

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



Vliv složení bílkovin mléka na jeho alergenní vlastnosti

Bakalářská práce

Autor práce: Alena Nevřzalová

Obor studia: Výživa a potraviny (ATZD)

Vedoucí práce: doc. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv složení bílkovin mléka na jeho alergenní vlastnosti" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 10. 4. 2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí své bakalářské práce doc. Ing. Lence Kouřimské, Ph.D. za cenné rady a připomínky při psaní bakalářské práce a její ochotu.

Vliv složení bílkovin mléka na jeho alergenní vlastnosti

Souhrn

Alergie na bílkoviny mléka patří mezi časté potravinové alergie, kterou trpí především děti, ale vyskytuje se i v menší míře u dospělých lidí. Tato práce se zabývá mléčnými bílkoviny, které způsobují u lidí alergické reakce a stanovením těchto látek v potravinách a dále příznaky, projevy a diagnózou alergie, která je nezbytná pro určení alergenu a tudíž k navržení vhodného výživového doporučení.

Alergičtí jedinci mohou být citliví na mléko od různých druhů zvířat, proto tato práce srovnává alergenní potenciál různých mlék (např. kravské, kozí, velbloudí). Věnuje se genetickým variantám mléčných bílkovin, které mají také vliv na alergenní potenciál mléka, čehož se může využít při hledání vhodných náhražek pro alergické jedince. Alergenní potenciál mléka též ovlivňuje zpracování a trávení mléka, např. pečení mléka má vliv na snížení alergenicity mléka.

Při alergii na mléčné bílkoviny se doporučuje vyloučení mléka z jídelníčku, proto je část práce zaměřena na náhražky mléka, především na hydrolyzované mléčné přípravky, které jsou alternativou pro kojence, pro které je mléko hlavním zdrojem všech potřebných látek. Práce podává informace o různých druzích náhražek mléka a zbytkové alergenitě těchto náhražek. Porovnává názory autorů o nahrazení kravského mléka (hlavní složka umělé kojenecké výživy) s mlékem oslím, kobylicím, velbloudím, kozím, ovčím a „mlékem“ s rostlinnými bílkoviny.

Požítí mléka u lidí trpících alergií na bílkoviny mléka může vážně ohrozit zdraví jedince, především trávicí trakt či vést až k anafylaxi, proto je část práce věnována lékařskému opatření při potravinové alergii a imunoterapii, která se zatím v České republice k léčbě alergii na mléko nepoužívá. Prevence má větší význam především u rizikových dětí (rodiče či sourozenci trpí alergií). Pozitivní je, že většina dětí alergii na mléčné bílkoviny překoná.

Tato bakalářská práce přináší výživové doporučení pro jedince, kteří jsou alergičtí na různé složky mléka i na různé druhy mléka. Zabývá se nahrazením mléka v jídelníčku dospělých, ale především mléčnými náhražkami pro děti, protože tato alergie postihuje především děti do 3 let věku.

Klíčová slova: Složky mléka, kaseinové a syrovátkové bílkoviny, alergie na mléko.

The effect of milk proteins composition on its allergic properties

Summary

The milk protein allergy is one of the frequent food allergies that mostly children are prone to but also adults may suffer from. This thesis deals with the milk proteins causing allergic reaction and a way how to determinate these substances in foodstuffs. Furthermore, it deals with symptoms, signs and diagnosis of the allergy in order to be able to identify allergen and to suggest appropriate nutritional recommendations.

This thesis also compares allergenic potential of various kind of milk (e.g. bovine, goat, camel), because the allergic individuals could be sensitive to milk from various animal species. In addition, it follows up the genetic variants of the milk proteins which have an influence on allergenic potential of milk. This information can be used for seeking for a suitable substitute for the allergic individuals. Allergenic potential of milk also influences processing and digestion of milk, eg. baking of milk has an effect on decreasing milk allergenicity.

In case of allergy to milk, excluding milk from diet is recommended. For this reason a part of thesis aims to milk substitutes, especially to hydrolysed milky mixtures intended for nurslings whom are the alternatives of milk - the main source of all needful nutrients. This thesis also provides information about various kinds of milk substitutes and residual allergenicity of these substitutes. It also compares the opinions from authors about replacing cow's milk (main component of artificial infant nutrition) with donkey's, horse's, camel's, goat's, sheep's milk or „milk“ with vegetal proteins.

The ingestion of milk by people that suffer from allergy to milk proteins could seriously endanger individuals' health especially digestive tract or could lead to anaphylaxis. Therefore providing medical measures at food allergies and immunotherapy that has not been used in Czech Republic for therapy of allergy to milk yet is also mentioned. The prevention is more important especially at the venture children (parents or siblings suffering from allergy). The positive fact of this is that most children overcome the allergy to milk proteins.

This bachelor thesis brings nutritional recommendations for individuals who are allergic to various elements of milk as well as various types of milk. Another focus was given to

substituting milk in adult's diet, but especially milk substitutes for children because this allergy affects primarily children to three year age.

Keywords: Elements of milk, caseins and whey proteins, allergy of milk.

Obsah

1	Úvod	8
2	Hypotéza a cíl práce	9
2.1	Hypotéza	9
2.2	Cíl práce	9
3	Literární rešerše	10
3.1	Mléko	10
3.1.1	Složení mléka	10
3.2	Bílkoviny	11
3.2.1	Mléčné bílkoviny.....	11
3.2.1.1	Variety mléčných bílkovin.....	12
3.2.1.2	Celkový kasein.....	13
3.2.1.3	α_{s1} -kasein.....	13
3.2.1.4	β -kasein.....	13
3.2.1.5	α_{s2} -kasein.....	13
3.2.1.6	κ -kasein.....	14
3.2.1.7	Syrovátkové bílkoviny	14
3.2.1.8	α -laktalbumin	14
3.2.1.9	β -laktoglobulin.....	15
3.2.1.10	Dopad variant mléčných bílkovin.....	15
3.2.1.11	Variety mléčných bílkovin jako alternativa pro jedince s alergií	15
3.3	Alergie na mléčné bílkoviny	17
3.3.1	Klinické příznaky a projevy alergie na mléčné bílkoviny.....	18
3.3.2	Diagnóza alergie na mléčné bílkoviny	19
3.3.3	Alergeny v mléce.....	20
3.3.4	Metody stanovení alergenů.....	21
3.3.4.1	ELISA (enzymová imunoanalýza).....	21
3.3.4.2	HPLC metoda (Vysokoučinná kapalinová chromatografie)	22
3.3.4.3	PCR metoda (Polymerázová řetězová reakce).....	23
3.3.4.4	MS (Hmotnostní spektrometrie)	23
3.3.5	Zkřížená alergie	24
3.3.5.1	Izolace a detekce mléčných bílkovin	25
3.3.6	Alergie na kozí či ovčí mléčné bílkoviny	26
3.3.7	Prahová dávka	27
3.3.8	Změna alergenicity při zpracování a trávení mléka.....	27
3.4	Výživa, léčba a prevence při alergii na mléčné bílkoviny	28

3.4.1	Význam mléka ve výživě	29
3.4.2	Výživa kojených dětí s alergií na mléko	29
3.4.3	Výživa kojence s alergií na mléko.....	30
3.4.3.1	Speciální kojenecká výživa.....	30
3.4.3.2	Antigenicita hydrolyzovaných formulí	31
3.4.4	Výživa kojence „zatíženého“ alergií na mléko	32
3.4.5	Výživa dětí starších 6 měsíců a dospělých s alergií na mléko.....	32
3.4.6	Náhražky mléka.....	33
3.4.6.1	Oslí mléko jako náhražka kravského mléka	33
3.4.6.2	Kobylí mléko jako náhražka kravského mléka	34
3.4.6.3	Velbloudí mléko jako náhražka kravského mléka	35
3.4.6.4	Kozí a ovčí mléko jako náhražka kravského mléka.....	36
3.4.7	Potřeba vápníku a nutriční obavy	36
3.4.8	Prevence při alergii na mléčné bílkoviny	37
3.4.9	Lékařské ošetření při alergii na mléčné bílkoviny	39
3.4.9.1	Perorální imunoterapie.....	40
3.4.10	Prognóza alergie na mléčné bílkoviny	41
4	Závěr	42
5	Seznam použité literatury	43
6	Seznam tabulek.....	50
7	Seznam obrázků.....	51

1 Úvod

První nežádoucí účinky (kožní a gastrointestinální) po požití mléka popsal Hippokrates v roce 370 př. n. l. O 500 let později, řecký lékařský vědec Galen Pergamum zmínil vztah mezi těmito příznaky a spotřebou mléka. Na začátku 20. století se stalo pozorování nežádoucích účinků po požití mléka častější (Hochwallner et al., 2014).

Alergie na mléčné bílkoviny patří mezi časté potravinové alergie. Postihuje především děti v raném věku a většina dětí alergii překoná. U dospělých lidí je překonání alergie vzácnějším subjektem.

Alergie na mléčné bílkoviny může být vyvolána různými alergeny. Alergičtí jedinci mohou reagovat na mléko různých savců, proto se zkoumá alergenní potenciál mléčných bílkovin od různých zvířat (např. kráva, koza, velbloud). Důležité je i stanovení alergenních složek v mléce a v mléčných výrobcích a diagnóza alergie, aby se zjistilo, na jakou složku potravy jedinec reaguje, a tudíž mu mohla být navržena vhodná výživová doporučení. U malých dětí je mléčná výživa hlavním zdrojem potravy – poskytuje jim veškeré látky pro správný růst a vývoj, proto je důležité najít vhodnou náhradu mléka pro tyto jedince.

Mléko je pro mláďata základní zdroj výživy. Mateřské mléko je plné vitaminů a proučtek, čímž pomáhá nastartovat imunitní systém jedince. Mláďata sají mléko do doby, než jsou schopná sama přijímat potravu. Naopak lidé konzumují mléko i v dospělosti od různých hospodářských zvířat (kráva, koza, ovce, buvol). Člověk dokáže řádně trávit mléčné bílkoviny i ve stáří (Kopáček a Ellmann, 2009).

2 Hypotéza a cíl práce

2.1 Hypotéza

Jedinci mající alergii na mléko mohou být alergičtí na různé typy mléčných bílkovin. Existuje zkřížená alergie, kdy jedinec je alergický na mléka různých savců. Výživová řešení pro ně musí být proto řešena individuálně. Alergie na mléko je ve většině případů „nemoc“ raného dětství, proto je nutné zvolit speciální výživu nahrazující konvenční umělou mléčnou kojeneckou výživu.

2.2 Cíl práce

Hlavním cílem bakalářské práce je zpracování literární rešerše zaměřené na složky mléka, které způsobují u lidí alergii (alergeny v mléce), možnosti analytického stanovení těchto látek v mléce a výživová doporučení pro alergické jedince.

Dílní cíle této práce jsou zaměřeny na zkoumání alergenicity mléka od různých savců a navržení vhodných náhražek mléka pro jedince trpící alergií na mléčné bílkoviny.

3 Literární rešerše

3.1 Mléko

Mléko je bílá kapalina bohatá na tuky a bílkoviny. Je produktem mléčných žláz samic savců pro výživu mláďat. Od dávných dob lidé používají kravské, ovčí a kozí mléko jako potravinu poskytující živiny vhodné pro růst a vývoj. Mléko má vysokou nutriční hodnotu, protože poskytuje vysoce kvalitní bílkoviny, mnoho vitaminů a minerálních látek a širokou škálu mastných kyselin. Zvláště kravské mléko, ale také mléko od ovcí a koz je jedním z nejcennějších živin v mnoha zemích po celém světě (Tetens, 2014).

3.1.1 Složení mléka

Mléko se skládá hlavně z vody. Kravské mléko obsahuje 87-91 % vody. Mléko obsahuje tyto základní složky: bílkoviny, sacharidy, tuky, minerální látky a vitaminy. Chemické složení mateřského, kravského, kozího a ovčího mléka je zobrazeno v tab. 1 (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Drbohlav a Vodičková (2001) uvádějí, že bílkoviny v mléce jsou složeny z 2 hlavních složek: kaseinu (80 %) a syrovátkových bílkovin (20 %). Tetens (2014) zmiňuje, že mléko přežvýkavců je z 90 % tvořeno 6 mléčnými bílkovinami. Těchto hlavních 6 mléčných bílkovin lze rozdělit na 4 kaseinové (α_{S1} -, β -, α_{S2} - a κ -kasein) a 2 syrovátkové bílkoviny (α -laktalbumin a β -laktoglobulin).

Tabulka 1 Základní chemické složení mlék v % (Velíšek a Hajšlová, 2009)

<u>Složka</u>	<u>Mateřské mléko</u>	<u>Kravské mléko</u>	<u>Kozí mléko</u>	<u>Ovčí mléko</u>
Proteiny celkem	0,9	3,2	3,2	4,6
Kaseiny	0,4	2,6	2,6	3,9
Proteiny syrovátky	0,5	0,6	0,6	0,7
Sacharidy	7,1	4,6	4,3	4,8
Tuky	4,5	3,9	4,5	7,2
Minerální látky	0,2	0,7	0,8	0,9

3.2 Bílkoviny

Bílkoviny neboli proteiny jsou polymery aminokyselin. Stavebními složkami bílkovin je přibližně 20 L- α -aminokyselin. Biologické vlastnosti a trojrozměrná struktura bílkovin (jednoduchých) je určena druhem a pořadím aminokyselin, a také vzájemnými prostorovými vztahy (Murray, 2009).

Bílkoviny jsou složeny z více než 100 aminokyselin, které jsou spojeny peptidickou vazbou do lineárních (nerozvětvených) řetězců. Na složení bílkovin se podílejí i disulfidové, esterové a amidové vazby. Na bílkoviny se mohou vázat např. nukleové kyseliny, lipidy, cukry, voda atd. Bílkoviny jsou základní stavební složkou živé hmoty. Mají mnoho funkcí, např.: stavební (jsou obsaženy ve vlasech, kůži, tkáních), katalytické (enzymy), pohybové (aktin a myosin ve svalech), transportní (hemoglobin), regulační (histony), obranné (imunoglobuliny), výživové (zdroj dusíku v potravě), zásobní (ferritin) aj. Bílkoviny jsou charakteristické svojí strukturou: primární, sekundární, terciární a kvartérní (Velíšek a Hajšlová, 2009).

McMurry (2007) uvádí dělení bílkovin podle struktury na jednoduché a složené (konjugované). Jednoduché bílkoviny obsahují pouze peptidový řetězec. Složené bílkoviny mají ve své struktuře a nebílkovinnou složku.

Bílkoviny se získávají pro výživu lidí z různých zdrojů. Mezi bílkoviny živočišného původu patří maso, vejce, mléko aj. K bílkovinám rostlinného původu řadíme především luštěniny, obiloviny, ovoce, zeleninu a okopaniny. Zdrojem bílkovin jsou také řasy. Bílkoviny jsou pro lidský organismus zdrojem dusíku, jsou nutné pro obnovu a výstavbu tkání, patří mezi zdroje energie. Denní potřeba proteinu je u dospělého člověka 0,5-1 g na 1 kg tělesné hmotnosti (Murray, 2009; Velíšek a Hajšlová, 2009).

3.2.1 Mléčné bílkoviny

Bijl (2014) uvádí, že kravské mléko obsahuje 3-4 % bílkovin. Až 80 % mléčných bílkovin se skládá ze 4 kaseinů (nerozpustné):

α_{s1} -kasein (α_{s1} -CN)

β -kasein (β -CN)

α_{s2} -kasein (α_{s2} -CN)

κ -kasein (κ -CN)

Tetens (2014) sděluje, že 20 % mléčných bílkovin tvoří syrovátkové bílkoviny (rozpustné):

α -laktalbumin

β -laktoglobulin

Do syrovátkových bílkovin se také řadí imunoglobuliny, sérový albumin a polypeptidy. Kaseiny a syrovátkové bílkoviny dohromady tvoří více než 90 % mléčných bílkovin. Zbýlých 10 % tvoří převážně laktoferin, transferin a proteoso-peptonová frakce. Působením chymosinu či acidifikací mléka na pH 4,6 dochází k oddělení frakcí mléka: kaseiny a sérové bílkoviny. V současné době je známo nejméně 53 různých variant mléčných bílkovin ze 6ti hlavních mléčných proteinů. V tab. 2 je zobrazeno složení bílkovin kravského mléka.

Tabulka 2 Složení proteinů kravského mléka (Velíšek a Hajšlová, 2009)

<u>Proteiny</u>	<u>Podíl v %</u>	<u>Obsah (g.dm⁻³)</u>
Kaseiny celkem	80	25,6
α_s -kasein	42	13,4
β -kasein	25	8
γ -kasein	4	1,3
κ -kasein	9	2,9
Proteiny syrovátky celkem	20	6,4
α -laktalbumin	4	1,3
Sérový albumin	1	0,3
β -laktoglobulin	9	2,9
Imunoglobuliny	2	0,6
Polypeptidy	4	1,3

3.2.1.1 Varianty mléčných bílkovin

Všechny mléčné bílkoviny se vyskytují v různých variantách v kravském, kozím a ovčím mléku. Varianty mléčných bílkovin jsou obvykle způsobeny výměnou nukleotidů v rámci mléčných bílkovin kódujících geny (CSN1S1, CSN2, CSN1S2, CSN3, LAA a LGB), což má za následek výměnu aminokyselin nebo delecí na úrovni proteinů. Tyto varianty mohou ovlivňovat produkci mléka, vlastnosti a složení mléka. Mohou také působit na výživovou hodnotu mléčných výrobků a tím i na lidské zdraví (Tetens, 2014).

3.2.1.2 Celkový kasein

Hovězí kasein se skládá ze 4 proteinů, z nichž každý je kódovaný podle jednoho genu, lokalizovaného u skotu na chromosomu 6. Vzhledem k těsné vazbě kaseinových genů, alely genů různých kaseinů nejsou nezávisle dědičné (Tetens, 2014).

3.2.1.3 α_{s1} -kasein

Je známo 9 variant α_{s1} -kaseinu: A, B, C, D, E, F, G, H a I. Varianta B představuje referenční variantu. Protein této varianty se skládá ze 199 aminokyselinových zbytků a signální peptid (N-koncová část proteinu, funkce: nasměrovat peptid na vhodnou buněčnou polohu) se skládá z 15 aminokyselinových zbytků tvořící formu α_{s1} -kaseinu B v délce 214 aminokyselin. α_{s1} -kasein kódující gen CSN1S1 se skládá z 19 exonů. Většina známých variant (C, D, E, F a I) se liší od varianty B nejvíce 2 výměnami aminokyselin (Farrell et al., 2004; Caroli et al., 2009; Tetens, 2014).

3.2.1.4 β -kasein

Je popsáno 12 genetických variant tohoto proteinu: A1, A2, A3, B, C, D, E, F, G, H1, H2 a I. Varianta CSN2*A2 představuje referenční variantu. Protein této varianty je jeden polypeptidový řetězec složený z 209 aminokyselinových zbytků a signální peptid je složený z 15 aminokyselinových zbytků vedoucí k formě 224 aminokyselin v délce. β -kasein je nejdelší z 6 hlavních bílkovin mléka. Gen kódující β -kasein je tvořen z 9 exonů. Všechny známé varianty se liší od varianty CSN2*A2 nejvíce 3 výměnami aminokyselin (Farrell et al., 2004; Caroli et al., 2009; Tetens, 2014).

3.2.1.5 α_{s2} -kasein

Forma referenční bílkoviny pro α_{s2} -kasein varianta A se skládá z 222 aminokyselin, včetně 15 aminokyselin signálního peptidu. α_{s2} -kasein vykazuje nejméně genetické variability ze 4 kaseinů. Z varianty CSN1S2*A jsou známy pouze 3 varianty: CSN1S2*B, CSN1S2*C a CSN1S2*D. CSN1S2*B a CSN1S2*C se liší od varianty CSN1S2*A jednou nebo třemi výměnami aminokyselin. Varianty CSN1S2*D se však liší od referenční varianty delecí

(ztrátou) 9 aminokyselinových zbytků z pozic 51 až 59 v důsledku vynechání exonu VIII (Caroli et al., 2009; Tetens, 2014).

3.2.1.6 κ -kasein

κ -kasein se skládá ze 169 aminokyselinových zbytků. Signální peptid je tvořen z 21 aminokyselinových zbytků, představující formu 19 aminokyselin v délce. Je popsáno nejméně 14 genetických variant κ -kaseinu: A, AI, B, B2, C, D, E, F1, F2, G1, G2, H, I a J s variantou CSN3*A představující referenční variantu. Varianta CSN3*AI se liší od referenční varianty pouze synonymní mutací, to však nemá vliv na protein. Všechny ostatní varianty se liší od referenční varianty alespoň 1 výměnou aminokyseliny (Caroli et al., 2009; Tetens, 2014).

3.2.1.7 Syrovátkové bílkoviny

Jsou to mléčné bílkoviny, které zůstávají rozpustné v mléčném séru po vysrážení kaseinů při pH 4,6 a teplotě 20°C. Syrovátkové bílkoviny vykazují poměrně vysokou hydrofobnost a obsahují celistvé peptidové řetězce. V důsledku toho dochází k denuraci a tedy ke ztrátě jejich terciární struktury při teplotách nad 70°C. Obsahují větší množství esenciálních aminokyselin, jakož i sírné aminokyseliny ve srovnání s kaseiny a tudíž mají vyšší nutriční hodnotu (Farrell et al., 2004; Tetens, 2014).

3.2.1.8 α -laktalbumin

Je globulární protein, který je vylučován do prsní žlázy. α -laktalbumin hraje důležitou fyziologickou roli v mléčné žláze, protože přispívá k tvorbě laktózy (Tetens, 2014).

Gen kódující α -laktalbumin u skotu se označuje jako LAA a skládá se ze 4 exonů. Struktura α -laktalbuminu obsahuje 142 aminokyselin včetně 19 aminokyselin signálního peptidu. 3 varianty (A, B a C) α -laktalbuminu jsou známy již dlouhou dobu. 2 z nich: LAA*A a LAA*B byly potvrzeny na úrovni DNA. Varianta B α -laktalbuminu je považována za referenční variantu. Varianta LAA*A se liší od LAA*B 1 výměnou aminokyseliny. Varianta C byla identifikována pouze u banteng skotu (*Bos javanicus*) na úrovni proteinů, ale nebyla potvrzena na úrovni DNA. V roce 2012 byla objevena nová varianta α -laktalbuminu, která je označena jako varianta LAA*D (Farrell et al., 2004; Tetens, 2014).

3.2.1.9 β -laktoglobulin

β -laktoglobulin není přítomen v mateřském mléce, což ho předurčuje jako alergen ovlivňující významné procento kojenců, kteří jsou krmeni přípravky umělé kojenecké výživy z kravského mléka (Malacarne et al., 2002).

β -laktoglobulin je extrémně odolný vůči proteolýze. Je potenciální nosič pro hydrofóbní sloučeniny jako jsou palmitová kyselina, retinol a retinová kyselina. Primární struktura proteinu se skládá ze 162 aminokyselin u skotu i u ovcí. Signální peptid má délku 16 až 18 aminokyselin v daném pořadí. Sekundární struktura β -laktoglobulinu obsahuje z 10-15 % α -helix, 43 % β -list a 47 % neuspořádané struktury včetně „ β -zátáček“, což vede k celistvé globulární struktuře. Je známo 11 variant β -laktoglobulinu: A, B, C, D, E, F, G, H, I, J a W. Gen se označuje jako LGB a skládá se ze 7 exonů. Všechny identifikované varianty se liší od referenční varianty LGB*B alespoň 1 výměnou aminokyseliny v proteinu (Caroli et al., 2009; Tetens, 2014).

3.2.1.10 Dopad variant mléčných bílkovin

Varianty mléčných bílkovin mají vliv na uvolňování bioaktivních peptidů. Bioaktivní peptidy jsou specifické proteinové fragmenty, které mají vliv na tělo a jsou schopné mít vliv na zdraví. Zejména 6 hlavních mléčných bílkovin představuje důležitý zdroj bioaktivních peptidů. Orální příjem bioaktivních peptidů může ovlivnit hlavní tělesné systémy (trávicí, imunitní, kardiovaskulární). Vykazují různé fyziologické činnosti (antimikrobiální a antioxidační). Mnoho bioaktivních peptidů se přirozeně vyskytuje v tradičních potravinách a slouží jako zásadní složky výrobků uváděných na trh jako „funkční potraviny“ (Hartmann and Meisel, 2007; Tetens, 2014).

3.2.1.11 Varianty mléčných bílkovin jako alternativa pro jedince s alergií

Je velmi důležité zvolit správnou náhražku mléka u lidí trpících alergií na bílkoviny mléka. Detekce genetických variant mléčných bílkovin se sníženou alergenicitou mohou přispět k nalezení vhodných alternativ pro alergické jedince. Genetické polymorfismy mléčných bílkovin mají stále větší význam (Lisson et al., 2014).

Lisson et al. (2014) provedli studii, ve které byl na základě alergenových epitopů (oblast antigenu, na kterou se váží protilátky) zkoumán vliv genetických polymorfismů na

IgE – vazebných vlastností na epitopy z α_{S1} -CN, α_{S2} -CN a κ -CN pomocí DNA čipu. Tato studie měla za cíl zjistit, zda genetické varianty specifických bílkovin (kaseinů) mají vliv na alergenní potenciál. Výsledky této studie ukazují, že genetické varianty kaseinů se liší v závislosti na jejich alergenním potenciálu. To může být užitečné při hledání vhodného zdroje proteinů pro lidi alergických na mléčné bílkoviny.

Albenzio et al. (2016) uvádějí, že genetické polymorfismy u kozího mléka hrají důležitou roli při vyvolání různého stupně alergické reakce u pacientů trpících alergií na bílkoviny mléka.

3.3 Alergie na mléčné bílkoviny

Alergie na mléko patří mezi potravinové alergie. Přecitlivělost, která je spuštěná imunitním mechanismem, se nazývá potravinová alergie. Potravinová alergie je zprostředkována především protilátkami IgE (imunoglobulin E). Jiné mechanismy potravinové alergie jsou tzv. „non IgE“ potravinová alergie, u které je typický pozdní buněčný typ imunitní přecitlivělosti. Imunitně zprostředkované potravinové nežádoucí účinky mohou být rozděleny do 4 kategorií: zprostředkované IgE, „non IgE“ zprostředkované, smíšené a buňkami zprostředkované reakce. 80–90 % potravinových alergií je vyvoláno těmito potravinami: kravské mléko, vejce slepic, mouka pšeničná, arašídý, sója, ořechy, ryby a korýši. Kravské mléko dominuje u dětí, ořechy a arašídý u dospělých jedinců. Alergií na kravské mléko trpí přibližně **2,5 % dětí** do 3 let věku, což je vysvětlováno nezralostí imunitního systému zažívacího traktu dětí. Alergií na bílkoviny kravského mléka trpí zhruba **0,1 % dospělých lidí** (Drápal a kol., 2003; Lifschitz and Szajewska, 2015).

Høst (2002) zjistil ve své studii, že **většina kojenců** alergických na mléko **překonává svou alergii**. 45-50 % kojenců ji překonává v 1. roce života, 60-75 % po 2 letech a 85-90 % po 3 letech věku. Skripak et al. (2007) uvedli ve své studii, že alergie na mléko je vyřešena u 19 % dětí od 4 let věku, u 42 % od 8 let, u 64 % do 12 let a u 79 % dětí do 16 let věku. Tyto studie tedy došly k rozdílnému časovému průběhu rozvoje tolerance. Hochwallner et al. (2014) sděluje, že mechanismy v rozvoji klinické tolerance nejsou zcela objasněny.

60 % představují alergické reakce zprostředkované IgE protilátkami a 40 % tvoří alergické reakce zprostředkované jinými imunitními mechanismy („non IgE“ reakce) u dětí do 3 let alergických na kravské mléko. Alergie na potraviny se vyvíjí u geneticky predisponovaných osob (Novotná, 2005).

Látka, která je schopná vyvolat specifickou imunitní odpověď, se nazývá antigen. Antigen, který je schopný provokovat reakci alergickou, to je abnormální, specifickou a nadměrnou imunitní reakci se nazývá **alergen**. Při opakovaném kontaktu s alergenem může dojít k rozvoji abnormální imunitní reakce, k nárůstu protilátek IgE. Tento proces se označuje jako tzv. senzibilizace. Alergenicitu je schopnost potraviny senzibilizovat osobu a vyvolat u ní alergickou odpověď u osoby už senzibilizované. Právě mléko patří zejména u dětí mezi potraviny s nejvyšší alergenicitou (Drápal a kol., 2003; Ettlerová, 2009).

3.3.1 Klinické příznaky a projevy alergie na mléčné bílkoviny

Je uváděno několik mechanismů, které vedou k počáteční senzibilizaci (přecitlivělosti) na mléčné proteiny. Jedna hypotéza je, že může dojít k senzibilizaci před narozením. Bylo zjištěno, že malé množství potravinových proteinů konzumovaných těhotnou ženou může přejít přes placentu na plod. Soudí se, že IgE může být produkován plodem na začátku těhotenství a může být detekován v pupečnickové krvi. Druhu možností je senzibilizace po narození prostřednictvím příjmu mléka. Nicméně, to je ještě diskutováno v případě, že brzký kontakt s proteiny mléka vede k senzibilizaci nebo klinické toleranci na mléko. Alergie na mléko je tedy ve většině případů nemoc raného dětství. Alergie se objeví většinou během prvních 6 měsíců života, často během 1. týdne po zavedení mléčných bílkovin kravského mléka do stravy jedince (Hochwallner et al., 2014; Lifschitz and Szajewska, 2015).

Ettlerová (2009) uvádí, že alergie na mléko má mnoho klinických projevů s postižením trávicího, kožního, oběhového a dýchacího systému. V tab. 3 je zobrazen klinický projev alergie na mléko a imunitní mechanismus alergické reakce. Reakce, které jsou zprostředkované IgE protilátkami, se projevují do 1-2 hodin po pozření. Pozdní reakce se projeví přibližně za 6-48 hodin po pozření, jelikož se v tomto případě uplatňuje pozdní buněčný typ imunitní přecitlivělosti („non IgE“). Alergie na kravské mléko se u dětí projevuje nejčastěji atopickým ekzémem. Projevy alergie na mléko nejsou u dospělých tak vyhraněné jako u dětí.

Klinické příznaky alergie jsou zjevné, ale průkaz souvislosti s alergeny (potravinovými) už tak zřejmý není. Napomoci může osobní či rodinná anamnéza. Příznaky jsou např.: průjemy, nechutenství, zvracení, afty v ústech a pocity plnosti. Mezi časté projevy alergie na mléko patří také chronické alergické záněty trávicího traktu projevující se např. nadýmáním, bolestí břicha a zácpou či průjmem. U akutních alergických reakcí může dojít až k úmrtí v příčině selhání krevního oběhu jako následek kolapsu cév nebo dehydratace v důsledku těžkých průjmů u malých dětí. U dospělých se alergie na mléko může také projevit chronickým zánětem trávicího traktu, což má za následek úbytek tělesné hmotnosti. Mezi nejčastější projevy IgE zprostředkované alergické reakce patří akutní kopřivky a mezi nejčastější projevy „non IgE“ zprostředkované reakce patří poškození gastrointestinálního traktu (Fuchs, 2015; Lifschitz and Szajewska, 2015).

Tabulka 3 Klinické projevy alergie na mléko (Ettlerová, 2009)

<u>Klinický projev</u>	<u>Imunitní mechanismus</u>
Systémová anafylaxe	IgE
Kožní reakce	
Atopický ekzém	IgE/non IgE
Kopřivka/angioedém	IgE
Reakce trávicího traktu	
Orální alergický syndrom	IgE
Bolest břicha, průjem, zvracení, nevolnost	
○ akutní	IgE
○ chronické střevní záněty:	
Alergická eosinofilní esofagitida, gastroenteritida, proktitida	IgE/non IgE
Potravinovou bílkovinou indukovaná enterokolitida, enteropatie, proktokolitida	non IgE
Kojenecká kolika	IgE/non IgE
Zácpa	Spíše non IgE
Gastroezofageální reflux	IgE/non IgE
Krev ve stolici, neprospívání malých dětí	IgE/non IgE
Reakce dýchacího systému	
Pískavé dýchání, asthma bronchiale	IgE/non IgE
Laryngeální otok / laryngospasmus	IgE
Alergická rýma	IgE
Opakované infekce dýchacích cest	non IgE
Plicní hemosideróza – Heinerův syndrom	non IgE
Oční potíže	
Otok rohovky, zánět spojivek	IgE

3.3.2 Diagnóza alergie na mléčné bílkoviny

Diagnóza potravinové přecitlivělosti je postavená na anamnéze, která vede k určení potravin a k výběru diagnostického postupu. Diagnóza alergie je postavená na anamnéze, klinickém obrazu, kožních „prick“ testech a sérovém specifickém IgE. Je také důležitý správný výběr alergenů ke kožním testům a vyšetření specifických IgE. Kožní „prick“ testy

patří k testům *in vivo*. U kožních testů se používají čerstvé potraviny a komerční potravinové alergeny. Při prokázání specifických IgE v krevním séru nebo v kožních testech lze zjistit, zda se jedná o alergii na potravinu zprostředkovanou IgE protilátkami. Vyšetření specifických IgE patří mezi *in vitro* testům. Sérové hladiny specifických IgG a IgA proti potravinovým alergenům odrážejí expozici potravinou, korelují se střevní propustností a nemají vliv k určení potraviny, která je důsledkem potíží. Proto musí následovat eliminační test, který je založen na vyloučení podezřelé potraviny. Eliminační test má za následek ústup nebo zmírnění potíží. Dále následuje provokační test, který je založen na opětovném zavedení potraviny, což má za cíl vyvolání klinických příznaků. „Zlatým standardem“ je dvojitě zaslepený, kontrolovaný placebem expoziční test, který má za následek vyloučení reakce potravinové, která může být navozena psychicky (Drápal a kol., 2003; Novotná, 2005; Ettlerová, 2009).

3.3.3 Alergeny v mléce

Kravske mléko obsahuje přibližně 30-35 g bílkovin v 1 litru a obsahuje více než 25 různých bílkovin, ale pouze některé z nich jsou známé jako alergenní. V tab. 4 jsou uvedeny známé alergeny kravského mléka. α_{s1} -kasein je nejdůležitější alergen frakce kaseinu a ze syrovátkových bílkovin je to α -laktalbumin a β -laktoglobulin. Struktura alergenů je popsána a jsou zmapovány jejich epitopy (Hochwallner et al., 2014).

Tabulka 4 Alergeny kravského mléka (Hochwallner et al., 2014)

<u>Jméno alergenu</u>	<u>Bílkovina</u>	<u>Konc. (g/L)</u>	<u>Velikost (kDa)</u>	<u>Prevalence (rozšíření) v % pacientů</u>	<u>Alergenní aktivita v % pacientů</u>
Bos d 4	α -laktalbumin	1-1,5	14,2	0-67	12
Bos d 5	β -laktoglobulin	3-4	18,3	13-62	19
Bos d 6	Hovězí sérový albumin	0,1-0,4	66,3	0-76	1
Bos d 7	Imunoglobuliny	0,6-1,0	160	12-36	-
-	Laktoferin	0,09	80	0-35	3
Bos d 9	α_{s1} -kasein	12-15	23,6	65-100	26
Bos d 10	α_{s2} -kasein	3-4	25,2		
Bos d 11	β -kasein	9-11	24	35-44	35
Bos d 12	κ -kasein	3-4	19	35-41	26

U alergických osob je imunitní odpověď na mléko variabilní. Lidé trpící alergií na mléko mohou být senzibilizováni vůči rozdílnému spektru hlavních, popřípadě vedlejších alergenů. Na základě genetické variability se každá bílkovina mléka nachází v několika variantách. Přibližně 75 % jedinců alergických na mléko je senzibilizováno proti několika bílkovinám současně, jen výjimečně vůči jednomu alergenu v mléce. Výsledky studií sdělují, že nejvýznamnějšími alergeny mléka kravského jsou kaseiny. Alergičtí pacienti na mléko jsou obvykle citliví na několik různých kaseinových proteinů. Existují aminokyselinové sekvence a homologie je až 90 % mezi kaseiny z různých mlék savců, jako jsou ovce a kozy (Ettlerová, 2009; Hochwallner et al., 2014).

Poměr bílkovin v kravském mléce (kasein:syrovátkové bílkoviny) je 80:20. V mléce mateřském je poměr 1:1. Vysoké zastoupení kaseinů v mléce kravském je jednou z příčin alergenicity kravského mléka. Pro kojence je v mléčných přípravcích poměr upraven, aby se více blížil poměru v mléce mateřském. Experimenty ukázaly, že zejména neporušené fragmenty α_{s1} -kaseinu jsou zodpovědné za indukci alergické reakce. Data o alergenní aktivitě α_{s2} -kaseinu, β -kaseinu a κ -kaseinu jsou vzácná. β -laktoglobulin jako hlavní alergen syrovátkových bílkovin se nachází u většiny druhů savců, ale nebyl nalezen v mléce člověka a hlodavců. Alergenní potenciál β -laktoglobulinu je přičítán jeho vysoké stabilitě a tím, že není přítomen v mateřském mléce. Nicméně, α -laktalbumin je také velmi důležitý syrovátkový alergen a to díky své schopnosti konvertovat do globulí v kyselém prostředí za zvýšených teplot (Schulmeister et al., 2009; Hochwallner et al., 2010; Hochwallner et al., 2014).

3.3.4 Metody stanovení alergenů

Vzhledem k tomu, že malé množství alergizující potraviny může vyvolat alergickou reakci, přesné informace na etiketách potravin je zásadní pro lidi, kteří trpí alergií na potraviny. Jedním z klíčových bodů, aby se snížilo riziko nekontrolovatelného znečištění potravin „cizími“ alergeny je zavedení přísných procesů čištění výrobních potravinových linek (Galan-Malo et al., 2017).

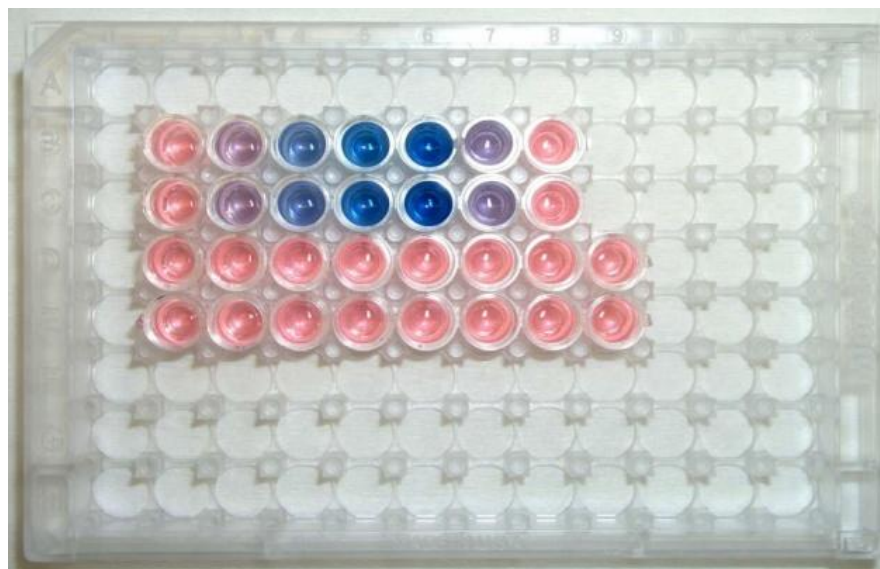
3.3.4.1 ELISA (enzymová imunoanalýza)

ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) je vysoce citlivý imunologický test. Je založen na interakci protilátky a antigenu. ELISA metoda se nejvíce používá ke stanovení

alergenů mléka, ořechů, vajec a obilovin. Nepřímá metoda ELISA je základem pro velké množství sérologických testů, kde detekce protilátek proti alergenům a infekčním patogenům je hlavním diagnostickým ukazatelem onemocnění. Sendvičová ELISA (obrázek 1) umožňuje vysoce specifickou a citlivou detekci a kvantifikaci prakticky jakékoliv antigenní látky, včetně hormonů, cytokinů, toxinů a mikrobiálních patogenů (Paulie et al., 2001; Bulawová, 2015).

Stanovení alergenu v potravine (v mléce) je založeno na reakci alergenu (proteinu) se specifickou protilátkou. Tato specifická protilátka je konjugována s enzymem a vzniká barevná reakce po předchozím přidání substrátu. Intenzita zbarvení se stanoví (odečítá) při určité vlnové délce a kvantifikuje se podle kalibrační křivky. Intenzita zbarvení je úměrná koncentraci alergenu ve vzorcích mléka či v potravine (Paulie et al., 2001; Bulawová, 2015).

Galan-Malo et al. (2017) dokázali detekovat v potravine pomocí analytické metody ELISA „stopy“ mléka a vajec v množství 0,04 a 0,2 μg .

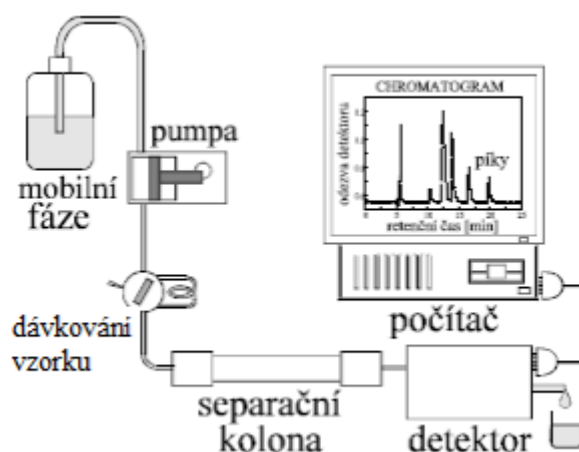


Obrázek 1 Sendvičová ELISA (Bulawová, 2015)

3.3.4.2 HPLC metoda (Vysokoúčinná kapalinová chromatografie)

HPLC metoda (High Performance Liquid Chromatography) je separační metoda, která se používá k separaci široké „palety“ analytů. Dochází zde k distribuci analytu mezi 2 fázemi: mobilní a stacionární. Čím delší dobu stráví analyt v nepohyblivé fázi (stacionární), tím je později eluován (vymýván). Látky, které mají nulovou afinitu k fázi stacionární, nejsou v koloně chromatografu zachycovány a jsou vymývány v tzv. „mrtvém objemu“. Látky, které

mají vysokou afinitu vůči fázi stacionární, jsou ve chromatografické koloně zachycovány po dlouhou dobu a nemusí být vymývány z kolony vůbec. Na obrázku 2 je zobrazeno schéma kapalinového chromatografu. Metoda HPLC se využívá k separaci spousty rozdílných látek (stabilní x nestabilní, polární x nepolární). Využívá se též ke zjišťování změn alergenních proteinů po zpracování potravin (Dohnal a Kadlečková, 2013).



Obrázek 2 Schéma kapalinového chromatografu (Dohnal a Kadlečková, 2013)

3.3.4.3 PCR metoda (Polymerázová řetězová reakce)

PCR metoda (Polymerase Chain Reaction) je metoda, která se často používá ke stanovení alergenů např. mléka, ořechů, sóji, obilovin a celeru. Alergen, spíše jeho specifický úsek DNA je amplifikován pomocí polymerázové řetězové reakce. K amplifikaci DNA se používá enzym DNA-polymeráza. Alergen je identifikován v reálném čase díky fluorescenční sondě. S větším množstvím PCR produktu se zvětšuje fluorescenční signál (Bulawová, 2015).

3.3.4.4 MS (Hmotnostní spektrometrie)

MS (Mass Spectrometry) je separační metoda, ve které je vzorek převeden na ionizovanou plynnou fázi. Ionty, které vznikají, jsou separovány podle podílu hmotnosti a náboje (m/z). V praxi se MS používá často společně s kapalinovým chromatografem, např. k detekci alergenů mléka a ořechů (Dohnal a Kadlečková, 2013).

3.3.5 Zkřížená alergie

Na základě podobnosti alergenů vzniká zkřížená alergie. Existuje tedy shoda (větší než 70 %) v primární struktuře (aminokyselinové sekvenci) alergenů různých druhů potravin (mlék). Protilátky IgE namířené proti alergenu jednomu reagují také s druhým alergenem, který se vyskytuje v potravine jiné. Zkřížená senzibilizace je, že protilátky IgE vytvořené proti jedné potravine reagují v laboratorním testu nebo v kožním „prick“ testu s potravinou další. Výsledkem je tedy pozitivní test „in vitro“ nebo kožní „prick“ test, který nemusí být provázen skutečnou klinickou reaktivitou, zkříženou alergií. Tab. 5 ukazuje, s jakou pravděpodobností se vyskytne zkřížená alergie mezi mlékem kravským a mlékem od ostatních zvířat dávající mléko a hovězím masem. Z tabulky vyplývá, že za alternativní náhražku kravského mléka by nemělo být používáno kozí či ovčí mléko z důvodu vysokého stupně zkřížené reaktivity s kravskými mléčnými bílkovinami. Jako vhodnou náhražku za kravské mléko lze doporučit velbloudí mléko, které však v ČR není běžně na trhu (Ettlerová, 2009; Høst et al., 2014).

Tabulka 5 Zkřížená alergie mezi mlékem kravským a mlékem ostatních živočišných druhů a hovězím masem (Ettlerová, 2009)

<u>Kravské mléko</u>	<u>Kozí, ovčí, buvolí mléko</u>
<ul style="list-style-type: none">○ Je-li osoba alergická na 1 druh mléka, je 90% riziko, že bude reagovat na ovčí mléko, popřípadě na ostatní uvedené druhy○ Zřídka se vyskytuje zkřížená alergie mléka kravského s mlékem kobylicím○ Nevyskytuje se zkřížená alergie mléka kravského s mlékem velbloudím	
<u>Kravské mléko</u>	<u>Hovězí maso</u>
<ul style="list-style-type: none">○ Je-li osoba alergická na mléko kravské, je 10% riziko, že bude reagovat na maso hovězí (po tepelné úpravě masa se riziko snižuje)	

Různé alternativy kravského mléka byly navrženy jako zdroje proteinů (sója, hydrolyzované bílkoviny, kozí mléko atd.), ale ne všechna tato dietetická řešení jsou bez rizik pro citlivější jedince trpící alergií na kravské mléko. Byla zkoumána zkřížená reaktivita mezi mléčnými proteiny z různých druhů zvířat. IgE od dětí s alergií na kravské mléko jsou schopné rozpoznávat větší část mléčných bílkovin ze savců chovaných v evropských zemích (ovce, koza a buvol), zatímco žádné krevní sérum použité v řadě studií neobsahovalo IgE reagující s velbloudími mléčnými proteiny. Velbloudí mléko také nebylo rozpoznáno

cirkulujícími IgE od dětí specificky alergických na ovčí mléko. Vyskytuje se tedy zkřížená alergie proteinů kravského mléka s mléčnými proteiny z jiných druhů savců, s výjimkou velblouda. Velbloudí mléko neobsahuje β -laktoglobulin, který je jedním z hlavních alergenů kravského mléka. Velbloudí mléčné bílkoviny jsou méně odolné vyšším teplotám a snadněji denaturují při zahřátí. Alergická schopnost velbloudího mléka se tímto způsobem snižuje. Homologie ve složení aminokyselin by mohla odůvodnit zkříženou alergii pozorovanou mezi bílkovinami z různých druhů zvířat. Na druhou stranu fylogenetická rozdílnost by mohla být odpovědná za neúspěšné rozpoznání velbloudích bílkovin cirkulujícími IgE (Restani et al., 1999; Al-Hammadi et al., 2010).

Genetické polymorfismy bílkovin kozího mléka hrají důležitou úlohu při vyvolání různých stupňů alergické reakce. Nízké hladiny α -kaseinu v kozím mléce znamenají, že její kasein profil je blíže mateřskému mléku. Alergenicitu mléka kozího je nižší než mléka kravského. Kravské mléko obsahuje okolo 26,5 % α -kaseinu, zatímco kozí mléko obsahuje pouze okolo 19 % α -kaseinu. Je důležité, aby u testování imunitní reaktivity byla zkoumána každá proteinová frakce mléka, než zvolíme kozí mléko jako bezpečnou náhradu za mléko kravské u lidí alergických na mléčné bílkoviny mléka kravského (Albenzio et al., 2012).

3.3.5.1 Izolace a detekce mléčných bílkovin

Kapila et al. (2013) provedli svou studii zabývající se alergickou senzibilizací mléčných bílkovin krav, buvolů a koz na myších. Separace proteinů (celkového kaseinu) byla provedena metodou izoelektrického srážení (isoelectric precipitation method). Shromážděné kravské, buvolí a kozí mléko bylo centrifugováno při 5000 x g po dobu 20 minut při teplotě 4°C, čímž se získá odstředěné mléko. Ihned po odběru se odstředěné mléko zahřeje na 40°C, pH se upraví na 4,6 v kravském a buvolím mléku a kozí mléko se upraví na pH 4,1 s roztokem kyseliny chlorovodíkové s následným mícháním po dobu 30 minut. Vzniklá sraženina se oddělí filtrací a promyje se 3x až 4x destilovanou vodou, dokud hodnota pH nepřijde k hodnotě 7. β -laktoglobulin zbude v mléce po vysrážení kaseinu. Proces srážení se opakuje 3x, aby se odstranily veškeré zbytky jiných syrovátkových bílkovin z roztoku β -laktoglobulinu. Cukr a soli byly odstraněny z produktu dialýzou. Myšim byly podávány injekčně vzorky mléčných bílkovin. Jeden týden po poslední injekci se myši usmrtní a krev je získána srdeční punkcí a krevní sérum se oddělí odstředováním při 1500 x g po dobu 10 minut. Celkové hladiny IgE protilátek kaseinů a β -laktoglobulinu byly detekovány za použití metody ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay).

Kapila et al. (2013) ve své studii naznačují, že mléčné bílkoviny krav jsou více alergenní oproti buvolímu a kozímu mléku. Složení kravského, buvolího a kozího mléka je velmi podobné, ale existují malé rozdíly v bílkovinných frakcích, což má za následek změny v imunologických a fyzikálně-chemických vlastnostech. Ze studie vyplývá, že kravské a buvolí mléko má vysoký obsah α -kaseinu (45,4 a 44,8 %) a následně β -kaseinu (35,2 a 35,8 %) a κ -kaseinu (19,4 a 19,2 %). Na druhou stranu kozí mléko má vyšší obsah β -kaseinu (60,8 %), než α -kaseinu (25,4 %) a κ -kaseinu (13,8 %). Kravské bílkoviny vykazovaly zvýšené humorální a buňkami zprostředkované reakce, ve srovnání s kozími a buvolími bílkovinami.

3.3.6 Alergie na kozí či ovčí mléčné bílkoviny

Raghani et al. (2016) uvádějí, že alergie na kravské mléko je dobře dokumentována v literatuře, ale alergie na kozí či ovčí mléko je vzácnějším subjektem. Proto provedli studii se 108 pacienty (101 dětí a 7 dospělých), kteří měli diagnostikovanou alergii na kozí nebo ovčí mléko. U těchto pacientů byla atopická anamnéza v 1. stupni (rodiče, sourozenci) přítomna v poměru 1:2, 91 % pacientů mělo atopii, 57 % mělo atopické dermatitidy, alergické rýmy 44 %, 72 % astma, 46 % ostatní potravinové alergie (vejce, arašíd, ořechy). U dětí byl průměrný věk nástupu alergie na mléko koz či ovcí 5,3 let (rozmezí 6 měsíců až 17 let) a 63 % tvořili chlapci. Testování zahrnuje měření specifických IgE a kožní testy. Pozorované příznaky alergie na kozí/ovčí mléko: kopřivka, otok a anafylaktický šok. Alergické projevy jsou závažné, protože mohou vyústit v anafylaktický šok, klinický obraz je často variabilní. Alergie na kozí či ovčí mléko se vyskytuje většinou u dětí a výskyt alergie je častý u lidí s atopickou historií. Alergie na kozí či ovčí mléko není vždy spojena s alergií na kravské mléko. Ve studii byla pozorována alergie na kravské mléko u 26 lidí ze 108 (všichni měli diagnostikovanou alergii na kozí/ovčí mléko).

Beaumesnil et al. (2013) sdělují, že u některých jedinců je alergie na kozí či ovčí mléko „propojena“ s tolerancí na kravské mléko. U některých těchto jedinců se objevuje alergická reakce pouze na sýry z kravského mléka, ale na kravské mléko nikoli. Kaseiny mléka jsou hlavním alergenem u pacientů s alergií na kozí/ovčí mléko a také 1-105 peptid, který je přítomen v sýru z kravského mléka, ale není přítomen v kravském mléce. Tento peptid je generován štěpením kaseinu pomocí chymosinu při výrobě sýru. Někteří pacienti na kozí či ovčí mléko tedy reagují na sýry z kravského mléka, ale ne na kravské mléko. Reakce u těchto jedinců na sýry z kravského mléka jsou méně závažné než na kozí či ovčí mléko.

3.3.7 Prahová dávka

Nejmenší množství potravin, které vyvolá příznaky alergické reakce, se nazývá prahová dávka. Prahová dávka je stěžejní pro vyvolání alergické reakce. Stanovit prahovou dávku je velmi obtížné, protože provádět studie u přecitlivělých jedinců je rizikové. Určení prahové dávky závisí na typu a stupni imunitní přecitlivělosti. Při přecitlivělosti zprostředkované IgE protilátkami je pro některé osoby nebezpečné i velmi malé množství (miligramy) mléka kravského. Riziko nehod způsobených znečištěním vyráběných potravin „cizími“ alergeny je velkým problémem pro alergiky. K vystupňování reakce může dojít při tělesné námaze, požití alkoholu, vlivem infekčního onemocnění či požitím některých léků. U reakcí zprostředkovaných „non IgE“ mechanismem imunitní přecitlivělosti je obvykle menší množství mléka tolerováno a problémy se registrují až při dlouhodobějším požívání. Pro atopický ekzém je tato situace typická (Morisset et al, 2003; Ettlrová, 2009).

Morisset et al. (2003) uvádí, že u studovaných jedinců zaznamenali reakci na bílkoviny kravského mléka, kdy množství podávaného mléka bylo menší než 0,1 ml.

3.3.8 Změna alergenicity při zpracování a trávení mléka

Získání tolerance na mléko v mladším věku, a tedy i schopnost malých dětí „přerůst“ potravinovou alergií, může být dosaženo použitím tepelného zpracování u některých alergenních potravin. Potravinové alergeny mohou během skladování, úpravy potravin či tepelného zpracování podléhat změnám, které mohou zapříčinit redukci alergenicity v důsledku destrukce a inaktivace alergenu. Ve zpracované potravíně však mohou vznikat i nové alergeny, tzv. neoalergeny. Mléko však obsahuje proteiny dobře odolné vůči nízkému pH, vysoké teplotě a trávicím enzymům. Ve většině případů je alergie na mléko provázena i alergií na výrobky z mléka, jelikož labilní alergeny, které by se mohly během zpracování mléka měnit, jsou jen alergeny vedlejšími, které nejsou obvykle zodpovědné za rozvoj alergie (Drápal a kol., 2003; Ettlrová, 2009; Kosti et al., 2013).

Změna alergenicity mléka nebyla prokázána vlivem homogenizace. Ke změnám alergenicity dochází při postupech, ve kterých je odstraněna část bílkovin od základní potravin (např. oddělení syrovátky při výrobě tvarohu). Avšak vlivem enzymů, které se vyskytují v mléce, dochází k rozštěpení kaseinu na malé fragmenty, které se mohou vyskytnout v syrovátce, proto může nastat alergická reakce na kaseiny po požití syrovátky. Alergeny mléka se dělí na termolabilní: β -laktoglobulin, imunoglobulin a sérový albumin a termostabilní: kasein a α -laktalbumin. Při teplotě 100°C po dobu 10 minut se mírně snížila

alergická reakce, avšak při působení velmi vysokých teplot je naopak vyšší riziko alergenicity β -laktoglobulinu, protože mohou vznikat neoalergeny. Kaseiny jsou citlivé vůči proteolytickým enzymům. α -laktalbumin je také velmi labilní. Naopak byla prokázána vysoká stabilita β -laktoglobulinu při pH 1,2 působením pepsinu (napodobené prostředí v žaludku). Degradovatelného β -laktoglobulinu přibývá působením trypsinu. Sérový albumin je velmi odolný vůči trávicím enzymům. Při výrobě mléčných výrobků dochází k mnoha výrobním postupům, které mohou zapříčinit změnu proteinů. Schopnost zpracovaných potravin usnadnit toleranci na mléko může být neocenitelná při úspěšné léčebné strategii při potravinových alergiích. Avšak z klinické praxe je známé, že u většiny alergických jedinců na mléko nastává i alergická reakce po požití mléčných výrobků i výrobků, do kterých byla přidána mléčná bílkovina (Ettlerová, 2009; Kosti et al., 2013).

Kim et al. (2011) zveřejnili studii, která uvádí, že tolerance pečených mléčných výrobků je prognostickým indikátorem pro rozvoj tolerance na mléko a že zahrnutí pečených mléčných výrobků do každodenní stravy má pozitivní vliv na rozvoj tolerance.

K významné redukci alergenicity vede **hydrolyza bílkovin**, stěžejní je stupeň hydrolyzy. U extenzivně hydrolyzovaných mléčných přípravků je velmi malé riziko alergické reakce na bílkoviny mléka u alergických jedinců. U částečně hydrolyzovaného proteinu je riziko senzibilizace jedince podstatně vyšší (Drápal a kol., 2003).

3.4 Výživa, léčba a prevence při alergii na mléčné bílkoviny

V současné době neumíme alergii na mléko léčit. Spolehlivou možností, jak předejít alergické reakci, je vyloučení mléčné bílkoviny v jakémkoliv podobě z jídelníčku. Jedinci, kteří trpí závažnou anafylaktickou reakcí, reagují už na nízkou prahovou dávku mléka (miligramová množství). Tito jedinci musí velmi striktně vyloučit mléko ze svého jídelníčku. Většina lidí alergických na mléko se musí vyhýbat nejen mléku, ale i mléčným výrobkům: jogurt, sýr, máslo, margarín, tvaroh, zmrzlina, pudink atd. Bílkoviny mléka se mohou nacházet (jako aditiva) např. i v pekařských a cukrářských výrobcích, v uzeninách, čokoládě či v alkoholických nápojích. Mezi schválené „léčby“ při potravinové alergii patří vyhýbání se rizikovým potravinám a podávání léků při náhodné expozici s potravinou, která vyvolává alergickou reakci u citlivých jedinců (Ettlerová, 2009; Babaie et al., 2017).

Jakmile je u jedince diagnostikována alergie na mléko, je kladen důraz na vylučovací dietu. Přehodnocení se provádí každých 6 měsíců a dochází se k určení, zda je jedinec kandidátem na „znovu zavedení“ mléka do jídelníčku. Mléko se začíná začleňovat do

jídelníčku nejprve tepelně zpracované, pokud je dobře snášeno, může se pokračovat s přidáváním např. mléčných výrobků či čerstvého mléka, ale pouze u jedinců s prokázanou plnou tolerancí na mléko (Lifschitz and Szajewska, 2015).

3.4.1 Význam mléka ve výživě

První výživou narozeného dítěte je mateřské mléko. Jedná se o biologicky nejvhodnější výživu, kterou může dítě přijímat. Mateřské mléko obsahuje dostatečné množství biologicky aktivních látek a vhodné množství tekutin, které zajišťují správný vývoj a růst dítěte. Mateřské mléko obsahuje především vitaminy E, C a A, ale neobsahuje vitaminy D a K, což lze vysvětlit pomalejším přizpůsobováním se kojence k negativním vlivům prostředí. Kravské mléko obsahuje především vitaminy D a B. Význam mléka a mléčných výrobků je ve výživě starších dětí a dospělých stále velmi důležitý. Příjem mléka by měl stále tvořit určitou část ve výživě lidí. 0,5 l mléka obsahuje přibližně 20-25 % denní doporučené dávky bílkovin či 40-45 % doporučené denní dávky živočišných bílkovin. Mléko je významným zdrojem kvalitních bílkovin, aminokyselin (leucin, lysin, prolin, valin, cystein, methionin, aspartová a glutamová kyselina) vápníku, hořčíku a minerálních látek. Konzumace mléka má vliv na zdravý vývoj kostí a zubů a hraje důležitou roli v prevenci rizika vyššího krevního tlaku a v prevenci proti osteoporóze. Pro děti s alergií na mléčné bílkoviny lze nalézt náhradní řešení v konzumaci mléka. I pro rizikové skupiny může být strava dobře kompenzována (Drbohlav a Vodičková, 2001; Tláskal, 2006).

3.4.2 Výživa kojených dětí s alergií na mléko

Nedoporučuje se vyhýbat konzumaci mléka během těhotenství. U dětí, které vykazují známky alergie na kravské mléko, se doporučuje výlučné kojení po dobu alespoň 4 měsíců, aby se zabránilo zhoršení příznaků. Mechanismy, kterými může výlučné kojení pomoci v prevenci alergického onemocnění, jsou pasivní a aktivní. Pasivní – snížením vystavení kojence exogenním antigenům a aktivní tím, že mateřské mléko poskytuje látky, které jsou schopné chránit dítě proti infekcím a podporovat rozvoj zdravé střevní mikrobioty (Lifschitz and Szajewska, 2015).

Vznik přecitlivělosti na mléko je možné i u plně kojených dětí, jelikož do mléka mateřského pronikají stopy proteinů mléka jako např. β -laktoglobulin z výživy matky. Tedy u kojených dětí, které mají alergii na mléko, by matka měla vyloučit ze svého jídelníčku

mléko a mléčné výrobky a měla by přijímat doplňky vápníku, aby nahradila příjem mléka (Ettlerová, 2009; Lifschitz and Szajewska, 2015).

3.4.3 Výživa kojence s alergií na mléko

Kojencům s alergií na mléko, kteří nejsou kojeni mateřským mlékem, se doporučuje podávat mléko se sníženou alergenicitou. Pro výživu kojence trpícího alergií na mléko existují na trhu přípravky vyrobené na bázi hydrolyzy mléčných bílkovin. Hydrolyzované proteinové formule kravského mléka byly zavedeny v roce 1940. Značně hydrolyzované formule, s maximálně sníženou antigenicitou, jsou úspěšně používány jako náhrada mateřského mléka u mnoha dětí s alergií na mléko. V posledních letech byly částečně hydrolyzované formule vyvinuty pro preventivní použití u vysoce rizikových dětí. I když částečně hydrolyzované formule nejsou „hypoalergenní“, jejich alergenicita je značně snížena ve srovnání s obvyklou kojeneckou výživou (Iwamoto et al., 2016).

Výživu ve formě hydrolyzovaných formulí kravského mléka toleruje až 90 % dětí. Pro zbylých 10 % dětí, které na výrobky na bázi hydrolyzy reagují alergickou reakcí, je vhodný aminokyselinový přípravek. Na trhu jde např. o přípravek Neocate (Ettlerová, 2009).

3.4.3.1 Speciální kojenecká výživa

Na trhu existuje speciální kojenecká výživa (hydrolyzované formule proteinu nebo přípravky na bázi aminokyselin), která se doporučuje přijímat dětem ve věku 6 měsíců nebo mladší. **Extenzivně hydrolyzované formule** obsahují pouze oligopeptidy, které mají molekulovou hmotnost menší než 3000 Da a u kterých nejméně 90 % dětí neprojeví žádné klinické příznaky u dvojité zaslepených kontrolovaných studií. Extenzivně hydrolyzované mléčné přípravky jsou sice bezpečnou náhražkou pro děti alergické na mléko, ale u velmi přecitlivělých jedinců je třeba brát zřetel na to, že si určitou alergenní potenci tyto přípravky ponechají. Vzhledem ke své hořké chuti mohou některé děti odmítat extenzivně hydrolyzované formule. **Částečně hydrolyzované formule** jsou ty, které obsahují snížený podíl peptidů s molekulovou hmotností vyšší než 5000 Da. Při použití částečně hydrolyzovaných bílkovin, se riziko pro senzibilizované jedince výrazně zvyšuje. Tyto formule by neměly být používány při alergii na mléko, což platí i pro přípravky, které se vyrábí na bázi hydrolyzy bílkovin z pšenice, sóji i arašídů. **Aminokyselinové formule** poskytují proteiny pouze ve formě volných aminokyselin. Aminokyselinové formule jsou určeny spíše pro kojence s IgE zprostředkovanou alergií na mléko a s vysokým rizikem

anafylaktické reakce. Jejich vysoká cena se může stát limitním faktorem. **Extenzivně hydrolyzovaná syrovátka nebo kasein** se doporučuje pro kojence s IgE zprostředkovanou alergií na mléko a s nízkým rizikem anafylaktické reakce tedy bez vzniku anafylaxe (Drápal a kol., 2003; Lifschitz et Szajewska, 2015).

Maslin et al. (2016) zjistili ve své studii, že konzumace hydrolyzovaných proteinových formulí v kojeneckém věku má dlouhodobý vliv na preference hořké chuti v pozdějším věku. Chuťové expozice v kojeneckém věku mohou ovlivňovat preference potravin v pozdějším věku. To je důležité zejména u dětí s alergií na mléko, kteří jsou odkázáni na konzumaci hydrolyzovaných proteinových formulí, které jsou typické hořkou chutí.

3.4.3.2 Antigenicita hydrolyzovaných formulí

Je důležité vyhodnotit antigenicitu hydrolyzovaných formulí pro jejich bezpečné používání. I když klinické testy, jako dvojité zaslepené, placebem kontrolované jsou velmi spolehlivé, některé jiné klinické postupy jsou také užitečné při hodnocení bezpečnosti hydrolyzovaných formulí. Vyhodnocení vazebné aktivity protilátky, např. testem ELISA na zvířecích protilátkách nebo CAP inhibice v krevním séru pacientů s alergií na mléko kravské jsou kvantitativní metody *in vitro*. Testování *in vivo* na laboratorních zvířatech jako jsou krysy, myši nebo morčata je také používáno při hodnocení antigenicity. V klinické praxi je test aktivace bazofilů (BAT – basophil activation test) velmi ceněn pro užitečnost při diagnostice IgE – zprostředkovaných alergických onemocnění. BAT spočívá v testování *in vitro* za použití periferních bazofilů pacienta, které jsou citlivé na specifické IgE. Aktivaci bazofilů indukovaných alergenem odhaduje průtoková cytometrie - buněčná separace, sloužící k separaci částic (Iwamoto et al. 2016).

Iwamoto et al. (2016) provedli studii, jejímž cílem bylo zhodnotit užitečnost testu aktivace myších bazofilů (BAT) při vyhodnocení zbytkové antigenicity hydrolyzovaných proteinových formulí. Vzorky myší krve byly inkubovány s jednou z následujících bílkovinných formulí: konvenční, částečně hydrolyzovaná nebo značně hydrolyzovaná. Bazofilní aktivace byla analyzována průtokovou cytometrií za použití IgE – dependentní aktivace markerů CD200R1 a IgG – dependentní aktivace se značkou CD200R3. Systémová anafylaxe byla vyvolána injekcí mléčné formule a výsledky byly pozorovány. U konvenčních formulí byly pozorovány výrazné změny na CD200R1 a CD200R3 projevem na bazofilech. Zatímco u značně hydrolyzovaných formulí nebyly pozorovány žádné změny u těchto markerů. Stejných výsledků bylo dosaženo i u anafylaxe, kdy značně hydrolyzované formule

nevykazovaly anafylaxe. Částečně hydrolyzované formule způsobily basofilní aktivaci a systémovou anafylaxi, avšak rozsah těchto účinků byl menší, než bylo pozorováno u konvenčních hydrolyzovaných formulí. Studie ukazuje, že značně hydrolyzované formule nevykazovaly antigenicitu a jsou tudíž dobrým zdrojem výživy u většiny dětí alergických na bílkoviny kravského mléka.

3.4.4 Výživa kojence „zatíženého“ alergií na mléko

Pro kojence, který je zdravý – netrpí alergiemi, ale je „zatížený“ alergickými reakcemi v rodině (rodiče, sourozenci) a je převáděn na umělou kojeneckou výživu či novorozenec přikrmovaný umělou kojeneckou výživou, jsou hypoalergenní částečně hydrolyzované formule velmi šetrné a vhodné. Obsahují sice látky s určitou alergicitou, ale v menší míře než mléko, kde není bílkovina štěpena. Toto štěpení může navodit v obranyschopnosti kojence lepší snášenlivost cizorodých látek. Při i před podáváním částečně hydrolyzovaných mléčných formulí by nemělo být podáváno mléko, které nemá hydrolyzovanou bílkovinu, aby nedocházelo k zatížení organismu mlékem (Gregora a Zákostecká, 2006).

3.4.5 Výživa dětí starších 6 měsíců a dospělých s alergií na mléko

Sójové formule se doporučují u alergických dětí ve věku 6 měsíců a starších. Sójové formule se doporučují především u IgE zprostředkovaných případech, než u „non IgE“ zprostředkované alergie. Tyto formule mají nižší cenu a lepší chuť, než hydrolyzované formule. V případě alergie na mléko se doporučuje podávat mléčné směsi minimálně do 2 let věku dítěte. U dětí starších a dospělých lidí se často doporučuje sója jako náhrada za mléko. Sója se však také vyznačuje alergicitou: 10-20 % lidí trpících alergií na mléko, je alergických i na sóju, proto její konzumace musí být konzultována s odborníkem (Hochwallner et al., 2014; Lifschitz and Szajewska, 2015).

V jídelníčku lidí, kteří nekonzumují mléko a mléčné výrobky je třeba brát zřetel na doplnění bílkovin a vápníku. Ve stravě těchto lidí je zapotřebí přidat více ryb, pomazánek z masa, častěji konzumovat luštěniny a vejce. Vhodná je konzumace sóji (pokud jedinec alergický na mléčné bílkoviny nereaguje též na bílkoviny sóji), protože je bohatá na velmi kvalitní bílkoviny, ale množství se nemá přehánět kvůli její estrogení aktivitě. Obsah bílkovin se v luštěninách po uvaření snižuje. Např. čočka v suchém stavu obsahuje ve 100 g 23,4 g bílkovin, ale po uvaření obsahuje pouze 7 g bílkovin. V ořechách a semínkách najdeme též bílkoviny a vápník, ale je hůře vstřebatelný. Konopné semínko má dobré zastoupení

bílkovin. Na trhu jsou k dispozici veganské bílkoviny sloužící k obohacení běžné stravy. Při navýšení bílkovin ve stravě je vhodné navýšení i obilovin (amarant, quinoa, pohanka). Vhodné doplnění esenciálních aminokyselin je zobrazeno v tab. 6. Pro zajištění dostatečného množství vápníku se doporučuje konzumace kapusty, máku a sardinek (Hlavatá, 2016).

Tabulka 6 Zdroje esenciálních aminokyselin ve stravě (Hlavatá, 2016)

<u>Aminokyselina</u>	<u>Zdroj aminokyseliny ve stravě</u>
Leucin	Pšenice, kukuřice, maso
Isoleucin	Maso, vejce, avokádo, vlašské ořechy, obiloviny
Valin	Pistácie, řepa, rýže, zelené listové saláty, rajčata, cuketa, broskve
Lysin	Maso, krabí maso, ryby, celer, vejce, sójové výhonky
Tryptofan	Hovězí maso, drůbeží maso, fenykl, hrášek, ořechy, vejce
Threonin	Maso, cereálie, listová zelenina, vejce, mrkev, papája
Methionin	Maso, losos, celozrnné pečivo, zelí, rýže, česnek, zelená zelenina
Fenylalanin	Špenát, ananas, mrkev, rajčata, červená řepa, jablka

3.4.6 Náhražky mléka

Mléko jiných savců se často uvádí jako náhražka kravského mléka. Vzhledem ke zkřížené alergii s kozím a ovčím mlékem, není vhodnou alternativou použít tato mléka jako náhražku za mléko kravské. Oslí, kobydí a velbloudí mléko se liší od kravského mléka s ohledem na jejich bílkovinné složení a jsou tudíž lépe přijímány. Mléko můžeme z části nahradit „mléčnými nápoji“ z kokosů, mandlí, lískových ořechů, sóji, ovsa, brambor nebo rýže, ale nedoporučují se jako plnohodnotná náhražka za mléko kvůli jejich nutriční nedostatečnosti. Ve srovnání s kravským mlékem, většina z nich jsou nízkoenergetické a mají nižší obsah bílkovin a jejich využitelnost je horší (Hochwallner et al., 2014; Lifschitz and Szajewska, 2015).

3.4.6.1 Oslí mléko jako náhražka kravského mléka

Murgia et al. (2016) provedli studii, ve které bylo prozkoumáno charakteristické složení oslího mléka. Sloučeniny jako aminokyseliny, organické kyseliny a sacharidy byly analyzovány pomocí GC-MS pro oslí a mateřské mléko. Výsledky analýzy ukázaly, že profil oslího mléka je velmi podobný mateřskému mléku, oproti výživám na bázi kravského mléka.

Oslí mléko má velmi podobné chemické složení a organoleptické vlastnosti jako mateřské mléko. Osel má monogastrický trávicí systém a jeho mléko obsahuje nižší obsah bakterií v porovnání s kravským mlékem. Složky oslího mléka vykazují ochrannou funkci na střevní sliznici. Oslí mléko je považováno za potenciální náhradu mateřského mléka pro kojence s alergií na mléčné bílkoviny kravského mléka.

Monti et al. (2007) studovali toleranci oslího mléka u dětí s alergií na kravské mléko a označili oslí mléko jako platnou alternativu náhražky mléka kravského.

Murgia et al. (2016) uvedli ve své studii, že oslí mléko je bohatým zdrojem lysozymu a má velmi podobné složení jako mateřské mléko. Uvedli, že by oslí mléko mělo být zváženo jako náhražka kravského mléka pro kojeneckou výživu.

3.4.6.2 Kobydí mléko jako náhražka kravského mléka

Kobydí a oslí mléka jsou složením velmi podobná mateřskému mléku. Obsah bílkovin kobydího mléka je vyšší než u mateřského mléka a nižší než u kravského mléka. Obsah kaseinu je střední a je mezi mateřským a kravským mlékem. Kobydí mléko je méně tučné než mateřské a kravské mléko. Kobydí mléko obsahuje poměrně velké množství linolové kyseliny, která nemůže být syntetizována lidmi. V tab. 7 je uvedeno srovnání složek různých druhů mlék (včetně kobydího). Složením je kobydí mléko vhodnější než kravské mléko pro lidskou výživu (Nikkhah, 2012).

Byla provedena studie, kde 25 dětí ve věku 19-72 měsíců s IgE – zprostředkovanou alergií na kravské mléko vykazovaly v kožním testu pozitivní silné reakce na kravské mléko, zatímco pouze 2 děti reagovaly v kožním testu na kobydí mléko. Všechny děti vykazovaly reakci při perorálním podání kravského mléka, zatímco pouze 1 dítě reagovalo na kobydí mléko. Na základě těchto zjištění, kobydí mléko může být vhodnou náhradou kravského mléka v lidské výživě, především pro citlivé jedince na kravské mléko. Kobydí mléko obsahuje méně cholesterolu (45 mg) než kravské mléko (140 mg), čímž představuje nižší riziko aterosklerózy a srdečních onemocnění (Nikkhah, 2012).

Gantner et al. (2014) uvádí, že kobydí mléko je vhodné pro výživu kojenců a vykazuje nižší alergenní potenciál oproti kravskému mléku. Kobydí i mateřské mléko jsou typicky obě albuminová mléka. V obsahu syrovátkových bílkovin je tudíž kobydí mléko vhodnější, než mléko přežvýkavců.

Tabulka 7 Průměrné složení mléka na kg mléka u různých druhů savců (Nikkhah, 2012)

<u>Složka mléka</u>	<u>Kravné mléko</u>	<u>Oslí mléko</u>	<u>Kobylí mléko</u>	<u>Mateřské mléko</u>
Tuk, g	40	11	13	40
Bílkoviny, g	34	17	21	19
Laktóza, g	48	66	64	65
Minerály, g	7	4	4	2
Tukuprostá sušina, g	90	92	93	73
Celková sušina, g	133	102	105	121
Cholesterol, mg	140	22	45	200
Vápník, mg	1200	680	890	320
Fosfor, mg	930	500	560	140
Nasyčené mastné kyseliny, g	24	4	4	18
Monoenové mastné kyseliny, g	11	2	3	16
Polyenové mastné kyseliny, g	1	4	5	5

3.4.6.3 Velbloudí mléko jako náhražka kravného mléka

Kumar et al. (2016) uvádí, že velbloudí mléko je antikarcinogenní, antidiabetické, antihypertenzní a doporučuje toto mléko ke konzumaci u dětí, které jsou alergické na kravné mléko. Vzhledem k vysokému množství β -kaseinu, nízkému množství α -kaseinu a nedostatku β -laktoglobulinu je bezpečnější pro osoby s alergií na kravné mléko. Obsahuje ochranné bílkoviny ve větším množství, což přispívá k jeho funkčnosti.

Boughellout et al. (2016) uvádějí, že bílkoviny velbloudího mléka mají jen velmi malou homologii s proteiny kravného mléka. β -laktoglobulin, hlavní alergenní protein kravného mléka, zcela chybí ve velbloudím mléce. Takovéto rozdíly mohou vést k různým reakcím vyvolané těmito dvěma mléky.

Boughellout et al. (2016) studovali imunoreaktivitu mléčných bílkovin velblouda s použitím krevního séra od dětí s prokázanou alergií na bílkoviny kravného mléka. Ke studii použili vzorky kaseinů a syrovátkových bílkovin z velbloudů z jižního Alžírsko a krevní séra

od 10 pacientů alergických na bílkoviny kravského mléka. Imunoreaktivita bílkovin z velbloudího a kravského mléka byla studována pomocí ELISA metody, která se využívá ke stanovení různých antigenů. U všech 10 krevních sér byla prokázána reaktivita s kaseiny kravského mléka, zatímco pouze u 4 krevních sér proběhla reakce s kaseiny velbloudího mléka a tyto reakce byly podstatně nižší (o 16 až 92 %) ve srovnání s odpovědí na proteiny kravského mléka. Reakce mezi syrovátkovými bílkovinami velbloudího mléka a sérem pacientů byla nižší o 36 až 85 % než u syrovátkových bílkovin skotu. Ze studie vyplývá, že mléčné bílkoviny velbloudího mléka mají velmi slabý antigenní potenciál ve srovnání s proteiny kravského mléka. Použití velbloudího mléka jako náhražky kravského mléka s sebou nese určité riziko vzhledem k jeho zbytkové imunoreaktivitě. Nicméně vzhledem k nízkým alergenním vlastnostem by mohlo být velbloudí mléko použito jako náhrada kravského mléka u dětí s rizikem vzniku alergie na kravské mléko.

3.4.6.4 Kozí a ovčí mléko jako náhražka kravského mléka

Kozí a ovčí mléko není vhodná náhrada u jedinců trpících alergií na bílkoviny kravského mléka vzhledem k riziku zkřížené alergie. Je-li jedinec alergický na kravské mléko je 90% riziko, že bude reagovat i na kozí a ovčí bílkoviny. Alergie na bílkoviny kozího a ovčího mléka je častá alergie a může být zodpovědná za závažné alergické reakce (Raghani et al., 2016).

Kozí mléko se složením bližší mateřskému mléku. Má vyšší podíl β -kaseinu a nižší obsah α_{S1} -kaseinu. Při elektroforetickém srovnání vzorků kozího a kravského mléka byl podíl α_{S1} -kaseinu 3,9 % a 33,7 %. Z nižšího množství α_{S1} -kaseinu v kozím mléce plyne i nižší alergický potenciál. Existují nejméně 4 alelické polymorfismy α_{S1} -kaseinu v kozím mléce, proto množství α_{S1} -kaseinu může kolísat od 0 do 3,6 g/l. Nelze tudíž tvrdit, že mléko kozí není alergenní. Alergenně může působit i β -laktoglobulin a α -laktalbumin. Pravděpodobnost alergie na kozí či ovčí mléko je sice nižší, než na kravské mléko, ale riziko zkřížené alergie je vysoké (až 90 %). Konzumaci kozího a ovčího mléka jako náhradu kravského mléka je třeba zvažovat u každého jedince individuálně. Kozí a ovčí mléko a příkrmy z nich lze využít u dětí s projevy alergie na kravské bílkoviny po konzultaci s odborníkem (Slíva, 2013).

3.4.7 Potřeba vápníku a nutriční obavy

Je důležité, aby byla jedincům alergickým na mléko podávána dobře vyvážená strava se správným poměrem bílkovin, složením aminokyselin a zdrojem vápníku. Suplementace

vápníku není obvykle nutná u kojenců, kteří požívají dostatečné množství speciálních formulí. Když je příjem mléka nižší než 500 ml, tak se doporučuje konzultace se specialistou o potřebě vápníku formou doplňku. Vyloučení mléka z jídelníčku bez správné substituce může vést k nutričnímu nedostatku a špatnému růstu. Uvážením těchto obav, vědecké organizace doporučují příslušnou náhražku mléka vzhledem k věku jedince a výživové poradenství (Hochwallner et al., 2014; Lifschitz and Szajewska, 2015).

Isolauri et al. (1998) analyzovali 100 dětí s průměrným věkem 7 měsíců s diagnózou atopické dermatitidy a s alergií na kravské mléko. U všech jedinců bylo dosaženo klinické kontroly symptomů, avšak délka a váha pacientů byla nižší oproti zdravým dětem odpovídajícího věku. Kromě toho byl pozorován nízký sérový albumin u 6 % pacientů a abnormální koncentrace močoviny ve 24 % případů. Zpoždění růstu bylo výraznější u podskupiny pacientů s časným nástupem symptomů, než u těch s pozdějšími příznaky symptomů atopické dermatitidy a alergie na kravské mléko.

3.4.8 Prevence při alergii na mléčné bílkoviny

Pokyny pro Evropu a Ameriku doporučují výlučné kojení po dobu 4-6 měsíců a pozdější zavedení pevných složek potravin u kojenců s atopickým rizikem. Imunitní systém matky hraje klíčovou roli ve vývoji plodu a v imunitním systému jejího potomka. Zavádění nemléčné stravy má následovat v období tzv. „imunologického okna“ (optimální doba pro setkání s potenciálními alergeny), které je potřebné k navození imunitní tolerance. Pozdější zavádění potenciálních potravinových alergenů zvyšuje riziko alergenizace potravinovými alergeny. Navození tolerance může být klíčové v prevenci ve vztahu k alergii, protože k imunitním procesům může systém imunity dospět, až se s konkrétními antigeny setká. Podle Evropské společnosti pro pediatrickou gastroenterologii, hematologii a výživu a podle evropské nutriční komise v roce 2008 nebylo dokázáno, že by oddalování zavádění potenciálních alergenů do stravy dětí starších 4-6 měsíců mělo vliv na redukci alergických onemocnění. Spíše velmi brzké či pozdější zavádění potenciálních potravinových alergenů může vést k častějšímu výskytu alergické reakce. Novější studie naznačují, že časně zavedení možných potravinových alergenů je přínosné a že tyto děti trpí méně často alergií na mléčnou bílkovinu (Novák, 2011; Saliganti et al, 2017).

Nwaru et al. (2010) provedli studii u 994 dětí a uvádějí, že pozdní zavedení (po 6. měsíci věku) základních potravin do jídelníčku malých dětí vede k častějšímu výskytu senzibilizace na danou potravinu, ale též i na jinou potravinu. Katz et al. (2010) uvádějí, že předčasné vystavení dítěte kravským mléčným bílkovinám jako doplněk při kojení podporuje

toleranci na kravské mléko. Tromp et al. (2011) provedli studii u 6905 dětí a došli k závěru, že zavedení kravského mléka a dalších potravin před 6. měsícem věku dítěte nemá vliv na hvízdavé dýchání či atopický ekzém.

Kojení má psychologický význam, ochranný význam pro střevní sliznici dítěte a příznivě ovlivňuje vývoj systému střevní bariéry. Kojící prsní žláza je součástí integrovaného slizničního imunitního systému produkující protilátky zaměřené zejména proti patogenním látkám v organismu matky i novorozence. U kojení byl potvrzen preventivní účinek v rozvoji potravinové alergie v kojeneckém období dítěte, která se nejčastěji projevuje záněty trávicího traktu a atopickým ekzémem. Pokud je u kojence zvýšené riziko vzniku alergie na mléčnou bílkovinu (např. otec, matka či sourozenec má atopické onemocnění) a matka nemůže dítě kojít, jsou kojenci podávány přípravky na bázi částečné hydrolyzy či aminokyselinové přípravky. Hypoalergenní dieta těhotné a kojící matky se jako preventivní účinek nepotvrdil. Účinnost prevence je zobrazena v tab. 8 (Ettlerová, 2009; Hochwallner et al. 2014; Saliganti et al., 2017).

Tabulka 8 Účinnost prevence senzibilizace na různé druhy potravin u rizikových a i u nerizikových dětí (Fuchs, 2009)

<u>Protialergická prevence</u>	<u>Výsledky studií</u>	<u>Poznámky</u>
Eliminační dieta během těhotenství	Nebylo prokázáno	Nebylo prokázáno ani u rizikových dětí
Eliminační dieta během kojení	Nebylo prokázáno (otazník zůstává u ořechů)	Nebylo prokázáno ani u rizikových dětí, ale existují rozdíly v závěrech různých studií
Plné kojení	Efekt do 4.-6. měsíce věku	-
Náhrady bez obsahu kravského mléka (např. ovčí mléko, sója)	Nebylo prokázáno	-

<u>Protialergická prevence</u>	<u>Výsledky studií</u>	<u>Poznámky</u>
Použití hydrolyzovaných formulí (různý stupeň hydrolýzy bílkovin kravského mléka, syrovátky či kaseinu)	Efekt prokázán v prevenci atopické dermatitidy, atopického ekzému i u potravinové alergie, a to u vysoké hydrolýzy i u částečné hydrolýzy Vyšší efekt u rizikových dětí	Nepříznivý efekt v případě samotného astmatu Více studií ve prospěch vysoké hydrolýzy Rozhodující bývá i dostupnost a cena náhradního mléka
Tuhá (komplementární) strava	Zhruba od 6. měsíce věku včetně ořechů, lepek již mezi 4.-6. měsícem věku	-
Prebiotika	Efekt u rizikových skupin, ale potvrzeno malým počtem studií	Potřeba dalších studií
Probiotika	Částečný efekt prokázán v prevenci atopické dermatitidy, atopického ekzému i u potravinové alergie, ale jen v některých studiích	Opačný efekt prokázán u astmatu a v některých studiích i na samotnou senzibilizaci -> nutnost dalších studií
Kouření během těhotenství a při kojení	Jednoznačně negativní vliv	Riziko alergické reakce na vysoké hladině významnosti

3.4.9 Lékařské ošetření při alergii na mléčné bílkoviny

Léčba alergie na mléko zahrnuje lék antihistaminikum pro mírnou kožní či zažívací reakci a adrenalin pro systémové nebo respirační reakce. Jiné nespecifické léčby zahrnují použití protilátek anti-IgE, které pomáhají snížit volné IgE protilátky v krvi pacientů s alergií. To vede ke snížení aktivace basofilů a zvýšení prahové dávky. Podávání prebiotik, které působí příznivě na kolonizaci gastrointestinálního traktu, bylo testováno u alergických

jedinců. Nicméně podávání prebiotik jedincům trpících alergií na mléko je předmětem diskuze (Hochwallner et al., 2014).

Sierra et al. (2015) provedli studii u 365 zdravých dětí před dovršením 8 týdne věku. Dětem byla podávána umělá kojenecká výživa s prebiotiky či bez prebiotik. Výskyt alergických projevů a infekcí byl zaznamenáván do 12 měsíce věku zkoumaných dětí a vzorky stolice byly shromažďovány po dobu 4 měsíců. Ve vzorcích stolice byl měřen sekreční imunoglobulin A a mastné kyseliny. Fekální analýza prokázala prebiotický účinek u umělé kojenecké výživy s prebiotiky (nižší fekální pH, nižší koncentrace máselné kyseliny, zvýšení buněk *Bifidobacterium*, změny ve složení fekální mikrobiální flóry a ve fekální konzistenci a ve frekvenci defekace. Výskyt alergických projevů a infekcí v průběhu prvního roku života u zkoumaných dětí byl podobný v obou skupinách s žádnými statisticky významnými rozdíly.

Burks et al. (2015) provedli studii, ve které byl kojencům (4,5 + 2,4 měsíce věku) s alergií na mléčné bílkoviny podáván aminokyselinový přípravek (kontrola; n=56) nebo aminokyselinový přípravek se synbiotiky: oligofruktóza, inulin, oligosacharidy a *Bifidobacterium breve* (test; n=54) po dobu 16 týdnů. U studovaných jedinců byly pozorovány alergické příznaky, stolice a růst dětí. Sledované parametry se významně nelišily mezi pokusnou a kontrolní skupinou. Oba dva přípravky byly dobře tolerovány a snižovaly alergické příznaky. Počet nežádoucích účinků se nelišil mezi oběma skupinami. Tato studie sděluje, že aminokyselinový přípravek se synbiotiky je vhodný pro kojence s alergií na mléčné bílkoviny podobně jako aminokyselinový přípravek bez synbiotik.

Imunoterapeutické léčby (léčebné postupy, které používají imunitní přirozené mechanismy) mají již dlouhou historii a je dobře stanovena pro respirační alergie. Imunoterapie byla testována u lidí s potravinovou alergií, ale byla zastavena kvůli těžkým reakcím. Zatím neexistuje žádná schválená léčba na trhu. Další možností by mohla být injekce s dobře definovanými rekombinačními alergeny se sníženou alergenicitou (Hochwallner et al., 2014).

3.4.9.1 Perorální imunoterapie

Rodríguez del Río et al. (2012) uvádějí, že zamezení konzumace mléka a mléčných výrobků u jedinců trpících alergií na mléko je „opatření“ používané již mnoho let. Aktivní léčba založená na perorální imunoterapii má úspěšnost od 65-90 %, proto provedli studii v populaci pacientů léčených na alergii na kravské mléko perorální imunoterapií s cílem posoudit

toleranci na kozí a ovčí mléko. Ve studii bylo 58 pacientů, kteří již dříve absolvovali perorální imunoterapii. Testování bylo provedeno pomocí kožních testů a měření specifických IgE. U 25,9 % pacientů se projevila alergická reakce na 1 kozí nebo ovčí sýr či obojí. Ve studii byla zjištěna vysoká prevalence (26%) alergie na kozí/ovčí mléko u dětí léčených perorální imunoterapií na alergii kravského mléka. Z tohoto důvodu by měla být tolerance na kozí/ovčí mléko posouzena odborníkem s cílem poskytnout přesné poradenství v oblasti výživy a minimalizovat zdraví ohrožující situace při náhodném příjmu potravy, na kterou je jedinec alergický.

3.4.10 Prognóza alergie na mléčné bílkoviny

U dětí do 3 let je předpověď vyléčení alergie na mléko příznivá. Prognóza alergie na bílkoviny kravského mléka je přibližně 45-50 % u dětí do 1 roku, 60-75 % do 2 let věku a 85-90 % do 3 let věku. U jedinců trpících alergií na mléko zprostředkovanou „non IgE“ imunitním mechanismem bývá prognóza příznivější vzhledem k jedincům s vysokými hladinami IgE protilátek proti mléku. U dětí, které mají alergii na mléko zprostředkovanou IgE protilátkami je vyšší pravděpodobnost vývoje dalších alergií na potraviny a alergické rýmy a astmatu do 10 let věku. Jedinci, kteří trpí alergií na mléko zprostředkovanou IgE protilátkami ještě v 6 letech věku mají malou šanci na uzdravení. Nežádoucím faktorem je také přítomnost IgE protilátek proti kaseinu, protože vysoké hladiny specifického IgE proti kaseinu usnadňují přetrvání projevů alergie na mléko. U dospělých jedinců je prognóza alergie na mléko ve většině případů nepříznivá, protože má alergie tendenci přetrvávat (Høst, 2002; Ettlerová, 2009; Høst et al., 2014).

4 Závěr

Bílkoviny mléka vyvolávají u lidí alergii. Ze skupiny kaseinů je nejdůležitější alergen α_{s1} -kasein a ze syrovátkových bílkovin α -laktalbumin a β -laktoglobulin. Stanovit tyto alergenní látky v mléce (v potravinách) lze např. pomocí metody ELISA či PCR metody. Diagnóza alergie a určení složky potravy, na kterou jedinec reaguje je založená na anamnéze, klinickém obrazu, kožních „prick“ testech a sérovém specifickém IgE.

Na základě podobnosti alergenů vzniká zkřížená alergie. Jedinec může být alergický na mléka různých zvířat (např. jedinec může být alergický na kravské i na kozí mléko). Kozí mléko má nízký obsah α -kaseinu a jeho kasein profil je blíže mateřskému mléku. Alergenicitu kozího mléka je nižší, než kravského mléka, avšak je 90% riziko (zkřížená alergie), že jedinec alergický na kravské mléko bude reagovat i na kozí a ovčí mléko. Oslí mléko má velmi podobné chemické složení a organoleptické vlastnosti jako mateřské mléko. Oslí mléko je považováno za vhodnou náhradu kravského mléka. Kobydí mléko vykazuje nižší alergenní potenciál, než mléko kravské. Kobydí mléko stejně jako mateřské mléko patří do albuminových mlék a vzhledem k obsahu syrovátkových bílkovin je kobydí mléko vhodnější pro výživu alergických jedinců, než mléko kravské. Bílkoviny velbloudího mléka mají nízkou homologii s bílkoviny kravského mléka. β -laktoglobulin (hl. alergen kravského mléka) chybí ve velbloudím mléce. Velbloudí mléko vykazuje oproti kravskému mléku nižší alergenní potenciál. Z uvedených mlék vykazuje největší alergenní potenciál kravské mléko.

Vyloučením mléčné bílkoviny z jídelníčku se dá předejít alergické reakci. Alergií na mléčné bílkoviny trpí 2,5 % dětí a 0,1 % dospělých. Jelikož postihuje alergie především děti, existuje na trhu speciální kojenecká výživa, kde jsou bílkoviny mléka hydrolyzovány a jejich alergenní potenciál se snižuje. Mezi speciální výživu pro kojence patří extenzivně a částečně hydrolyzované mléčné přípravky, přípravky na bázi aminokyselin a extenzivně hydrolyzovaná syrovátka či kasein. Mléko může být též nahrazeno přípravky na bázi sóji, avšak až 20 % lidí alergických na mléko je alergických i na sóju. Ve stravě lidí alergických na mléko je zapotřebí přidat více masa (ryb), luštěnin, vajec a popř. nápojů z kokosů, mandlí, sóji, ovesa, brambor a rýže.

Pozitivní je, že k nástupu tolerance na mléko dochází až u 80 % dětí do 3 let věku. Perorální imunoterapie se v současné době zkoumá jako aktivní léčba alergie na mléčné bílkoviny. Existuje mnoho genetických variant mléčných bílkovin a jejich alergenní potenciál se liší, čehož by se mohlo využít při hledání vhodné náhražky mléka pro alergické jedince, ale v současné době se tato „alternativa“ zkoumá.

5 Seznam použité literatury

Albenzio, M., Campanozzi, A., D'Apolito, M., Santillo, A., Mantovani, M. P., Sevi, A. 2012. Differences in protein fraction from goat and cow milk and their role on cytokine production in children with cow's milk protein allergy. *Small Ruminant Research*. 105 (1-3). 202-205.

Albenzio, M., Santillo, A., Avondo, M. 2016. Nutritional properties of small ruminant food products and their role on human health. *Small Ruminant Research*. 135 (SI). 3-12.

Al-Hammadi, S., El-Hassan, T., Al-Reyami, L. 2010. Anaphylaxis to camel milk in an atopic child. *Allergy*. 65 (12). 1623-1625.

Babaie, D., Mesdaghi, M., Nishino, M., Mansouri, M., Ebisawa, M. 2017. Oral and Sublingual Immunotherapy: Potential Causes for Eosinophilic Gastrointestinal Disorders. *International Archives of Allergy and Immunology*. 172 (2). 89-98.

Bijl, E. 2014. Natural variation in casein composition of milk. Wageningen University. Wageningen. p. 145. ISBN 9789461739445.

Boughellout, H., Choiset, Y., Rabesona, H., Chobert, J. M., Haertle, T., Zidoune, M. N. 2016. Lait camelin : nouvelle source de protéines pour enfants allergiques aux protéines du lait de vache? *Revue Française d'Allergologie*. 56 (4). 344-348.

Beaumesnil, M., Denery-Papini, S., Drouet, M., Gaudin, J. C. 2013. Allergy to goat/sheep's milk with good tolerance to cow's milk but not to cow's milk cheese: identification of 1-105 peptide from κ -casein as the molecular basis of reactivity toward cow's milk cheese for two patients. *Research in Immunology: An International Journal*. 1-7. DOI: 10.5171/2013.168397.

Caroli, A. M., Chessa, S., Erhardt, G. J. 2009. Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle. *Journal of Dairy Science*. 92 (11). 5335-5352.

Bulawová, H. Alergeny v potravinách [online]. Státní veterinární ústav v Jihlavě. Jihlava. 16. 3. 2015. [cit. 2017-03-04]. Dostupné z <http://www.akc.cz/pool/priloha_9715.pdf>.

Burks, A. W., Harthoorn, L. F., Van Ampting, M. T. J., Oude Nijhuis, M. M., Langford, J. E., Wopereis, H., Goldberg, S. B., Ong, P. Y., Essink, B. J., Scott, R. B., Harvey, B. M. 2015. Synbiotics-supplemented amino acid-based formula supports adequate growth in cow's milk allergic infants. *Pediatric Allergy and Immunology*. 26 (4). 316-322.

Dohnal, V., Kadlečková, I. Analýza látek pomocí HPLC [online]. Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem. Ústí nad Labem. 17. 10. 2013. [cit.2017-03-08]. Dostupné z <http://chemistry.ujep.cz/userfiles/files/Analyza_latek_pomoci_HPLC_Mevapox17102013.pdf>.

Drápal, J., Ettlrová, K., Hajšlová, J., Hlúbik, P., Jechová, M., Kozáková, M., Malíš, F., Ostrý, V., Ruprich, J., Sosnovcová, J., Špelina, V., Winklerová, D. 2003. Potravinová přecitlivělost: alergie a intolerance: Vědecký výbor pro potraviny. 1. Státní zdravotní ústav Brno.

Drbohlav, J., Vodičková, M. 2001. Tabulky látkové složení mléka a mléčných výrobků. ÚZPI-Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. 85 s. ISBN: 80-727-1005-2.

Ettlrová, K. 2009. Alergie na kravské mléko. *Dermatologie pro praxi: Alergologie a klinická imunologie*. 3 (4). 1-6.

Farrell, H. M., Jimenez-Flores, R., Bleck, G. T., Brown, E. M., Butler, J. E., Creamer, L. K., Hicks, C. L., Hollar, C. M., Ng-Kwai-Hang, K. F., Swaisgood, H. E. 2004. Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk—Sixth Revision. *Journal of Dairy Science*. 87 (6). 1641-1674.

Fuchs, M. 2009. Lze alergiím předcházet? *Pediatr pro praxi*. 10 (2). 82-86.

Fuchs, M. Potravinová alergie [online]. *Postgraduální medicína*. Praha. 19. 5. 2015. [cit. 2017-01-20]. Dostupné z: <<http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/potravinova-alergie-478811>>.

Galan-Malo, P., López, M., Ortiz, J. C., Pérez, M. D., Sánchez, L., Razquin, P., Mata, L. 2017. Detection of egg and milk residues on working surfaces by ELISA and lateral flow

immunoassay tests: Where have we Come from and where are we Going? *Food Control*. 74 (1). 45-53.

Gantner, V., Baban, M., Hanžek, B., Nikolić, D. 2014. Human and mare's milk – Protein fraction and lipid composition. *Poljoprivreda*. 20 (2). 36-42.

Gregora, M., Zákostecká, D. 2006. *Jídelníček kojenců a malých dětí: klasická i bezmasá jídla, alergie na kravské mléko, recepty pro obézní děti, odpovědi na otázky*. Grada. Praha. 162 s. ISBN: 8024715147.

Hartmann, R., Meisel, H. 2007. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology*. 18 (2). 163-169.

Hlavatá, K. Čím nahradit mléčné výrobky při alergii na mléko [online]. *Vím, co jím*. 18. 10. 2016. [cit. 2017-01-30]. Dostupné z <http://www.vimcojim.cz/cs/spotrebitel/zdrava-vyziva/tipy-zdrave-vyzivy/Cim-nahradit-mlecne-vyrobky-pri-alergii-na-mleko__s639x10037.html>.

Hochwallner, H., Schulmeister, U., Swoboda, I., Balic, N., Geller, B., Nystrand, M., Härlin, A., Thalhamer, J., Scheiblhofer, S., Niggemann, B., Quirce, S., Ebner, C., Mari, A., Pauli, G., Herz, U., Van Tol, E. A. F., Valenta, R., Spitzauer, S. 2010. Microarray and allergenic activity assessment of milk allergens. *Clinical & Experimental Allergy*. 40 (12). 1809-1818.

Hochwallner, H., Schulmeister, U., Swoboda, I., Spitzauer, S., Valenta, R. 2014. Cow's milk allergy: From allergens to new forms of diagnosis, therapy and prevention. *Methods*. 66 (1). 22-33.

Høst, A. 2002. Frequency of cow's milk allergy in childhood. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 89 (6). 33-37.

Høst, A., Halken, S., Nishino, M., Mansouri, M., Ebisawa, M. 2014. Cow's Milk Allergy: Where have we Come from and where are we Going? *Endocrine, Metabolic and Immune Disorders – Drug Targets*. 14 (1). 2-8.

- Isolauri, E., Sütas, Y., Solo, M. K., Isosomppi, R., Kaila, M. 1998. Elimination diet in cow's milk allergy: risk for impaired growth in young children. *Journal of Pediatrics*. 132 (6). 1004-1009.
- Iwamoto, H., Matsubara, T., Nakazato, Y. 2016. Evaluation of the antigenicity of hydrolyzed cow's milk protein formulas using the mouse basophil activation test. *Toxicology Letters*. 242 (3). 53-59.
- Kapila, R., Kavadi, P. K., Kapila, S. 2013. Comparative evaluation of allergic sensitization to milk proteins of cow, buffalo and goat. *Small Ruminant Research*. 112 (1-3). 191-198.
- Katz, Y., Rajuan, N., Goldberq, M. R., Eisenberq, E., Heyman, E., Cohen, A., Leshno, M. 2010. Early exposure to cow's milk protein is protective against IgE-mediated cow's milk protein allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 126 (1). 77-82.
- Kim, J. S., Nowak-Węgrzyn, A., Sicherer, S. H., Noone, S., Moshier, E. L., Sampson, H. A. 2011. Dietary baked milk accelerates the resolution of cow's milk allergy in children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 128 (1). 125-131.
- Kopáček, J., Ellmann, M., 2009. Mléko a sója – dva zcela odlišné produkty. *Mlékařské listy*. 113/114. 2-4.
- Kosti, R. I., Triga, M., Tsaouri, S., Priftis, K. N. 2013. Food allergen selective thermal processing regimens may change oral tolerance in infancy. *Allergologia et Immunopathologia*. 41 (6). 407-417.
- Kumar, D., Verma, A. K., Chatli, M. K., Singh, R., Kumar, P., Mehta, N., Malav, O. P. 2016. Camel milk: alternative milk for human consumption and its health benefits. *Nutrition & Food Science*. 46 (2). 217-227.
- Lifschitz, C., Szajewska, H. 2015. Cow's milk allergy: evidence-based diagnosis and management for the practitioner. *European Journal of Pediatrics*. 174 (2). 141-150.

Lisson, M., Novak, N., Erhardt, G. 2014. Immunoglobulin E epitope mapping by microarray immunoassay reveals differences in immune response to genetic variants of caseins from different ruminant species. *Journal of Dairy Science*. 97 (4). 1939-1954.

Malacarne, M., Martuzzi, F., Summer, A., Mariani, P. 2002. Protein and fat composition of mare's milk: some nutritional remarks with reference to human and cow's milk. *International Dairy Journal*. 12 (11). 869-877.

Maslin, K., Grimshaw, K., Oliver, E., Roberts, G., Arshad, S. H., Dean, T., Grundy, J., Glasbey, G., Venter, C. 2016. Taste preference, food neophobia and nutritional intake in children consuming a cows' milk exclusion diet: a prospective study. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 29 (6). 786-796.

McMurry, J. 2007. *Organická chemie*. VUTIUM. Brno. 1260 s. ISBN: 978-80-214-3291-8.

Monti, G., Bertino, E., Muratore, M. C., Coscia, A., Cresi, F., Silvestro, L., Fabris, C., Fortunato, D., Giuffrida, M. G., Conti, A. 2007. Efficacy of donkey's milk in treating highly problematic cow's milk allergic children: An in vivo and in vitro study. *Pediatric Allergy and Immunology*. 18 (3). 258-264.

Morisset, M., Moneret-Vautrin, D. A., Kanny, G., Guenard, L., Beaudouin, E., Flabbee, J., Hatahet, R. 2003. Thresholds of clinical reactivity to milk, egg, peanut and sesame in immunoglobulin E-dependent allergies: evaluation by double-blind or single-blind placebo-controlled oral challenges. *Clinical Experimental Allergy*. 33 (8). 1046-1051.

Murgia, A., Scano, P., Contu, M., Ibba, I., Altea, M., Bussu, M., Demuru, M., Porcu, A., Caboni, P. 2016. Characterization of donkey milk and metabolite profile comparison with human milk and formula milk. *LWT - Food Science and Technology*. 74 (1). 427-433.

Murray, R. K. 2009. *Harper's illustrated biochemistry*. 28th ed. McGraw-Hill. New York. Lange medical book. p. 693. ISBN: 978-0-07-163827-2.

Nikkhah, A. 2012. Equidae milk promises substitutes for cow and human breast milk. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 36 (5). 470-475.

Novák, J. 2011. Výživa kojence a prevence alergických onemocnění. *Pediatric pro praxi*. 12 (6). 406-410.

Novotná, B. 2005. Alergie zažívacího traktu. *Interní medicína pro praxi*. 11 (1). 492-495.

Nwaru, B. I., Erkkola, M., Abonen, S., Kaila, M., Haapala, A. M., Kronberg-Kippilä, C., Salmelin, R., Veijola, R., Ilonen, J., Simell, O., Knip, M., Virtanen, S. M. 2010. Age at the Introduction of Solid Food During the First Year and Allergic Sensitization at Age 5 Years. *Pediatrics*. 125 (1). 50-60.

Paulie, S., Perlmann, H., Blasco, J., Martínez, R., Dalmau, J., Ortuño, I., Espín, B., Vasallo, M. -I., Gil, D., Vidal, M. -L., Infante, D., Leis, R., Maldonado, J., Moreno, J. -M., Román, E. 2001. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: a multicentre, randomised, double-blind and placebo-controlled trial. *ELIS*. John Wiley. Chichester, UK. 54 (1). 1.

Raghani, J., Couderc, L., Bourrier, T., Nemni, A., de Boissieu, D., Drouet, M., Hoppe, A., Just, J., Deschildre, A., Bidat, E. 2016. Observatoire de 108 patients allergiques au lait de chèvre et/ou au lait de brebis. *Revue Française d'Allergologie*. 56 (3). 217-219.

Restani, P., Gaiaschi, A., Plebani, A., Beretta, B., Cavagni, G., Fiocchi, A., Poiesi, C., Velonà, T., Ugazio, A.G., Galli, C.L. 1999. Cross-reactivity between milk proteins from different animal species. *Clinical Experimental Allergy*. 29 (7). 997-1004.

Rodríguez del Río, P., Sánchez-García, S., Escudero, C., Pastor-Vargas, C., Sánchez Hernández, J. J., Pérez-Rangel, I., Ibáñez, M. D. 2012. Allergy to goat's and sheep's milk in a population of cow's milk-allergic children treated with oral immunotherapy. *Pediatric Allergy*. 23 (2). 128-132.

Schulmeister, U., Hochwallner, H., Swoboda, I., Focke-Tejkl, M., Geller, B., Nystrand, M., Harlin, A., Thalhamer, J., Scheiblhofer, S., Keller, W., Niggemann, B., Quirce, S., Ebner, C., Mari, A., Pauli, G., Herz, U., Valenta, R., Spitzauer, S. 2009. Cloning, Expression, and Mapping of Allergenic Determinants of S1-Casein, a Major Cow's Milk Allergen. *The Journal of Immunology*. 182 (11). 7019-7029.

Saliganti, V., Kapila, R., Kapila, S., Bhat, M. I. 2017. Probiotics in the modulation of maternal–infant immunity: Implications for allergic diseases. *Food Reviews International*. 33 (5). 516-537.

Sierra, C., Bernal, M. -J., Blasco, J., Martínez, R., Dalmau, J., Ortuño, I., Espín, B., Vasallo, M. -I., Gil, D., Vidal, M. -L., Infante, D., Leis, R., Maldonado, J., Moreno, J. -M., Román, E. 2015. Prebiotic effect during the first year of life in healthy infants fed formula containing GOS as the only prebiotic: a multicentre, randomised, double-blind and placebo-controlled trial. *European Journal of Nutrition*. 54 (1). 89-99.

Skripak, J. M., Matsui, E. C., Mudd, K., Wood, R. A. 2007. The natural history of IgE-mediated cow's milk allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 120 (5). 1172-1177.

Slíva, J. 2013. Kozí mléko versus zácpa a alergie u dětí. *Pediatric pro praxi*. 14 (5). 336-338.

Tetens, J. L. 2014. Genetic variability of bovine and ovine milk protein genes. Institut für Tierernährung und Stoffwechselfysiologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel. Kiel. p. 121. ISSN: 0720-4272.

Tláskal, P. 2006. Mléko ve výživě dítěte. *Časopis Výživa a potraviny*. 2. Dostupné z < <http://www.vyzivaspol.cz/mleko-ve-vyzive-ditete/>>.

Tromp, I. I., Kiefte-de Jonq, J. C., Lebon, A., Renders, C. M., Jaddoe, V. W., Hofman, A., de Jonqste, J.C. Moll, H.A. 2011. The Introduction of Allergenic Foods and the Development of Reported Wheezing and Eczema in Childhood. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*. 165 (10). 933-938.

Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009. *Chemie potravin. Rozš. a přeprac.* 3. vyd. OSSIS. Tábor. 580 s. ISBN: 978-80-86659-17-6.

6 Seznam tabulek

Tabulka 1 Základní chemické složení mlék v % (Velíšek a Hajšlová, 2009)	10
Tabulka 2 Složení proteinů kravského mléka (Velíšek a Hajšlová, 2009).....	12
Tabulka 3 Klinické projevy alergie na mléko (Ettlerová, 2009)	19
Tabulka 4 Alergeny kravského mléka (Hochwallner et al., 2014)	20
Tabulka 5 Zkřížená alergie mezi mlékem kravským a mlékem ostatních živočišných druhů a hovězím masem (Ettlerová, 2009)	24
Tabulka 6 Zdroje esenciálních aminokyselin ve stravě (Hlavatá, 2016).....	33
Tabulka 7 Průměrné složení mléka na kg mléka u různých druhů savců (Nikkhah, 2012)	35
Tabulka 8 Účinnost prevence senzibilizace na různé druhy potravin u rizikových a i u nerizikových dětí (Fuchs, 2009)	38

7 Seznam obrázků

Obrázek 1 Sendvičová ELISA (Bulawová, 2015)	22
Obrázek 2 Schéma kapalinového chromatografu (Dohnal a Kadlečková, 2013).....	23