Y., Sone S., Izumi K.: Nerve growth factor derived from bronchial epithelium after chronic mite antigen exposure contributes to airway hyperresponsiveness by inducing hyperinnervation, and is inhibited by *in vivo* siRNA. *Clin. Exp. Allergy*, 2012; 42: 460-470
- [39] Pike A.J., Cunningham M.J., Lester P.J.: Development of *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae) at constant and simultaneously fluctuating temperature and humidity conditions. *J. Med. Entomol.*, 2005; 42: 266-269
- [40] Platts-Mills T.A., Heymann P.W., Longbottom J.L., Wilkins S.R.: Airborne allergens associated with asthma: particle sizes carrying dust mite and rat allergens measured with a cascade impactor. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1986; 77: 850-857
- [41] Rydell-Törmänen K., Johnson J.R., Fattouh R., Jordana M., Erjefält J.S.: Induction of vascular remodeling in the lung by chronic house dust mite exposure. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2008; 39: 61-67
- [42] Samoliński B.: Epidemiologia uczulenia na roztocze: częstość występowania, obraz kliniczny, sezonowość objawów. http://alergia.org.pl/lek/index.php?option=com_content&task=view&id=167&Itemid=65. (12.04.2013)
- [43] Schulz O., Laing P., Sewell H.F., Shakib F.: Der p 1, a major allergen of the house dust mite, proteolytically cleaves the low-affinity receptor for human IgE (CD23). *Eur. J. Immunol.*, 1995; 25: 3191-3194
- [44] Schulz O., Sewell H.F., Shakib F.: Proteolytic cleavage of CD25, the α subunit of the human T cell interleukin 2 receptor, by Der p 1, a major mite allergen with cysteine protease activity. *J. Exp. Med.*, 1998; 187: 271-275
- [45] Shah R., Grammer L.C.: Chapter 1: an overview of allergens. *Allergy Asthma Proc.*, 2012; 33 (Suppl. 1): S2-S5
- [46] Stewart G.A., Bird C.H., Thompson P.J.: Do the group II dust mite allergens correspond to lysozyme? *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1992; 90: 141-142
- [47] Suzuki M., Tanaka Y., Korematsu S., Mikami B., Minato N.: Crystal structure and some properties of a major house dust mite allergen, Derf 2. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2006; 339: 679-686
- [48] Takai T., Ichikawa S., Yokota T., Hatanaka H., Inagaki F., Okumura Y.: Unlocking the allergenic structure of the major house dust mite allergen der f 2 by elimination of key intramolecular interactions. *FEBS Lett.*, 2000; 484: 102-107
- [49] Takai T., Kato T., Ota M., Yasueda H., Kuhara T., Okumura K., Ogawa H.: Recombinant Der p 2 and Der f 1 with *in vitro* enzymatic activity to cleave human CD23, CD25 and α_1 -antitrypsin, and *in vivo* IgE-eliciting activity in mice. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2005; 137: 194-200
- [50] Takai T., Kato T., Yasueda H., Okumura K., Ogawa H.: Analysis of the structure and allergenicity of recombinant pro- and mature Der p 1 and Der f 1: major conformational IgE epitopes blocked by prodomains. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2005; 115: 555-563
- [51] Thomas B., Heap P., Carswell F.: Ultrastructural localization of the allergen Der p I in the gut of the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 1991; 94: 365-367
- [52] Thomas W.R., Hales B.J., Smith W.A.: House dust mite allergens in asthma and allergy. *Trends Mol. Med.*, 2010; 16: 321-328
- [53] Thomas W.R., Smith W.A., Hales B.J.: The allergenic specificities of the house dust mite. *Chang Gung Med. J.*, 2004; 27: 563-569
- [54] Tovey E.R., Chapman M.D., Platts-Mills T.A.: Mite faeces are a major source of house dust allergens. *Nature*, 1981; 289: 592-593
- [55] Trudinger M., Chua K.Y., Thomas W.R.: cDNA encoding the major mite allergen Der f II. *Clin. Exp. Allergy*, 1991; 21: 33-37
- [56] Ye Y.L., Wu H.T., Lin C.F., Hsieh C.Y., Wang J.Y., Liu F.H., Ma C.T., Bei C.H., Cheng Y.L., Chen C.C., Chiang B.L., Tsao C.W.: *Dermatophagoides pteronyssinus* 2 regulates nerve growth factor release to induce airway inflammation via a reactive oxygen species-dependent pathway. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2011; 300: L216-L224

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.