

Alergia krzyżowa na jabłka u dzieci uczulonych na pyłek brzozy

Apple allergic cross-reactivity among children with a birch pollen allergy

KRZYSZTOF BUCZYŁKO^{1/}, HALINA BUDKOWSKA^{2/}

^{1/}Zakład Alergologii i Rehabilitacji Oddechowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

^{2/}Oddział Pediatrii Szpitala w Końskich

Streszczenie

Wprowadzenie. Za podstawowy mechanizm reakcji krzyżowych przyjmuje się obecnie występowanie wspólnych determinant alergicznych.

Cel pracy. Celem pracy była ocena alergii krzyżowej dla pyłku brzozy i jabłka u dzieci z alergicznym nieżytem nosa i/lub astmą.

Materiał i metody. Grupę badaną stanowiło 53 dzieci w wieku od 4 do 17 lat, średnia wieku – 10,1 lat (25 dziewcząt – średnio 10,57 lat i 28 chłopców – średnio 9,68 lat). Metodologia opierała się na punktowych testach skórnych (PTS) i oznaczeniu swoistych IgE dla pyłku brzozy (t3), jabłka (f49) oraz epitopów alergenu brzozy: rBet v1, rBet v2 i rBet v4.

Wyniki. W badanej grupie wszyscy chorzy mieli dodatnie wyniki PTS z alergenem brzozy. Wśród nich dodatni wynik ze standardowym alergenem jabłka (Allergopharma) miało 9 chorych (17% badanych), a dodatni wynik PTS z natywnym alergenem jabłka stwierdzono u 31 chorych, tj. 58,5%. Ponadto stwierdzono znamiennej korelację PTS natywnego jabłka ze swoistym IgE dla rBet v1, sIgE pyłku brzozy (t3) i sIgE jabłka (f49). Analogicznej znamienności nie potwierdzono dla PTS standardowym alergenem jabłka.

Wniosek. IgE dla rekombinowanego alergenu Bet v 1, podobnie jak IgE t3 dla standaryzowanego wyciągu pyłku brzozy (w odróżnieniu od rBet v 2 i rBet v 4 i PTS standardowym alergenem jabłka) ujawniają wysoce znamienne cechy alergii krzyżowej z jabłkami w badanej grupie dzieci.

Słowa kluczowe: brzoza, alergia, dzieci, reakcje krzyżowe, jabłko

Summary

Introduction. Common allergenic determinants are currently considered to be the underlying mechanism of cross-reactions.

Aim of the study. The aim of the study was to evaluate the allergic cross-reactivity between birch pollen and apple in children with allergic rhinitis and/or asthma.

Material and methods. The research group included 53 children (25 girls and 28 boys) aged from 4 to 17 years. The mean age of the children was 10.1 years (the girls - 10.57 and the boys - 9.68). The methodology was based on skin prick tests (SPT) and on the determination of specific IgE to birch pollen (t3), apple (f49) and the epitopes of the birch pollen allergen: rBet v1, rBet v2 and rBet v4.

Results. All the patients from the group had a positive SPT to birch pollen. A positive result with a standard apple allergen (Allergopharma) was recorded for 9 patients (17% of all the patients) and a positive SPT to a native apple allergen was recorded for 31 patients (58.5%). Moreover, a significant correlation was observed between the SPT to the native apple and specific IgE to rBet v1, sIgE of birch pollen (t3) and sIgE of apple (f49). An equivalent significance was not observed in SPT to a standard apple allergen.

Conclusion. IgE to the recombinant allergen Bet v 1, as well as IgE t3 to the standardized birch pollen extract (unlike rBet v 2, rBet v 4 and SPT with the standard apple allergen) reveal highly significant features of apple allergic cross-reactivity in the group of children.

Key words: birch, allergy, children, cross-reactions, apple

© Alergia Astma Immunologia 2008, 13(4): 242-249

www.alergia-astma-immunologia.eu

Nadesłano: 19.09.2008

Zakwalifikowano do druku: 14.11.2008

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Krzysztof Buczyłko

Zakład Alergologii i Rehabilitacji Oddechowej UM w Łodzi

pl. Hallera 1, 90-647 Łódź

tel. (42) 639 33 57, e-mail: buczylo@rubikon.pl

Za podstawowy mechanizm reakcji krzyżowych przyjmuje się obecnie występowanie wspólnych determinant alergicznych (epitopów). Scharakteryzowano je z wyciągów naturalnych jako alergen główny brzozy Bet v 1, homologiczny Mal d 1 jabłka, profilina brzozy Bet v 2, białko Bet v 4 itd. Stworzono również ich rekombinowane odpowiedniki w postaci rBet v 1, rMal d 1, rBet v 2, rBet v 4. Badania zmierzają do standaryzacji alergenów w oparciu o wymienione antygeny [1]. Profilina (Bet v 2) jest jedną z głównych przyczyn reakcji krzyżowych pomiędzy pyłkiem a pokarmami roślinnymi, lecz jej kliniczne znaczenie jest dyskutowane [2]. Wiedza

Common allergenic determinants (epitopes) are currently considered to be the underlying mechanism of cross-reactions. The epitopes were obtained from natural extracts and they were defined as the major birch allergen Bet v 1, its apple homologue Mal d 1, birch profilin Bet v 2, protein Bet v 4, etc. Their recombinant equivalents were also created, i.e. rBet v 1, rMal d 1, rBet v 2 and rBet v 4. Current studies aim at allergen standardization on the basis of the above-mentioned antigens [1]. Profilin (Bet v 2) is one of the main reasons for cross-reactivity between pollen and plant-derived foods. Its clinical relevance, however, is being widely discussed. The knowledge of the particles determining

o cząsteczkach decydujących o uczuleniu niezależnie od źródła występowania wypiera „stara” terminologię alergenu i staje się przydatna do rozpoznawania alergii pokarmowej towarzyszącej pyłkowicy [3]. W pracy Breuer i wsp. oznaczono Bet v 1 i Bet v 2 u dzieci z atopowym zapaleniem skóry uczulonych na brzozę. 9/11 pacjentów miało dodatni wywiad odnośnie reakcji na pokarmy „zależne od brzozy”. U 7 dzieci wykryto wyłącznie sIgE dla Bet v 1, u jednego Bet v 1 i Bet v2, u kolejnego tylko Betv2. Dwoje dzieci z Bet v 1(+) nie reagowało na próbę prowokacji [4]. We Włoszech wśród 372 osób uczulonych na pyłek brzozy i wykazujących obecność w surowicy IgE wobec Bet v 1 i/lub Bet v 2 czy Bet v 4 ok. 43% posiadało IgE dla jabłka. Interesujące, że w podgrupie z dodatnim wynikiem IgE dla Bet v 1 uczuleń na jabłka było aż 75,3%[5]. Postęp wiedzy o epitopach pozwala rozważać leczenie podobnych przypadków za pomocą odczulania pyłkiem, np. brzozy lub traw. W dobrze kontrolowanych badaniach uzyskano do 84% redukcję objawów alergii pokarmowej równoległe do ustępowania zaostrzeń pyłkowicy. Poprawa ta była uchwytana do 30 miesięcy i obejmowała zanikanie objawów ustnego zespołu uczuleniowego i negatywizację PTS z pokarmami [6]. Nie wszystkie doniesienia o „immunoterapii krzyżowej” są równie korzystne. Mało jest danych o możliwościach, jakie stwarza immunoterapia podjęzykowa [7]. Aktualna rolę alergenów rekombinowanych w klinice określa opinia: „wciąż jesteśmy daleko od odpowiedzi na pytanie, dlaczego jedne alergeny uczulają, a drugie nie, dlaczego odpowiedź immunologiczna na dany antygen jest różna u różnych chorych i dlaczego tak trudna do przewidzenia jest reakcja poszczepienna poszczególnych osób na immunoterapię swoistą” [8]. Za objawy po spożyciu jabłka, selera, orzecha laskowego u osób uczulonych na pyłek brzozy odpowiada białko Bet v 1 homologiczne do antygenów omawianych pokarmów [1]. Odrębność alergii wziewnej i pokarmowej występuje sporadycznie. Należy analizować objawy, skargi oraz wyniki badań dodatkowych pod kątem determinant antygenowych wspólnych dla wielu roślin i pokarmów [4]. Zamiast kilkunastu testów zawierających mieszaniny białek (standard obecny) wkrótce panel diagnostyczny obejmie kilkanaście grup białek (białka PR), silnie uczulających ludzi, niezależnie od drogi kontaktu [9]. Człowiek ujawnia także uczulenia na sztucznie stworzone izoformy alergenowe, z jakimi nie mógł się zetknąć w przyrodzie [10]. Być może pierwszym uczulającym kontaktem było białko homologiczne. Wg różnych źródeł od 50 do 70% dorosłych cierpiących na pyłkowicę drzew ujawnia objawy po spożyciu pokarmów „zależnych od pyłku brzozy” [4]. Możliwe jest współistnienie reakcji krzyżowej IgE zależnej i nie IgE-zależnej [11]. Pojawia się podział na antygeny wywołujące odpowiedź swoistych przeciwciał klasy E, G lub/i specyficznie uczulonych komórek T [6]. Z zarysowanego przeglądu wiedzy wynika potrzeba weryfikacji alergii krzyżowej pyłku brzozy i jabłka u dzieci.

an allergy independently of its source now supersedes the old terminology of the allergen and is becoming useful to recognize the food allergy accompanying pollinosis [3]. In their study, Breuer et al determined Bet v 1 and Bet v 2 in children with atopic dermatitis who were allergic to birch. 9 in 11 patients had a history of reactions to “birch-dependent” foods. sIgE to Bet v 1 only was detected in 7 children, to Bet v 1 and Bet v 2 in 1 child and to Bet v 2 only in 1 child, as well. Two children with Bet v 1(+) did not react to the provocation trial [4]. In Italy, out of 372 patients allergic to birch pollen and with the presence of IgE to Bet v 1 and/or Bet v 2 or Bet v 4 in serum, about 43% had IgE to apple. What is interesting, there were as many as 75.3% of allergies to apple in the subgroup with a positive result of IgE to Bet v 1. The developing knowledge about epitopes allows for the consideration of the treatment of such cases by means of immunotherapy with pollens (e.g. birch) or grasses. In well-controlled studies, an 84% reduction in food allergy symptoms was obtained together with a regression of severe pollinosis. The improvement was visible for 30 months and included a regression of the oral allergic syndrome and the negativization of SPT with foods [6]. Not all reports of “cross immunotherapy”, however, are so positive. There is not much data available on the possibilities of sublingual immunotherapy [7]. The current role of recombinant allergens in the clinical practice is best defined by the following statement: “we are still very far from finding the answer to the question why some allergens cause reactions while others do not, why the immunological response to a particular antigen is different in different patients and why it is so difficult to predict the post-vaccine reaction of particular patients to a specific immunotherapy” [8]. The symptoms occurring after the consumption of apple, celery or hazelnut in people allergic to birch pollen are determined by the Bet v 1 protein, which is homologous to the antigens of these foods [1]. Inhaled and food allergy occurring independently is a very rare phenomenon. Symptoms, complaints and results of additional studies should be analysed with regard to antigen determinants common to numerous plants and foods [4]. Instead of several tests with mixtures of proteins (current standard), the diagnostic panel will soon change to include several protein groups (PR proteins) which cause a severe allergy in humans, independently of the contact route [9]. Humans also reveal an allergy to artificially created allergenic isoforms, which could not be found in natural conditions [10]. Homologous protein might have been the first allergic contact. According to various sources, about 50-70% of adults suffering from tree pollinosis reveal the symptoms following the consumption of “birch-dependent” foods [4]. It is possible that IgE-dependent cross reactions occur concomitantly with non-IgE-dependent cross reactions. A division arises between the antigens causing a response of specific E or G antibodies or/and specifically sensitized T cells [6]. The present review reveals the need to verify allergic cross-reactivity between birch pollen and apple in children.

Celem pracy była ocena alergii krzyżowej dla pyłku brzozy i jabłka u dzieci z alergicznym nieżytem nosa i/lub astmą.

MATERIAŁ I METODY

Pacjenci

Badaniami objęto pacjentów zgłaszających się do Poradni Alergologicznej z powodu alergicznego nieżytu nosa, astmy oskrzelowej atopowej, u których na podstawie wywiadu alergologicznego i dodatniego punktowego testu skórno stwierdzono alergię na pyłek brzozy. Grupę badaną stanowiło 53 dzieci w wieku od 4 do 17 lat, średnia wieku – 10,10 lat (25 dziewczynek – średnia wieku 10,57 lat i 28 chłopców – średnia wieku 9,68 lat).

Na podstawie wywiadu lekarskiego, badania przedmiotowego i dalszych badań opisanych w metodyce postawiono rozpoznanie okresowego nieżytu nosa (J30) u 16 osób, astmy oskrzelowej (J45), u 9 osób, okresowego nieżytu nosa (J30) i astmy oskrzelowej (J45) u 28 badanych. Jako choroby współistniejące dodatkowo rozpoznano: alergiczne zapalenie spojówek (H10), atopowe zapalenie skóry (L20) u 6 osób, alergiczny nieżyt żołądkowo-jelitowy (K52) u 1 chłopca. Na badania uzyskano zgodę Komisji Bioetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr RNN/52/03/KB z dnia 26.08.2003 roku, a następnie świadomą zgodę rodziców dzieci oraz samych dzieci w przypadkach, gdy były w stanie zrozumieć treść badania i potrafiły pisać.

Metodyka wykonywania testów skórnych

Punktowe testy skórne (PTS) wykonywano metodą standardową. Do testów użyto alergenów produkcji Allergopharma/Nexter. Jako pozytywnej kontroli używano 0,1% roztworu histaminy, a kontrolę negatywną stanowił roztwór rozpuszczalnika stosowanego do sporządzania wyciągów alergenowych. Odczytu testów kontrolnych dokonywano po 15, a alergenów po 20 minutach. Za dodatni odczyn przyjęto bąbel o średnicy równej lub większej od co najmniej 3 mm średnicy bąbla histaminowego, przy ujemnej kontroli negatywnej. Ponadto pacjenci mieli wykonywane testy natywne ze świeżym jabłkiem metodą tzw. „prick by prick”, techniką analogiczną, jak w testach PTS.

Metody oznaczania sIgE

Krew była pobierana z żyły przedramienia lub innej dobrze dostępczej okolicy przy pomocy standardowych procedur metodą próżniową (Monovette, Saarstedt). Po wykrzepieniu (20 min. w temperaturze pokojowej) próbki były wirowane przy 4000rpm, a następnie uzyskaną surowicę przenoszono do pustych probówek i zamrażano w temperaturze -20°C i przechowywano je do dnia wykonywania oznaczeń. Badania swoistych IgE (sIgE) wykonywano metodą fluoroenzymatyczną

The aim of the study was to evaluate the allergic cross-reactivity between birch pollen and apple in children with allergic rhinitis and/or asthma.

MATERIAL AND METHODS

Subjects

The patients attending the Allergological Clinic because of allergic rhinitis or atopic bronchial asthma, in whom the allergy to birch pollen was revealed following an allergological questionnaire and a positive skin prick test, were included in the study. The research group included 53 children (25 girls and 28 boys) aged from 4 to 17 years. The mean age of the children was 10.10 years (the girls – 10.57 and the boys – 9.68).

On the basis of the medical history data, a physical examination and other examinations which were described in the methodology, seasonal allergic rhinitis (J30) was diagnosed in 16 patients, bronchial asthma (J45) in 9 patients and seasonal allergic rhinitis (J30) together with bronchial asthma (J45) in 28 patients. Additionally, the following diseases were diagnosed as concomitant diseases: allergic conjunctivitis (H10), atopic dermatitis (L20) in 6 patients and allergic gastroenteritis (K52) in 1 boy. The studies were conducted with the consent of the Bioethical Commission at the Medical University of Łódź No. RNN/52/03/KB of 26.08.2003, followed by the informed consent of the parents and children or the children only, when they were able to understand the contents of the study and when they could write.

Skin prick test methodology

The skin prick tests (SPT) were performed with a standard method using the allergens provided by Allergopharma/Nexter. A 0.1% histamine solution was used as a positive control and a solvent used to prepare allergen extracts was used as a negative control. The control tests were read after 15 minutes and allergen tests after 20 minutes. A positive reaction was defined as a wheal equal to or larger than at least 3 mm histamine wheal at the negative control. Moreover, the patients underwent native tests with fresh apple using the so-called “prick by prick” method and the same technique as in SPT.

Methods of sIgE determination

Blood samples were taken from a forearm vein or another readily available area, with the use of standard procedures for the vacuum method (Monovette, Saarstedt). After coagulation (20 min. in room temperature), the samples were centrifuged at 4000rpm, and the obtained serum was transported into empty tubes, frozen at -20°C and stored until the determinations were made. The studies of specific IgE (sIgE) were performed with the UniCAP fluoroenzymatic method on the UniCAP 100 apparatus.

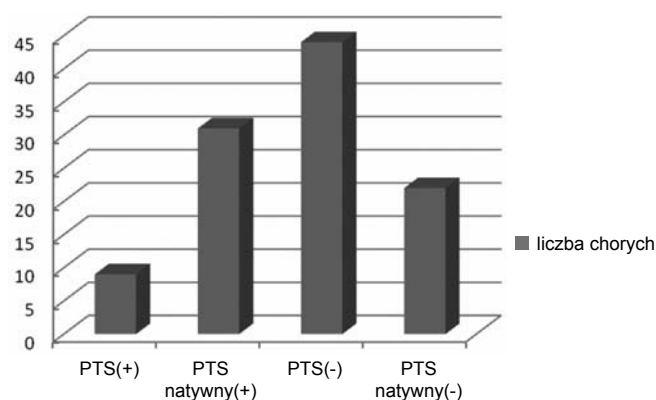
UniCAP na aparacie UniCAP 100. Oznaczano poziom sIgE dla następujących alergenów: brzoza brodawkowana (t3), jabłko (f49), rekombinowany alergen rBetv1 (t215), profilina rBet v 2 (t216), rekombinowany alergen rBet v 4 (t220).

Metody statystyczne

Do obliczeń wykorzystano program R [12] oraz analizę regresji liniowej. Metodą regresji liniowej wzajemna czułość badanych testów $SE=Wd: (Wd+Fu)$, specyficzność $SP= Wu: (Wu +Fd)$, efektywność $E= (Wd + Wu): N$, pozytywna ocena prognostyczna $PPV= (Wd \times P^*): [Wd \times P + Fd \times (1-P)]$, gdzie P, czyli prevalencja = pacjenci z cechą (+) do wszystkich pacjentów, negatywna ocena prognostyczna – $NPV= Wu \times (1-P): [Wu \times (1-P) + Fu \times P]$.

WYNIKI

W badanej grupie 53 dzieci z uczuleniem na brzozę dodatni PTS z alergenem pyłku brzozy miało 53 (100%) chorych. Dodatni wynik PTS ze standardowym alergenem jabłka miało 9 chorych (17% grupy badanej). Dodatni wynik PTS z natywnym alergenem jabłka stwierdzono aż u 31 chorych tj. 58,5%.



Ryc. 1. Wyniki punktowych testów skórnych (PTS) z alergenem jabłka standardowym i natywnym u dzieci uczulonych na pyłek brzozy

W grupie chorych u których stwierdzono dodatni PTS z alergenem brzozy i jabłka standaryzowanego (9 osób), natywny PTS z tym alergenem wypadł dodatnio u 6 osób. Wśród 44 dzieci z dodatnim PTS z alergenem brzozy oraz ujemnym z alergenem komercyjnym jabłka 25 chorych miało dodatni test natywny na alergen jabłka (56,8%), 19 osób miało ujemny zarówno test z alergenem jabłka natywnym jak i standaryzowanym.

Wyniki tych badań wskazują na znacznie częstsze wykrywanie alergii krzyżowych między alergenem brzozy i jabłka poprzez wykonanie testu natywnego z tym owocem, niż w przypadku stosowania testu komercyjnego (tabela I).

sIgE levels were determined for the following allergens: verrucose birch (t3), apple (f49), recombinant allergen rBet v 1 (t215), profilin rBet v 2 (t216) and recombinant allergen rBet v 4 (t220).

Statistical methods

The calculations were made using the R program [12] and a linear regression analysis. According to the linear regression method, the mutual sensitivity of the tests $SE=Wd: (Wd+Fu)$, specificity $SP= Wu: (Wu +Fd)$, effectivity $E= (Wd + Wu): N$, positive predictive value $PPV= (Wd \times P^*): [Wd \times P + Fd \times (1-P)]$, where P, i.e. prevalence = patients with the feature (+) to all the patients, negative predictive value – $NPV= Wu \times (1-P): [Wu \times (1-P) + Fu \times P]$.

RESULTS

In the group of 53 children allergic to birch, 53 (100%) had a positive SPT to a birch pollen allergen. A positive SPT to a standard apple allergen was recorded for 9 patients (17% of the group) and a positive SPT to a native apple allergen was recorded for as many as 31 patients (58.5%).

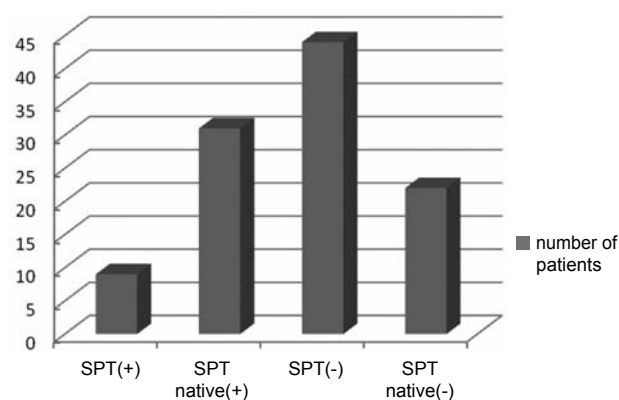
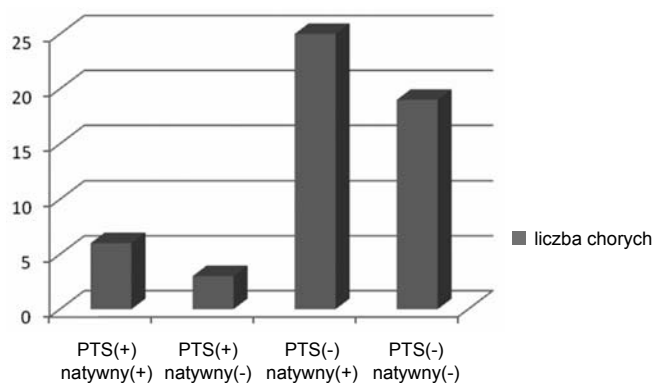


Fig. 1. The results of SPT with standard and native apple allergens in children allergic to birch pollen

In the group of 9 patients with a positive SPT to birch and standardized apple allergens, 6 patients had a positive SPT to native apple. In the group of 44 children with a positive SPT to a birch allergen and a negative SPT to a commercial apple allergen, 25 patients had a positive test to a native apple allergen (56.8%) and 19 patients had a negative test to both the native and the standardized apple allergen.

The results of this study show that the detection of allergic cross-reactivity between birch and apple allergens using a native apple test is much more frequent than when it is performed with a commercial test (table I).



Ryc. 2. Cztery warianty korelacji wyników PTS standaryzowanych i natywnych z alergenem jabłka u dzieci uczulonych na pyłek brzozy

Tabela 1. Zależność diagnostyczna testu z antygenem jabłka standardowym i natywnym u chorych z astmą lub/i alergicznym nieżytem nosa uczulonych na pyłek brzozy

Pyłek brzozy (+)	Jabłko PTS(+) standardowe	Jabłko PTS (-) standardowe	Razem
Jabłko (+) Natywne	6	25	31
Jabłko (-) Natywne	3	19	22
Razem	9	44	53

Metodą regresji liniowej odniesiona do jabłka wzajemna czułość badanych testów $SE = 0,171$; specyficzność $SP = 0,722$; efektywność $E = 0,339$; pozytywna ocena prognostyczna $PPV = 0,161$; gdzie P, czyli prevalencja, to pacjenci PTS (+) do wszystkich pacjentów; negatywna ocena prognostyczna $NPV = 0,342$.

Ponad połowa chorych uczulonych na alergen brzozy, u których test standaryzowany z alergenem jabłka wypadł ujemnie, miało jednak uczulenie na antygeny jabłek, na co wskazywał dodatni wynik testu natywnego. Także ponad 2/3 dzieci z dodatnim testem standaryzowanym miało potwierdzone uczulenie na antygen jabłka poprzez dodatni test natywny.

W tabeli 2 przedstawiono wyniki oceny alergii krzyżowej dla pyłku brzozy i jabłka oraz epitopów rBet v 1,2,4 w badanej grupie dzieci.

Współczynnik korelacji rang Spearmana – RO nie ujawnił w badanym materiale żadnych istotnych zależności. Współczynnik p natomiast ujawnił wysoce znamienne związki pomiędzy wynikami PTS z ekstraktem pyłku brzozy a trzema odmiennymi oznaczeniami IgE: „starym” IgE t3, czyli pyłek tego samego drzewa, nowoczesnym rBet v 1, czyli głównym rekombinowanym alergenem pyłku brzozy i – nieoczekiwanie – alergenem pokarmowym jabłka (f49). Identyczną znamienność uzyskano pomiędzy PTS z natywnym jabłkiem i analogicznymi immunoglobulinami. Oznacza to – przynajmniej w badanym materiale, że alergię na pyłek brzozy można rozpoznać

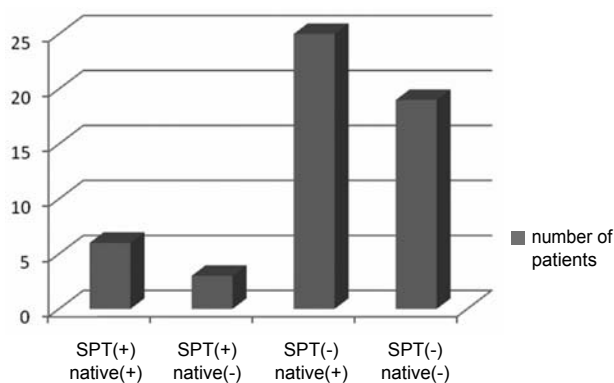


Fig. 2. Four correlation variants of PTS results standardized and native with apple allergen in children allergic to birch pollen

Tabela 1. Diagnostic dependence of test with standardized and native apple allergen in patients with asthma or/and allergic rhinitis, sensitized to birch pollen

Birch pollen (+)	Apple SPT(+) standards	Apple SPT(-) standards	Total
Apple (+) Native	6	25	31
Apple (-) Native	3	19	22
Total	9	44	53

According to the linear regression method, the mutual sensitivity of the tests related to apple $SE = 0.171$; specificity $SP = 0.722$; effectivity $E = 0.339$; positive predictive value $PPV = 0.161$; where P, i.e. prevalence, equals patients SPT (+) to all the patients; negative predictive value $NPV = 0.342$.

More than a half of children allergic to birch who had a negative standardized test to an apple allergen were allergic to apple antigens, which was indicated by a positive result of a native test. Also, more than 2/3 of the children with a positive standardized test had an allergy to an apple antigen, which was confirmed by a positive native test.

Table 2 shows the results of allergic cross-reactivity between birch pollen and apple, as well as the epitopes rBet v 1, 2, 4 in the group of children.

The Spearman's rank correlation coefficient RO did not reveal any significant correlations in the material of this study. The coefficient p, however, revealed highly significant correlations between the results of SPT to birch pollen extract and three different IgE determinations: the old IgE t3, i.e. pollen of one tree, the new rBet v 1, i.e. the major recombinant birch pollen allergen and, quite unexpectedly, the apple allergen (f49). The same significance was obtained between the SPT to native apple and analogical immunoglobulins. It means, at least in the material of the study, that a birch pollen allergy may be recognized either by the IgE test to t3 or f49, or in

Tabela 2. Korelacje wyników dodatnich (a) i ujemnych (b) 3 testów skórnych z jabłkiem i 5 oznaczeń różnych frakcji sIgE u dzieci z alergią na brzozę

Table 2. The correlations of positive (a) and negative (b) results of three SPTs to apple and five determinations of various sIgE fractions in children with an allergy to birch

a)					
Prawdopodobieństwo popełnienia błędu I rodzaju (P) /Probability of the type I error (P)	t3 (+) brzoza / t3 (+) birch	f49 (+) jabłko /f49 (+) apple	rBet v 1 (+) /rBet v 1 (+)	rBet v 2 (+) /rBet v 2 (+)	rBet v 4 (+) /rBet v 4 (+)
SPT (+) jabłko / SPT (+) apple	0,62	0,39	0,31	0,32	0,86
SPT (+) brzoza / SPT (+) birch	0,000087***	0,001751***	0,000018***	0,88	0,42
SPT natywne (+) jabłko / SPT (+) native apple	0,000003***	0,000082***	0,000074***	0,3604702	0,43
b)					
Prawdopodobieństwo popełnienia błędu I rodzaju (P) / Probability of the type I error (P)	t3 (-) brzoza / t3 (-) birch	f49 (-) jabłko / f49 (-) apple	rBet v 1 (-) /rBet v 1 (-)	rBet v 2 (-) /rBet v 2 (-)	rBet v 4 (-) /rBet v 4 (-)
SPT (-) jabłko / SPT (-) apple	0,560095	0,766714	0,101944	0,767511	NA
SPT (-) brzoza / SPT (-) birch	0,423542	0,736751	0,603835	0,06315	NA
SPT natywne (-) jabłko / SPT (-) native apple	0,313099	0,013127***	0,672104	0,107952	NA

***zgodność wysoce znamienna / ***highly relevant compatibility

zarówno wykonując test IgE oznaczony t3, jak f49, bądź nowocześniej – rBet v 1, bądź nawet testem natywnym z jabłka. Zapis pozostałych danych w opisywanej tabeli wskazuje jednocześnie, że nie ma znamiennych zależności pomiędzy cytowanymi wyżej pomiarami a oznaczeniem rBet v 2 ani rBet v 4. Ocena roli rBet v 4 pozostaje niejasna z powodu małej liczby wyników pozytywnych, nie korelujących z kliniką.

Dla korelacji wykluczającej alergię zestawem podanych testów znamienność uzyskano jedynie przy obliczeniach p pomiędzy jabłkiem natywnym a IgE f49 jabłka oraz tymże testem natywnym i SPT standaryzowanym dla pyłku brzozy.

OMÓWIENIE

Uważa się, że za objawy u osób uczulonych na pyłek brzozy, a jednocześnie odczuwających dolegliwości po spożyciu jabłka, selera, orzecha laskowego, odpowiada białko Bet v 1, homologiczne do antygenów wymienionych pokarmów [13]. Inne wspólne dla pyłku brzozy i produktów spożywczych determinanty to profilina Bet v 2. Oprócz zawartych w tabeli istotną rolę odgrywa szereg innych białek, np. panalergen roślinny o ciężarze 60 kD, proteina zależna od reduktazy izoflawonowej – Bet v 5 [8], białka transportujące lipidy (lipid transfer proteins- LTP) [14], Bet v 6, Bet v 7 [15] itd. Ostatnio opisana nowa rodzina alergenów pyłkowo-owocowych nosi nazwę białek podobnych do taumatyny (thaumatin like proteins – TLP). Charakteryzuje się termostabilnością i opornością na proteazy. Zaliczono do niej Mal d 2 (TLP jabłka), Pru av 2 (TLP wiśni). Wykazano, że sekwencja N-terminalna 23 kD alergenu papryki jest identyczna z białkiem podobnym do osmotyny (osmotine like protein – OLP) pomidora i kiwi. TLP o ciężarze 24kDa

a more modern way - rBet v 1, or even by a native apple test. The remaining data in the table show that there are no significant correlations between the above-mentioned measurements and rBet v 2 or rBet v 4 determinations. The role of rBet v 4 remains unclear because of a few positive results which do not correlate with the clinic.

For a correlation excluding an allergy, the significance for the above-mentioned tests was obtained only with calculations of p between native apple and apple IgE f49 and the native apple test and standardized SPT to birch pollen.

DISCUSSION

It is claimed that the symptoms occurring after the consumption of apple, celery or hazelnut in people allergic to birch pollen are determined by the Bet v 1 protein, which is homologous to the antigens of these foods [13]. Another determinant that is common to birch pollen and food is the profilin Bet v 2. In addition to the proteins contained in the table, an important role is also played by a number of other proteins, e.g. a 60 kD plant panallergen, a protein dependent on isoflavone reductase - Bet v 5 [8], lipid transfer proteins - LTP [14], Bet v 6, Bet v 7 [15], etc. A recently identified family of pollen and fruit allergens is called thaumatin like proteins -TLP. The family is characterized by thermostability and protease resistance. Mal d 2 (apple TLP) and Pru av 2 (cherry TLP) have been included in this family. It has been shown that the N-terminal sequence of a 23 kD pepper allergen is identical to the osmotine like protein (OLP) of tomato and kiwi. The 24 kDa TLP is present in grapes, etc. So far, TLP have been isolated from the pollen of the Japanese red

jest obecna w winogronach itd. Dotychczas TLP wyodrębniono z pyłku jedynie cedru japońskiego i rodziny Cupressaceae. Te ostatnie silnie uczulają w Hiszpanii, USA i Meksyku [9]. Wzmiankowane zależności nabierają znaczenie praktycznego po spostrzeżeniu, że to być może TLP decydują o gwałtownym, ciężkim przebiegu UZU. Inni sądzą, że ważniejszą rolę odgrywają w anafilaksji wspomniane LTP, obecne w brzoskwini i pyłku różowatych [16].

Do niedawna opisywano szczegółowo zespoły brzożowo-jabłkowo-selerowe lub bylicowo-selerowe itd. Dziś zastępuje je szersze pojęcie „pollen – food syndrome”. W zespole pyłkowo-pokarmowym najczęściej wymienia się jako pokarmy „zależne” jabłka, orzechy laskowe, marchew i seler [9].

Typowe objawy kliniczne alergii pokarmowej związanej z pyłkowicą, np. brzożową, obejmują ustny zespół uczuleniowy, pokrzywkę alergiczną, obrzęk angio-neurotyczny Quincke’go, nieżyt nosa, zapalenie spojówek, astmę atopową, wstrząs anafilaktyczny oraz zespół atopowego wyprysku/zapalenia skóry [4]. Pokarmy zależne od pyłku brzoży mogą powodować objawy wyprysku w zespole AZS u części dorosłych [17]. Podczas podwójnie zaślepionej próby prowokacji pokarmowej kontrolowanej placebo ustalono, że u połowy dorosłych uczulonych na brzożę występują zaostrzenia zmian skórnych po spożyciu jabłka, orzechów laskowych lub selera. Reakcja w opisanym próbie pojawiała się wyraźnie nawet u osób bez wcześniejszych dolegliwości gastrycznych. Ocena alergii krzyżowej dla jabłka we własnej grupie dzieci (testy PTS, natywne) pozwoliła na ustalenie, że brak dowodów, aby sIgE dla rBet v 4, wiązało się z odmiennym obrazem klinicznym.

Wśród 40 surowic z pozytywnymi wynikami CAP wobec naturalnego wyciągu pyłku brzoży 39 (97,5%) miało dodatnie miano wobec Bet v 1; a 6 osób (15%) wobec Bet v 2. Swoiste IgE dla Bet v 4 wykryto tylko u jednej osoby. Oznacza to, że profil alergii na brzożę u chorych z Sapporo jest podobny do spotykanego w Skandynawii. Prawdopodobnie wynika to z dużej ekspozycji na pyłek w obu regionach i może być pomocne w immunoterapii w Japonii [18].

Mari i wsp. [2] zbadali 200 chorych z alergią pyłkową za pomocą STP z oczyszczoną naturalną profiliną palmową (Pho d 2). Pacjenci ze skargami na objawy uboczne wywołane pokarmami zostali poddani STP z ekstraktem jabłka zawierającym wyłącznie Mal d 2, a także z wyciągiem brzoskwini bogatym zwłaszcza w LTP. U 60 osób stwierdzono dodatnie STP dla profiliny palmowej Pho d 2. Wszyscy byli uczuleni na pyłek traw, a większość także wobec pyłku brzoży, bylicy, ambrozji i platanu. Ponad połowa uczulonych na profilinę reagowała krzyżowo z pokarmami, w tym było 21 osób z monoalergią profilinową, 11 reagowało z profiliną i homologiem Betv1, jeden wobec profiliny oraz LTP oraz jeden wobec wszystkich badanych alergenów.

cedar and the Cupressaceae family only. They are highly sensitizing in Spain, the USA and Mexico [9]. These correlations become significant if we notice that TLP might be responsible for a rapid onset and severe duration of OAS. Other researchers think that a more important role in anaphylaxis is played by the above-mentioned LTP, which are present in peach and pollen of the rose family [16].

Until recently, such syndromes as birch-apple-celery or mugwort-celery were described in detail. Today, they are replaced with a wider notion of “pollen-food syndrome”. The most common “dependent” foods in the pollen-food syndrome are apples, hazelnuts, carrots and celery [9].

Typical clinical symptoms of a food allergy related to pollinosis (e.g. birch) include oral allergic syndrome, allergic urticaria, Quincke’s oedema, rhinitis, conjunctivitis, atopic asthma, anaphylactic shock and atopic eczema/dermatitis syndrome [4]. Foods dependent on birch pollen may cause eczema symptoms in the atopic dermatitis syndrome in some adults [17]. In a double-blind placebo-controlled provocation test, it has been revealed that half of the adults allergic to birch experience an aggravation of skin lesions after the consumption of apple, hazelnut or celery. The reaction appeared clearly even in patients with no experience of gastric problems. The analysis of allergic cross-reactivity to apple in our own group of children (native SPT) showed that there is no evidence that sIgE to rBet v 4 is related to a different clinical picture.

Out of 40 sera with positive CAP results to the natural birch pollen extract, 39 (97.5%) had a positive result to Bet v 1 and 6 (15%) to Bet v 2. A specific IgE to Bet v 4 was detected in only one person. It means that the birch allergy profile in patients from Sapporo is similar to the profile encountered in Scandinavia. This probably results from a high exposure to pollen in both these regions and may be helpful in the immunotherapy conducted in Japan [18].

Mari et al [2] examined 200 patients with pollen allergy using SPT with a purified natural palm profilin (Pho d 2). Patients suffering from side effects caused by food had SPT with apple extract containing only Mal d 2, and also with peach extract rich in LTP. Sixty patients had a positive SPT to the palm profilin Pho d 2. All the patients had an allergy to grass pollen and most of them to birch, mugwort, ambrosia and platan pollen, as well. More than half of the patients allergic to profilin revealed cross-reactivity to foods, including 21 patients with a monoallergy to profilin, 11 with profilin and Bet v 1 homologue cross-reactivity, 1 with profilin and LTP and 1 with all the allergens tested.

Większość pacjentów zgłaszała objawy ustnego zespołu uczuleniowego (OAS) jako jedynej manifestacji alergii pokarmowej wywołanej surowymi owocami. Ci sami chorzy tolerowali dobrze pokarmy uprzednio ugotowane. 28 spośród 34 badanych zgłaszało objawy po 2 lub więcej pokarmach pochodzenia roślinnego. Najczęściej były to różowate, orzechy, melony, owoce cytrusowe, arbuzy, pomidory oraz banany. Profilina powinna być traktowana jako klinicznie znaczący alergen, a wymienione potrawy pochodzenia roślinnego, z wyjątkiem orzechów, należy traktować jak markery nadwrażliwości na tę proteinę [19]. W nowoczesnej diecie eliminacyjnej pojawiają się wnet nowe listy zakazów. Ostatnio zbadano np. biochemiczną funkcję alergenu pyłkowego brzozy Bet v 6 oraz ustalono jego rolę w zależnej od IgE reaktywności krzyżowej pomiędzy pyłkiem brzozy a pokarmami roślinnymi.

Czy wynika z tego zaprzeczenie mądrości ludowego porzekadła o „gruszkach na wierzbie” jako o czymś zupełnie nieprawdopodobnym? Wydaje się, że tak. Można przypuszczać, że wiele uznanych prawd alergologicznych, także tych o relacjach pyłku i pokarmu, wnet spotka podobny los. Nasze badanie wykazało, że IgE dla rekombinowanego alergenu Bet v 1, podobnie jak IgE t3 dla standaryzowanego wyciągu pyłku brzozy (w odróżnieniu od rBet v 2 i rBet v 4), ujawniają wysoce znamienne cechy alergii krzyżowej z jabłkami w badanej grupie dzieci.

Most of the patients reported oral allergic syndrome as the only manifestation of a food allergy evoked by raw fruits. These patients revealed a good tolerance of cooked foods. Twenty-eight out of thirty-four patients reported symptoms after two or more plant-derived foods. These most often included foods of rose family, nuts, melons, citrus fruits, watermelons, tomatoes and bananas. Profilin should be treated as a clinically relevant allergen and the above-mentioned plant-derived foods, except for nuts, should be treated as markers of hypersensitivity to this protein [19]. A modern elimination diet will soon include a new list of forbidden items. Recently, for example, a biochemical function of the birch allergen Bet v 6 has been investigated and its role in the IgE-dependent cross-reactivity between birch pollen and plant foods has been established.

Does this mean that the improbable has become possible? Probably yes. It may be supposed that a lot of the recognized opinions concerning allergology, including those on the relationship between pollen and food, will soon become untrue. Our study has shown that IgE to the recombinant allergen Bet v 1, as well as IgE t3 to the standardized birch pollen extract (unlike rBet v 2 and rBet v 4) reveal highly significant features of apple allergic cross-reactivity in the group of children.

Piśmiennictwo

1. Oberhuber C, Ma Y, Marsh J i wsp. Purification and characterisation of relevant natural and recombinant apple allergens. *Mol Nutr Food Res.* 2008; 6: 1-12.
2. Mari A, Wallner M, Ferreira F. Fagales pollen sensitization in a birch-free area: a respiratory cohort survey using Fagales pollen extracts and birch recombinant allergens (rBet v 1, rBet v 2, rBet v 4). *Clin Exp Allergy.* 2003; 33: 1419-28.
3. Rollin A. Nahrungsmittelallergien- Gefahr im Teller? *Primary Care* 2004; 4: 12 s /241.
4. Breuer K, Wulf A, Constien A, et al. Birch pollen-related food as a provocation factor of allergic symptoms in children with atopic eczema/dermatitis syndrome. *Allergy* 2004; 59: 988-94.
5. Rossi RE, Monasterolo G, Monasterolo S. Detection of specific IgE antibodies in the sera of patients allergic to birch pollen using recombinant allergens Bet v 1, Bet v 2, Bet v 4: evaluation of different IgE reactivity profiles. *Allergy.* 2004; 59: 888.
6. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, et al. Detection of clinical markers of sensitization to profilin in patients allergic to plant-derived foods. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 112: 427-32.
7. Asero R Effects of birch pollen SIT on apple allergy: a matter of dosage? *Allergy* 2004; 59: 1269-71.
8. Jahnz-Rózyk K, Kucharczyk A. Zastosowanie alergenów rekombinowanych w diagnostyce chorób leczenia chorób alergicznych. *Med. Po Dypl.wyd.specj.06/06.2006:* 28-32.
9. Breiteneder H Thaumatin-like proteins - a new family of pollen and fruit allergens. *Allergy* 2004; 59: 479-81.
10. Mitja K, Snezana UK, Mira S Are there regional differences in diagnostic tests accuracy for oral allergy syndrome? *Allergy* 2004; 59: 888.
11. Ferreira F, Hawranek T, Gruber P, Wopfner N i wsp. Allergic cross-reactivity: from gene to the clinic. *Allergy* 2004; 59: 243-67.
12. R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria 2005; <http://www.R-project.org>.
13. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S. Detection of some safe plant-derived foods for LTP-allergic patients. *Int Arch Allergy Immunol.* 2007; 144: 57-63.
14. Westphal S, Kempf W, Foetisch K, Retzek M, et al. Tomato profilin Lyc e 1: IgE cross-reactivity and allergenic potency. *Allergy* 2004; 59: 526-32.
15. Eigenmann PA Future therapeutic options in food allergy. *Allergy* 2003; 58: 1217-23.
16. Niggemann B. Role of oral food challenges in the diagnostic work-up of food allergy in atopic eczema dermatitis syndrome. *Allergy* 2004; 59 Supl 78: 32-4.
17. Niggemann B, Beyer K. Diagnostic pitfalls in food allergy in children. *Allergy* 2005; 60: 104-7.
18. Shirasaki H, Yamamoto T, Koyanagi Y I wsp. Detection of specific IgE antibodies in sera of Japanese birch - allergic patients using recombinant allergens Bet v 1, Bet v 2 and Bet v 4. *Allergol Int.* 2008; 57: 93-6.
19. Asero R, Monsalve R, Barber D. Profilin sensitization detected in the office by skin prick test: a study of prevalence and clinical relevance of profilin as a plant food allergen. *Clin Exp Allergy.* 2008; 38: 1033-7.