

Alergeny pyłku roślin

PIOTR RAPIEJKO

Klinika Otolaryngologiczna CSK WAM w Warszawie, ul. Szaserów 128, 00-909 Warszawa

W prezentowanej pracy autor omawia najważniejsze zagadnienia dotyczące alergenów pyłku roślin. Przedstawiony został aktualny stan wiedzy na temat budowy ziaren pyłku, zagadnień związanych z transportem i metodami pomiaru stężenia pyłku w atmosferze. Przedstawiono również rośliny, których pyłek jest najczęstszą przyczyną objawów uczuleniowych w Polsce.

Ziarna pyłku roślin - męskie gamety roślin są niezbędne do reprodukcji roślin. Mają one zazwyczaj kształt regularny, zbliżony do kuli lub elipsy obrotowej. Wielkość żywego ziarna pyłku jest zmienna, powiększa się ono lub kurczy zależnie od zawartej w nim wody. Wymiary martwych i pozbawionych zawartości ziaren pyłku wydają się być stałe; w granicach od 5 μm do 200 μm [1,2,3]. Ziarna pyłku roślin wiatropylnych mają średnicę od 17 do 58 μm [1,4].

Ziarno pyłku roślin okrytozalążkowych jest zbudowane z trzech głównych, koncentrycznych warstw. Część centralna to żywa komórka, która kiełkuje na znamieniu słupka, tworzy łagiewkę pyłkową wnikającą przez szyjkę słupka i doprowadzającą do jaja męskie komórki płciowe. Zawiera ona aparat Golgiego, mitochondrium, ziarnistości magazynujące skrobię, białka i lipidy, jądro wyposażone w chromatynę i jąderka [5, 6]. Warstwa środkowa - intyna, okrywa część centralną jednolitą powłoką. Zbudowana jest z celulozy, substancji pektynopodobnych, białek i enzymów [5]. Proteiny w postaci pęcherzyków są wyraźnie wtopione w intynę. Są łatwo wyługowywane i mogą być przyczyną zarówno reakcji alergicznych u człowieka, jak i reakcji zgodności u samych roślin [7]. Jeżeli ziarno pyłku nie osiągnie swojego celu (znamienia słupka kwiatu żeńskiego) zarówno cytoplazmatyczne wnętrze jak i intyna ulegają rozkładowi i zanikają, pozostawiając trzecią, zewnętrzną warstwę, eksynę. Eksyna jest zbudowana z bardzo odpornych materiałów. Niezmienione ściany ziarn pyłku znajdujemy w skałach paleozoicznych, a nawet starszych, w których wszystkie inne szczątki organiczne zostały uwęglone i zniekształcone [7,8]. Ziarna pyłku roślin można ogrzewać do temperatury 300^oC oraz traktować stężonymi kwasami lub zasadami, prawie bez wpływu na eksynę. Wykazano jednak, że eksyna jest wrażliwa na utlenianie [7]. Eksyna zbudowana jest głównie ze sporopolenin utworzonych przez polimeryzację karotenów i ich estrów [3,4,7]. Jest przepuszczalna dla wody i rozpuszczonych w niej związków, elastyczna i do

pewnego stopnia rozciągliwa [1,9,10]. W typowej eksynie można wyróżnić dwie warstwy; wewnętrzną, endeksynę (zwana też inteksyną) będącą homogeniczną ciągłą błoną, za wyjątkiem miejsc związanych z otworami, oraz zewnętrzną - ekteksynę zawierającą promienisto ustawione pałeczkowate elementy, których rozwój i rozmieszczenie wpływa na jej strukturę i jest podstawą ogromnej morfologicznej zmienności eksyny [10]. Dzięki temu eksyna ziarn pyłku różnych rodzajów, a czasem i gatunków roślin wykazuje olbrzymie zróżnicowanie [1,7,9,10]. Większość ziarn pyłku ma w eksynie otwory lub cienkie bruzdy. Liczba otworów waha się od 0 do 40 [7]. Wyżej wymienione cechy umożliwiają mikroskopową identyfikację ziarn pyłku roślin [9,10]. Ziarna pyłku oceniane są w mikroskopie świetlnym przy powiększeniu około 400x, najczęściej po wcześniejszym wybarwieniu. Ekteksyna (warstwa najbardziej zewnętrzna) barwi się fuksyną zasadową na kolor ciemnoczerwony, a endeksyna na różowo [8,11,12].

Materiał uzyskany z wodnej ekstrakcji pyłku dostarcza złożonej mieszaniny protein i glikoprotein, barwników, węglowodanów, oraz substancji o niskiej masie molekularnej [10,13]. Wśród w/w składników jest wiele alergenów odpowiedzialnych za występowanie objawów klinicznych u osób uczulonych. Według większości autorów alergeny pyłku zawarte są przede wszystkim w wewnętrznej warstwie (intynie) i wydostają się przez pory na powierzchnię ziarna. [1,3,7,14,15,16]. Gdy pyłek wchodzi w kontakt z powierzchnią śluzówki nosa lub gardła niektóre z enzymów zawartych w intynie uwalnianych przez ziarno pyłku w pierwszej kolejności, mogą umożliwiać alergenom penetrację błony śluzowej [3, 4].

Dynamika uwalniania frakcji alergenowych została zademonstrowana przez Belina i Rowleya w 1971 [3]. Inkubując pyłek brzozy z surowicą zawierającą przeciwciała przeciwko antygenom pyłku brzozy, stosując metodę immunofluorescencji, autorzy znaleźli znaczące ilości antygeny poza ziarnem pyłku

już po krótkim czasie inkubacji. Ponadto przy użyciu techniki immunodyfuzji zauważyli, że połączenia antygen-przeciwciała tworzyły się na zewnątrz każdego z trzech otworów w ścianie ziarna pyłku brzozy. Wykazali oni, że antygeny zlokalizowane są głównie w intynie [3,4]. Jednak inni autorzy stosując techniki immunocytochemiczne i ocenę w mikroskopii elektronowej stwierdzili obecność alergenów również na egzynie [3,10]. W ziarnach pyłku niektórych gatunków roślin związki będące alergenami opłaszczane są na ziarenkach skrobi wielkości 2-3 µm zawartych w cytoplazmie ziarna pyłku. Po uszkodzeniu pyłku ziarenka skrobi wraz z alergenami mogą unosić się w powietrzu i wnikać do dróg oddechowych [10,15,16].

Ziarno pyłku stanowi najważniejsze źródło alergenów, choć niektóre badania wykazały obecność antygenów również w innych częściach roślin; korzeniach, łodygach i liściach. Udowodniono to na przykładzie ambrozji, traw i babki [3, 4, 16].

Alergenami o zasadniczym znaczeniu określane są te, które wywołują reakcje u większości pacjentów z alergią (wg. Marscha u 90% genetycznie predysponowanych, wykazane prick testem; wg. Lowensteina u 50% przy użyciu CRIE i w kierunku których połowa z tych pacjentów prezentuje swoiste IgE) [2,3]. Alergeny o mniejszym znaczeniu to te, które, choć zawierają się w tych samych ekstraktach, wykazują znaczący efekt działania tylko u niewielkiej liczby pacjentów (10% lub mniej) lub niewielki efekt u dużej liczby pacjentów [2,3].

W celu usystematyzowania rosnącej liczby poznawanych alergenów Podkomitet Nazewnictwa Alergenów Międzynarodowej Unii Towarzystw Immunologicznych opracował zasady nazewnictwa alergenów [4]. Według nowego nazewnictwa nazwa alergenów składa się z trzech części. Pierwszy człon, pisany kursywą to pierwsze trzy litery nazwy rodzajowej. Drugi, jednoliterowy człon, to pierwsza litera nazwy gatunkowej. Trzeci człon będący cyfrą rzymską oznacza zwykle kolejność odkrycia danego alergenów, przy czym cyfra I oznacza zwykle główny alergen. I tak alergen oznaczony *Bet v* I oznacza główny alergen brzozy brodawkowatej *Betula verrucosa*.

nazwa rodzajowa	nazwa gatunkowa	oznaczenie cyfrowe
<i>Betula</i>	<i>verrucosa</i>	
<i>Bet</i>	<i>v</i>	I

Alergeny pyłku roślin są proteinami lub glikoproteinami o masie cząsteczkowej od 5 do 60 kDa (głównie w zakresie od 10 do 30 kDa) [2,3,8,12,17].

Warta podkreślenia jest możliwość wystąpienia reakcji krzyżowej pomiędzy różnymi substancjami, które mają wspólną grupę determinantów antygenowych (epitop). Obserwowane są reakcje krzyżowe pomiędzy antygenami pyłku pochodzącymi z różnych gatunków tej samej rodziny [2,4,5,17,18]. Dotyczy to traw; reakcja pomiędzy antygenami grup I - II - III z *Lolium perenne* i tychże z *Dactylis glomerata*, *Phleum pratense*, *Festuca*

elator i *Holcus lanatus* [3,5,15]. Reakcja krzyżowa została zaobserwowana w obrębie rodziny *Betulaceae*; pomiędzy olchą i brzozą, oraz w rodzinie *Corylaceae* pomiędzy leszczyną i grabem [3,4,5,19]. Częściowa reakcja krzyżowa istnieje pomiędzy niektórymi drzewami i warzywami jadalnymi [2,5,17]. Ostatnio podnoszona jest rola ziarna pyłku roślin jako nośnika bakterii [20] i toksyn bakteryjnych [21].

W zależności od miejsca wnikięcia alergenów pyłku roślin mogą wywoływać dolegliwości ze strony wielu narządów; nos, oczy, uszy, jama ustna i gardło, dolne drogi oddechowe, żołądek [4,12,15,22] i skóra [4,15,23].

W 1931 roku Thommen [7,12,24] zdefiniował warunki, jakie muszą być spełnione, aby pyłek wywołał uczulenie u osoby atopowej, a co za tym idzie objawy kliniczne;

1. musi zawierać komponentę antygenową zdolną do indukowania nadwrażliwości,
2. musi należeć do rośliny wiatropylnej,
3. musi być produkowany w olbrzymich ilościach,
4. musi być dostatecznie lekki, aby był przenoszony na duże odległości,
5. musi należeć do rośliny występującej powszechnie na danym terenie.

Pierwsze kryterium Thommena jest szczególnie ważne. Pyłek musi zawierać komponentę wywołującą uczulenie (antygen), mającą swoistą możliwość indukowania mediowanej IgE odpowiedzi ustroju. Konieczność spełnienia tego kryterium tłumaczyć może relatywnie niskie występowanie pyłkowicy wywoływanej przez rośliny wiatropylne w porównaniu z olbrzymią liczbą gatunków tych roślin [25]. Przykładów dostarcza sosna, świerk i pokrzywa [26,27,28]. Chociaż w niektórych miejscach rośliny te są szeroko rozpowszechnione, a w atmosferze obecna jest olbrzymia liczba ziarna pyłku tych roślin, nie wywołują zbyt często uczulenia, co może wynikać z niskiego poziomu alergogenności ich pyłku [4,12].

Prawidłowy przebieg procesu zapylenia roślin związanych jest z wydzielaniem przez pyłek i słupek różnych substancji tłuszczowych, białek i glikoprotein, wśród nich wielu enzymów. Pyłek może wydzielać kutynazę i inne enzymy rozkładające wielocząsteczkowe składniki ścian komórkowych znamienia słupka, umożliwiające penetrację łagiewki, a także enzymy rozkładające inhibitory kiełkowania i wzrostu łagiewki [4,8]. W przypadku niezgodności gatunkowej słupki nie dostarcza czynnika koniecznego do kiełkowania pyłku lub wytwarza substancje hamujące to kiełkowanie i wzrost łagiewki. W pyłku, na powierzchni eksyny, mogą występować substancje o charakterze antygenów wywołujące w słupku pojawienie się przeciwciała i „odrzućcie” na zasadzie immunochemicznej. Wyżej wymienione mechanizmy mają zapobiegać niewłaściwemu zapyleniu pomiędzy osobnikami należącymi do różnych

gatunków, oraz w niektórych przypadkach zapobiegające samozapyleniu [2,6,16]. Substancje te mogą wykazywać właściwości antygenowe, a enzymy mogą uszkadzać barierę błony śluzowej dróg oddechowych i spojówek [4].

Transport pyłku roślin

Wypełnienie przez ziarna pyłku funkcji życiowych wymaga uwolnienia się i oddalenia od rośliny macierzystej. Ponieważ komórki rozrodcze roślin nie są zdolne do samodzielnego ruchu, długość przebywanej przez nie drogi jest zależna od czynnika, który je przenosi. Jeśli rolę tę pełni zwierzę, owad lub ptak, droga ta nie jest zbyt długa (zwykle do kilku kilometrów). O wiele większe odległości mogą pokonywać sporomorfy unoszone przez prądy powietrzne - wiatry [12,27,29].

Okwiat roślin wiatropylnych jest niepozorny lub nie ma go w ogóle. Dzięki temu na bezpośrednie działanie wiatru wystawione są pręciki i pylniki. Wiatr unosi ziarna pyłku i część z nich po pokonaniu długiej drogi osadza się na lepkiem znamieniu słupka kwiatu żeńskiego, spełniając tym samym swoje podstawowe zadanie. Do celu dociera znikomą część z wszystkich wyprodukowanych ziaren [5,25]. Dlatego też część roślin wiatropylnych (np. leszczyna, olcha, brzoza) zakwita przed rozwinięciem się liści, które stanowiłyby mechaniczną przeszkodę w rozprzestrzenianiu pyłku. Rośliny wiatropylne produkują olbrzymie ilości ziaren pyłku. Pojedynczy kwiat sosny czarnej produkuje blisko 1,5 mln ziaren pyłku, a pojedynczy kwiat żyta 57 tys. ziaren pyłku [1]. Z naszych wyliczeń wynika, że 1 metr kwadratowy uprawy żyta produkuje ponad 1,5 mld ziaren pyłku. Na wysokości 50 cm nad łanem kwitnącego żyta wykryliśmy stężenie ponad 16,2 mln ziaren pyłku w 1 m³ powietrza, a stężenie pyłku w bezpośrednim sąsiedztwie kwitnącej brzozy dochodziło do 2,4 mln ziaren pyłku w 1 m³ powietrza [26]. Powoduje to powstanie w pobliżu pylących roślin bardzo wysokich stężeń pyłku. Tymczasem, wg większości autorów, do wywołania objawów chorobowych u większości osób uczulonych na pyłek traw wystarczające jest stężenie ok. 50 ziaren w 1 m³ powietrza [2,4,9]. W naszych badaniach wykazaliśmy wpływ zanieczyszczeń atmosfery na progowe stężenie pyłku niezbędne do wywołania objawów chorobowych. W Warszawie na początku sezonu pylenia objawy chorobowe występowały u wszystkich osób nadwrażliwych na pyłek traw po osiągnięciu średniego dobowego stężenia 53 ziaren pyłku traw w 1 metrze sześciennym powietrza. U 50% badanych objawy wystąpiły przy stężeniu 41 ziaren/m³. U osób przebywających w rejonie o mniejszym stopniu zanieczyszczenia tlenkami siarki i azotu (Mazury) objawy wystąpiły po narażeniu na znacznie wyższe stężenie pyłku traw. Przy stężeniu 71 ziaren/m³ objawy wystąpiły u wszystkich badanych, a przy stężeniu 62 ziaren/m³ u 50% badanych [30].

Warunki pogodowe mają duży wpływ na obecność pyłku roślin w atmosferze. Najwyższe stężenia notowane są w pogodne, wietrzne dni. Opady deszczu oczyszczają powietrze z pyłku roślin [2,4,23]. Ilość pyłku unoszącego się w atmosferze zmienia się również wraz z porą dnia. Jest to związane z charakterystycznym dla poszczególnych gatunków roślin czasem otwierania pylników oraz w mniejszym stopniu, ze zmianą temperatury powietrza w ciągu dnia. W słoneczne dni większość gatunków dzikich traw otwiera pylniki w godzinach rannych pomiędzy 6³⁰ a 7³⁰, a następnie w godzinach popołudniowych pomiędzy 17⁰⁰ a 19⁰⁰ [6]. W tych godzinach najwyższe stężenia pyłku traw notowane są w pobliżu kwitnących roślin. W centrum miasta (z dala od kwitnących roślin) najwyższe stężenie pyłku traw występuje zwykle w godzinach popołudniowych.

Otoczająca nas atmosfera nigdy nie jest zupełnie wolna od unoszącej się w powietrzu zawiesiny pochodzenia organicznego i nieorganicznego. Organiczna część tej zawiesiny zwana aeroplanktonem, składa się przede wszystkim z pyłku roślin, zarodników grzybów oraz bakterii. Aeroplankton unoszony przez prądy powietrzne wykonuje bierne ruchy w kierunkach poziomych i pionowych, w rzadkich momentach zupełnej ciszy opada na ziemię pod wpływem siły ciężkości. Droga, jaką przebywa ziarno pyłku od punktu wyjścia tj. od rośliny która go wytworzyła do punktu gdzie opadnie na zamię lub na ziemię, zależy przede wszystkim od kierunku i siły wiatru. Jest ona jednak w pewnym stopniu zależna od prędkości opadania pyłku w powietrzu nieruchomym. Im prędkość opadania jest mniejsza tym dłuższa może być droga jaką przebywa dane ziarno pyłku. O prędkości opadania pyłku decyduje jego ciężar i kształt. Duże, ale zaopatrzone w worki powietrzne ziarna niektórych roślin szpilkowych utrzymują się w powietrzu nieruchomym o wiele dłużej niż inne, znacznie mniejsze, nie mające żadnych aparatów lotnych.

Powietrze otaczające kulę ziemską nieomal nigdy nie jest zupełnie nieruchome. Nawet w momentach pozornej ciszy blisko powierzchni ziemi odbywają się poziome przesunięcia mas powietrza. Poruszające się w ten sposób powietrze napotyka na stawiające mu opór nierówności terenu i wywołuje tzw. turbulencje, czyli wymieszanie powietrza. Ruchy turbulencyjne wznoszą w górę masy powietrza, przy czym ich prędkość zwiększa się. Dla ruchów aeroplanktonu większe znaczenie niż opisana turbulencja dynamiczna ma turbulencja termiczna. Zjawisko to wywołane jest niejednorodnym nagrzewaniem się warstw powietrza. Powietrze ogrzane, jako lżejsze wznosi się, a jego miejsce zajmuje powietrze chłodniejsze. Powstaje w ten sposób turbulencja termiczna. Turbulencyjny ruch powietrza przy sprzyjających warunkach (rozkład temperatur w atmosferze) przemienia się w prąd wstępujący. Ruch wstępujący powietrza unosi ziarna pyłku na duże wysokości. Za pomocą aparatury

pomiarowej zainstalowanej na śmigłowcach wykazaliśmy obecność wysokich stężeń pyłku roślin nawet na wysokości 1000 metrów nad poziomem gruntu, przy czym wraz ze wzrostem wysokości stężenie pyłku roślin zmniejszało się [29].

Dalekiemu transportowi ziarn pyłku roślin sprzyja wytwarzanie się i obecność chmur *Cumulus* [12,29]. Pod tym typem chmur pyłek może być przemieszczany na duże odległości. Hicks i wsp. uważają, że do 20% ziarn pyłku brzozy znalezionych w Finlandii pochodzi z dalekiego transportu [31]. Z przeprowadzonych w Ośrodku Badania Alergenów Środowiskowych badań wynika, że transport na odległość ponad 80 km, nawet przy sprzyjających warunkach pogodowych (silny wiatr), należy do rzadkości, a ilość tak przemieszczanego pyłku jest zbyt mała, by miało to znaczenie kliniczne [32].

Wraz z oddalaniem się od źródła pyłku (kwitnienie rośliny) stężenie pyłku zmniejsza się. Jednak w szczególnych okolicznościach, gdy emitowane są olbrzymie ilości ziarn pyłku (np. łan żyta), nawet w odległości 10 km stężenie pyłku może osiągać wysoki poziom. Przykładem może być punkt pomiarowy w centrum Warszawy, w którym corocznie w okresie pylenia żyta w wietrzne dni notowane jest stężenie dochodzące do 70-110 ziaren pyłku w 1 m³ powietrza. Punkt ten oddalony jest o 9 km od najbliższych upraw żyta.

Przyjmuje się, że odległość 50-100 km stanowi naturalną granicę rozprzestrzeniania się pyłku. Większość wyprodukowanych ziarn pyłku opada na długo przed osiągnięciem tej granicy [1,7]. Często cytowane są prace Erdtmanna (1937r) wskazujące, że w atmosferze nad Atlantykiem, kilkaset kilometrów od najbliższego brzegu, może znajdować się pyłek roślin [1,7]. Jednak ilość pyłku jaką Erdtman schwytał (6 ziaren pyłku w 100 m³ powietrza) jest znikoma i nie może mieć jakiegokolwiek znaczenia w medycynie. W naszych badaniach wykazaliśmy, że w odległości 50-70 metrów od trawy produkującej pyłek jego stężenie nie przekracza 1% stężenia uzyskanego przy samej roślinie. W przypadku drzew odległości na jakie przenosi się 1% wytworzonego pyłku sięgały 180-450 metrów w zależności od siły wiatru i wysokości drzewa [32]. Zdaniem autora podstawowe znaczenie w alergologii ma pyłek roślin wiatropylnych produkowany przez rośliny rosnące w najbliższym otoczeniu. Transport daleki (na odległości większe niż 10-15 km) odgrywa znaczenie jedynie przy wyjątkowo sprzyjających warunkach pogodowych (turbulencja termiczna), przy silnym wietrze i niskiej wilgotności powietrza.

Badania palinologiczne

Liczba gatunków, których pyłek może wywołać objawy chorobowe u osób uczulonych jest różna dla różnych obszarów florystycznych i dla każdego kraju powinna zostać oceniana osobno. W Polsce badania nad opadem pyłku roślin rozpoczęto w latach trzydziestych

i były one głównie oparte na obserwacjach kwitnienia roślin w rejonie Krakowa [24]. W latach siedemdziesiątych na podstawie badań metodą grawimetryczną opracowano kalendarze pylenia dla Warszawy [23], Bydgoszczy [33], Łodzi [11] i Krakowa [34,35]. Od 1989 roku prowadzone są stałe pomiary stężenia pyłku roślin i spor grzybowych w 21 punktach pomiarowych w całym kraju [12, 36].

Wybór miejsca i metody pomiaru zależny jest od celu, jaki stawiamy przed badaniami. Umieszczenie aparatu chwytanego na wysokości 10-30 metrów nad poziomem gruntu pozwala na ocenę średniego stężenia reprezentatywnego dla całej okolicy (dzielnica, miasto). Niższe usytuowanie aparatu pomiarowego pozwala na uchwycenie nawet niewielkich wahań stężenia pyłku zależnych od lokalnej szaty roślinnej [4,29,36,37].

Możemy wyróżnić główne grupy aparatów stosowanych do pomiarów stężenia (opadu) ziarn pyłku: grawimetryczne i objętościowe (uderzeniowe i ssące).

Metoda grawimetryczna wykorzystuje siłę ciężenia. Oparta jest na założeniu, że ilość ziarn pyłku, które opadły na powierzchnię chwytaną jest odzwierciedleniem składu ilościowego i gatunkowego ziarn pyłku w atmosferze [1,12,23,38]. Metoda ta należy do najprostszych i najtańszych. Pyłek roślin opada na powierzchnię chwytaną pokrytą substancją lepłą. Jako powierzchni chwytnej można użyć szkiełek mikroskopowych podstawowych, folii plastikowych lub innych przezroczystych materiałów umożliwiających bezpośrednią ocenę preparatu w mikroskopie świetlnym. Jako substancji lepnych najczęściej używa się roztworów, w skład których wchodzi żelatyna, gliceryna i woda [1,12,39]. W celu wybarwienia cytoplazmy ziarn pyłku i łatwiejszej ich identyfikacji stosuje się dodatek barwników - najczęściej fuksyny zasadowej [1,7,12]. W celu zabezpieczenia preparatów przed opadami deszczu stosuje się odpowiednie osłony, najlepiej spełnia swe zadania aparat Durhama. Preparaty uzyskuje się poddając powierzchnie chwytne ekspozycji w punktach pomiarowych w różnych przedziałach czasowych. Po zakończeniu pomiaru preparat nakrywa się szkiełkiem mikroskopowym nakrywkowym, zabezpiecza, opisuje i ocenia pod względem jakościowym i ilościowym w mikroskopie świetlnym. Najczęściej stosuje się powiększenie 240-400x [1,12]. Wyniki przedstawiane są jako liczba ziaren pyłku, które opadły na 1cm² powierzchni chwytnej w jednostce czasu (np. 43 ziarna pyłku traw /1cm² /24h). Pomiarów tą metodą można dokonywać używając szalek Petriego lub kuwet jako powierzchni chwytanych [12,35]. W tym przypadku powierzchnię należy przemyć wodą destylowaną, roztwór odwirować, a otrzymany osad poddać ocenie [12,23,35]. Zaletami metody grawimetrycznej są niska cena aparatów i prostota wykonania pomiaru, wadami zaś: nierównomierność opadu pyłku, mała reprezentatywność dla cząstek małych, poniżej 15 μm, podatność na wpływy atmosferyczne, głównie siłę wiatru [1,4,12].

Metoda uderzeniowa wykorzystuje zjawisko nalotu, wychwytyjąc ziarna pyłku na powierzchnię ustawioną pionowo (prostopadle do kierunku wiatru). Ustawione pionowo szkiełko mikroskopowe pokryte lepikiem umożliwia nam ocenę nalotu (cząsteczek które niesione przez wiatr osiadły na szkiełku). Wartość nalotu jest kilkakrotnie większa od wartości opadu mierzonego w tym samym punkcie i np. dla babki lancetowatej wynosi 4,3 : 1 [1]. Skonstruowano wiele aparatów opartych na tej metodzie. Elektryczny silnik napędza dwa ramiona na których znajdują się powierzchnie chwytne w postaci plastikowych lub szklanych pręcików (lub taśmy). Przykładem może być popularny aparat Rotord. Znając wielkość powierzchni chwytnej, długość okręgów jakie zataczają, liczbę obrotów na minutę oraz czas badania obliczyć można objętość powietrza w jakiej znajdowały się wychwycone ziarna pyłku. Otrzymane wyniki przedstawiane są jako ilość ziarn pyłku w 1 m³ powietrza.

W aparatach ssących zasysane powietrze kierowane jest na powierzchnię chwytą; taśmę lub szkiełko mikroskopowe. W aparacie Burkarda bęben z taśmą lepną przesuwana się z szybkością 2mm na godzinę, co pozwala precyzyjnie określić stężenie pyłku nawet o określonej godzinie. Aparat zasysa 10 litrów powietrza na minutę [9, 12]. W 1991 w Ośrodku Badania Alergenów Środowiskowych skonstruowany został aparat objętościowy VST-1 i PVST-2 Alergo-RP. Zaletą aparatu są jego niewielkie rozmiary i waga (ok. 1kg z akumulatorem). Jest on szczególnie przydatny do prowadzenia pomiarów w miejscach, gdzie nie ma możliwości doprowadzenia prądu zmiennego np. w górach [12,36]. W celu dokładnego rozdzielania aeroplanktonu na frakcje (pod względem wielkości cząstki) stosuje się opracowany przez Andersona w 1958 r. aparat ssący, kaskadowy. Wykorzystuje on szereg kaskadowo ustawionych szalek Petriego [12].

W ostatnich latach rozpoczęto próby wykorzystania metod immunochemicznych do oznaczania stężenia alergenów w atmosferze. Metody te uwzględniają obecność w powietrzu alergenu, który mógł wydostać się z ziarna pyłku i unosi się w powietrzu np. osadzony na cząsteczkach sadzy pochodzących z silników diesla lub w formie mgły wodnej. Porównawcze badania metod immunochemicznych i tradycyjnych metod objętościowych wykazały bardzo wysoką korelację obu metod zarówno w stosunku do pyłku roślin jak i do zarodników pleśni [4]. Z uwagi na bardzo wysokie koszty nie znalazły się one jednak w powszechnym użyciu.

Sezon pylenia

W Polsce pylenie roślin rozpoczyna się zwykle w pierwszej dekadzie lutego (leszczyna i olcha), choć przy sprzyjających warunkach pogodowych pyłek tych roślin może pojawić się w atmosferze już w połowie

stycznia. W kwietniu powietrze wysyczone jest pyłkiem brzozy, który jest najczęstszą przyczyną alergicznego nieżytu nosa i spojówek w okresie wiosennym. Okres pylenia drzew liściastych trwa do połowy maja, kiedy to kwitną dęby. Czerwiec i lipiec to okres pylenia traw (w tym zbóż - traw uprawnych). W sierpniu i wrześniu w atmosferze dominują ziarna pyłku roślin złożonych, w tym bylicy [25,28,33,37,38,39,40].

Czas rozpoczęcia i zakończenia pylenia przez poszczególne rośliny jest zależny od krainy geograficznej, warunków klimatycznych i gatunku rośliny. Pylenie drzew i traw najwcześniej rozpoczyna się w południowo-zachodniej, a najpóźniej (po około 10-14 dniach) w północno-wschodniej Polsce. Pylenie roślin złożonych (chwasty) rozpoczyna się najczęściej w części południowo wschodniej. Podobnie przesunięty jest również szczyt sezonu pylenia poszczególnych gatunków roślin [25,36,37,41]. Znajomość tych zjawisk pozwala na ograniczanie ekspozycji na alergeny tj. wyjazd w okolice gdzie pylenie jeszcze się nie rozpoczęło lub już zakończyło [3,4,36,42].

W poszczególnych latach termin rozpoczęcia i zakończenia pylenia może różnić się od średnich wieloletnich [1,36,39]. I tak w 1996r z uwagi na przedłużającą się, ostrą zimę pylenie leszczyny i olchy rozpoczęło się w całym kraju prawie równocześnie, dopiero około 20 marca. Bardzo obficie (do 2750 ziaren w 1 m³ powietrza), lecz krótko pyliła brzoza. Tak wysokie stężenia wywołały objawy chorobowe nawet u osób z niewielkiego stopnia nadwrażliwością na alergeny pyłku brzozy [32]. Nieznajomość stężenia pyłku, na jakie narażeni byli w tak nietypowym roku pacjenci może prowadzić do błędów w ocenie skuteczności terapii. Wystąpienie objawów uczuleniowych pomimo zastosowanego leczenia świadczyć może o jego nieskuteczności, ale może być też spowodowane narażeniem pacjenta na wyjątkowo wysokie stężenie alergenów. Z drugiej strony brak lub niewielkie objawy w trakcie sezonu pylenia świadczyć mogą o wysokiej skuteczności terapii, lub też o niewielkiej ekspozycji chorego na alergen np. w przypadku niskich stężeń pyłku roślin [3,12,26,36,39].

Częstość uczuleń na alergeny pyłku poszczególnych gatunków roślin jest wypadkową narażenia na dany alergen (zależnego od strefy klimatycznej) i siły antygenowej pyłku. W tabeli I przedstawione zostało porównanie odsetka ziaren pyłku roślin w powietrzu (% sumy wszystkich ziaren pyłku w skali roku) i dodatnich testów skórnych w trzech miastach różniących się roślinnością; w Warszawie [43], Leiden w Holandii [44] i Neapolu we Włoszech [45].

Poniżej przedstawione są rośliny których pyłek jest w Polsce najczęstszą przyczyną objawów uczuleniowych u osób nadwrażliwych.

Tabela 1. Porównanie odsetka ziarn pyłku roślin w powietrzu i dodatnich testów skórnych w trzech różnych miastach europejskich: Warszawa (n=1423), Leiden, Holandia (n=3211), Neapol, Włochy (n=785).

Warszawa Polska		Rapiejko P., Lipiec A.A. [43]		Leiden Holandia		Spieksma F.Th.M. [44]		Neapol Włochy		D'Amato G., Lobefalo G. [45]	
Pyłek	%	dodatni test skórny	%	Pyłek	%	dodatni test skórny	%	Pyłek	%	dodatni test skórny	%
Sosna	35,1	Trawy i Żyto	83,5	Pokrzywa	30	Trawy	86	Pokrzywa	42	Parietaria	82
Pokrzywa	14,3	Brzoza	16,2	Trawy	22	Olcha	6	i Parietaria			
Brzoza	8,5	Bylica	15,1	Brzoza	8	Brzoza	5	Trawy	12	Trawy	38
Trawy i Żyto	7,1	Jesion	5,7	Olcha	7	Bylica	4	Oliwka	10	Oliwka	23
Bylica	4,2	Olcha	4,2	Wierzba	4	Dąb	3	Leszczyna	7	Bylica	17
Olcha	3,4	Komosa	3,4	Sosna	3	Pokrzywa	2	Olcha	6	Babka	7
Topola	3,1	Leszczyna	2,5	Dąb	3	Jesion	2	Platan	5	Komosa	3
Dąb	1,6	Szczaw	2,1	Topola	3	Szczaw	2	Bylica	4	Platan	2
Komosowate	1,5	Babka	2,0	Cyprysowate	3	Babka	2	Cyprysowate	3	Cyprysowate	2
Leszczyna	1,2	Dąb	1,1					Komosowate	2	Leszczyna	2
Szczaw	0,8	Pokrzywa	0,5								
Babka	0,7	Sosna	0,3								
Parietaria	0	Parietaria	0,2								

Drzewa i krzewy

Główne alergeny pyłku drzew rosnących w klimacie umiarkowanym są strukturalnie i immunologicznie zbliżone. Dotyczy to przede wszystkim alergenów pyłków pochodzących z różnych gatunków tego samego rodzaju oraz z rodzajów spokrewnionych ze sobą. Wszystkie są kwaśnymi proteinami (punkt izoelektryczny pI 4-6), o masie molekularnej około 20 kDa. Sekwencja aminokwasów alergenów pyłku różnych gatunków drzew jest zbliżona (powtarzalność 80-90%) [2,4,13].

Leszczyna (łac. *Corylus*, ang. *Hazel*, *Fibert*, niem. *Hasel*)

Wysoki krzew lub drzewo. Kwiaty męskie w zwisających, cylindrycznych kotkach. Kwitnie przed rozwinięciem się liści (koniec stycznia - początek kwietnia) [12]. Leszczyna jest jedną z pierwszych zakwitających roślin. Moment jej zakwitania jest początkiem botanicznego przedwiośnia [11,12,25]. W Polsce dziko rośnie jeden gatunek (leszczyna pospolita - *Corylus avellana* L.), pospolity w całym kraju; w lasach, na zrębach i w zaroślach. W uprawie spotyka się kilka gatunków. Ziarno pyłku *Corylus avellana* ma średnicę 23-27 µm, 3 porowe.

Objawy pyłkowicy wywołanej pyłkiem leszczyny są niewielkie z uwagi na to, iż stężenia pyłku w aglomeracjach miejskich zwykle nie przekraczają wartości średnich (najczęściej 20-30 ziarn/m³) [12,37]. Alergen pyłku leszczyny wykazuje wysokiego stopnia reakcje krzyżowe z alergenem brzozy i olchy. Alergen główny - *Cor a I* (dawna nazwa *Hla*) o masie molekularnej 12-18 kDa, punkt izoelektryczny pI = 5,4. [4].

Olcha, olsza (łac. *Alnus*, ang. *Alder*, niem. *Erle*)

Drzewo lub krzew (olsza zielona). Kwiaty męskie zebrane w kotkowate kwiatostany zawiązujące się latem

poprzedniego roku. Zakwita przed rozwinięciem się liści lub równocześnie z nimi (luty - początek kwietnia) [12]. W Polsce dziko rosną trzy gatunki:

- olsza czarna, *A. glutinosa* (Black Alder) pospolita na niżu, w wilgotnych lasach, nad potokami, w dolinach rzek, nad brzegami jezior i innych zbiorników wodnych.
- olsza szara, *A. incana* (Grey Alder) pospolita na południu kraju, w górach w reglu dolnym (w Tatrach i Beskidach tworzy laski tzw. olszyny karpackie), wzdłuż rzek ku północy aż do ujścia Wisły. Kwitnie około 2 tygodnie przed olszą czarną.
- olsza zielona (o. kosa) *A. viridis* (Green Alder) krzew, kwitnie od kwietnia do maja, w Polsce tylko w zachodnich Bieszczadach [25].

Objawy uczulenia na pyłek olchy nie są zbyt częste, w znacznym stopniu zależne są od warunków pogodowych, bowiem kwitnienie olchy przypada na wczesną wiosnę kiedy to ekspozycja pacjentów na aeroalergeny zewnątrzdomowe jest ograniczona. Pyłek olchy osiąga wysokie stężenia w atmosferze (do 400-500 z/m³). Ziarno pyłku *Alnus glutinosa* ma średnicę 20-27 µm, 4-5 por. Alergen główny - *Aln g I* (stara nazwa *Ag-5*), masa molekularna 17 kDa, pI = 5,2. Alergen pyłku olchy wykazuje reakcje krzyżowe z alergenami pyłku brzozy i leszczyny [2,4].

Brzoza (łac. *Betula*, ang. *Birch*, niem. *Birke*)

Pospolite drzewo w północno-zachodniej i centralnej Europie. W północnej Europie może stanowić do 75% składu lasów [25], ale i w centralnej i zachodniej Europie jest bardzo często spotykana. Najczęstsze są dwa gatunki *B. verrucosa* (*B. pendula*) i *B. pubescens*. Liczne są mieszańce tych odmian. Kwiaty męskie - żółto-zielone kotki widoczne już jesienią, zwisające, cylindryczne, zebrane po kilka obok siebie na końcach pędów [5,19]. Kwitnie równocześnie z pojawieniem się pierwszych

liści (kwiecień - połowa maja, a w krajach skandynawskich maj i czerwiec). W poszczególnych latach występują znaczne różnice w terminie rozpoczęcia i stopniu natężenia pylenia [2,12,19,32,42]. W Polsce rośnie dziko 7 gatunków. Najczęstsze to: brzoza brodawkowata (*Betula pendula* syn. *B. verrucosa*), brzoza czarna (*B. obscura*) i brzoza omszona (*B. pubescens*) [25].

Pyłek brzozy osiąga bardzo wysokie stężenia w atmosferze (zwykle do 4000 z/m³), w pobliżu kwitnącego drzewa stężenie może przekraczać 16,2 mln ziarn pyłku / 1m³ powietrza [26]. Jest on po pyłku traw najczęstszą przyczyną alergicznego zapalenia błony śluzowej nosa i spojówek. U osób z silną nadwrażliwością objawy uczuleniowe występują także po kontakcie z pyłkiem brzozy zdeponowanym w kurzu domowym. Najwyższe stężenia pyłku znajdowane są w kurzu domowym około 3 tygodnie po szczycie pylenia. Ziarno pyłku *Betula pendula* - 21-24 μm średnicy, 3 porowe.

Poznana została pełna sekwencja aminokwasów dla trzech alergenów pyłku brzozy. Główny alergen brzozy brodawkowatej *Bet v I* (dawna nazwa *Bv-23*), zbudowany z 159 aminokwasów, masa molekularna 17 kDa, pI=5,2. Wykazano, że daje on krzyżową reakcję z 17 kDa alergenem jabłka [4]. Kolejny główny alergen brzozy *Bet v II* ma 133 aminokwasy o znanej sekwencji zbliżonej do grupy białek określanych jako profiliny. Profilina pełni rolę w polimeryzacji aktywny. Trzecim alergenem pyłku brzozy jest białko kalmodulina o masie molekularnej 20 kDa będące aktywatorem enzymów [4].

Jesion (łac. *Fraxinus*, ang. *Ash*, niem. *Esche*)

Drzewo z rodziny *Oleaceae*. Kwiaty poligamiczne, drobne, niepozorne, bez okwiatu, zebrane w krótkie wiechy (kwitnie koniec marca - połowa maja). W Polsce dziko jeden gatunek; jesion wyniosły (*Fraxinus excelsior* L.) dorastający do 35 metrów wysokości, pospolity w całym kraju, głównie w wilgotnych lasach, przy drogach. Jesion występuje głównie w północno-zachodniej i centralnej Europie. W lasach południowej Europy występuje Manna Ash (*F. ornus*). Pyłek jesionu ma według części autorów silne właściwości uczulające [42].

Reprezentantem tej samej rodziny jest oliwka produkująca silnie uczulające ziarna pyłku, będące podstawowym czynnikiem etiologicznym pyłkowicy w rejonie śródziemnomorskim [4, 42].

Pozostałe rośliny z rodziny *Oleaceae* jak liguster (*Ligustrum*), forsycja (*Forsythia*), bez lilak (*Syringa*) i jaśmin (*Jasminum*) mają mniejsze znaczenie w alergologii. Pomiędzy alergenami pyłku poszczególnych gatunków tej rodziny obserwuje się reakcje krzyżowe. Na uwagę zasługuje reakcja krzyżowa pomiędzy alergenami oliwki i ligustru sadzonego w Polsce w postaci żywopłotów [37].

Dąb (łac. *Quercus*, ang. *Oak*, niem. *Eiche*)

Jest typowym drzewem lasów Europy Środkowej. Kwiaty męskie złożone z 4-12 pręcików, z pojedynczym drobnym okwiatem, zebrane w zwisające kotki. W Polsce rosną dziko 2 gatunki:

- dąb szypułkowy (*Quercus robur*), pospolity w całym kraju, w lasach, parkach, przy drogach, w górach do 600-700 m n.p.m. [25]. Kwitnie w maju, 2 tygodnie przed dębem bezszypułkowym.
- dąb bezszypułkowy (*Q. petraea*), w Polsce pospolity w lasach i parkach z wyjątkiem obszarów górskich i północno-wschodniej części kraju, która leży poza zasięgiem jego występowania [5,25]. Inne gatunki: dąb burgundzki (*Q. cerris*), dąb czerwony (*Q. rubra*) znaleźć można często w parkach, zadrzewieniach ulicznych i przydrożnych [25]. Ziarno *Quercus robur* ma 27-28 μm średnicy. Stężenie pyłku jedynie sporadycznie (kilka dni w roku) przekracza wartości średnie. Znaczenie kliniczne małe lub średnie. Główny alergen *Q. alba - Que a I* o masie molekularnej 17 kDa [4].

Rodzina **Sosnowate** (*Pinaceae*)

Sosna (łac. *Pinus*, ang. *Pine*, niem. *Kiefer*)

Świerk (łac. *Picea*, ang. *Spruce*, niem. *Fichte*)

Jodła (łac. *Abies*, ang. *Fir*, niem. *Tanne*)

Modrzew (łac. *Larix*, ang. *Larch*, niem. *Lärche*)

Cedr (łac. *Cedrus*, ang. *Cedar*, niem. *Zeder*)

Kwiaty męskie w postaci krótkich kotek (żółte, pomarańczowe lub czerwone) złożone z licznych, spiralnie na osi osadzonych pręcików, z których każdy ma po 2 woreczki pyłkowe. Przedstawiciele tej rodziny wstępują powszechnie w całej Europie, szczególnie licznie w północnej i centralnej Europie tworząc duże lasy. *Pinus silvestris*, *P. nigra*, *Picea abies*, i *Larix europea* są powszechne w Europie Północnej, *Pinus pinaster* i *Pinus halepensis* w Europie Południowej.

Aktywność alergenowa pyłku *Pinaceae* jest według większości autorów niewielka lub nie występuje w ogóle. Dyskutowana jest rola pyłku drzew iglastych w procesie grindowania błony śluzowej dróg oddechowych, co z uwagi na wyjątkowo wysokie stężenia pyłku sosny wydaje się mieć znaczenie dla późniejszych objawów wywołanych alergenami pyłku traw [46]. Pyłek rodziny *Pinaceae* pokryty jest płaszczem woskowym utrudniającym wydostawanie się alergenu na zewnątrz ziarna. Pyłek tej rodziny opatrzony jest workami powietrznymi ułatwiającymi dłuższe unoszenie się w powietrzu [1]. Produkowany jest w olbrzymiej ilości. Pyłek sosny osiąga bardzo wysokie stężenia w atmosferze (do 8 tys. z/m³ w miastach i do 120 tys. z/m³ na terenach podmiejskich, a jeszcze wyższe w lasach sosnowych) [32]. Po opadach deszczu w okresie pylenia sosny (maj) na brzegach kałuż widoczny jest żółty osad będący głównie pyłkiem sosny. Ziarno *Pinus silvestris* średnicy 65-80 μm z dwoma workami powietrznymi [1,7].

Topola (łac. *Populus*, ang. *Poplar*, niem. *Pappel*)

Drzewo dwupiennie (kwiaty męskie i żeńskie występują na oddzielnych okazach). Sadząc wyłącznie okazy żeńskie możemy wpływać na zmniejszenie stężenia pyłku w atmosferze (produkowanego przez okazy męskie). Kwiaty zebrane w zwisające kotki rozwijają się wczesną wiosną (kwiecień, maj) krótko przed rozwinięciem liści. Na przełomie maja i czerwca na okazach żeńskich dojrzewają owoce zawierające nasiona opatrzone pęczkiem miękkiego, śnieżnobiałego puchu, który jest roznoszony przez wiatr [25]. Okres owocowania topoli zbiega się w czasie z początkiem pylenia traw. Wielu chorych uczulonych na pyłek traw sądzi, że przyczyną dolegliwości występujących w tym okresie jest biały puch topoli. Pojawiające się masowo duże ilości puchu mogą działać drażniaco na błonę śluzową nosa i spojówki, nie mają jednak właściwości uczulających. Ziarno pyłku średnicy 25-30 µm, ściana gruba. Osiąga wysokie stężenia w atmosferze (do 300-400 ziaren/m³ powietrza). Znaczenie kliniczne małe.

Rodzina Trawy (łac. *Gramineae*, *Poaceae*, ang. *Grasses*)

Alergeny pyłku traw są najczęstszą przyczyną pyłkowicy w naszym klimacie [2,4,12,34]. Uczulenie na pyłek traw jest obserwowane w populacji europejskiej częściej niż na pyłek innych roślin. W Polsce występuje około 160 gatunków traw. Alergenowość pyłku traw jest bardzo dobrze udokumentowana. Pomiędzy alergenami poszczególnych gatunków traw wykazano wysoką reaktywność krzyżową. Duża liczba gatunków traw sprawia, że sezon pylenia jest stosunkowo długi, dochodzi do 8 miesięcy w centralnej i południowej Europie. W Polsce prócz traw dzikich znaczne obszary porasta żyto (trawa uprawna). Zazwyczaj kwitnienie zaczyna się po wschodzie słońca; pylniki zostają wyrzucone na zewnątrz, po czym pękają i wysypuje się pyłek. Kwiaty jednego kłosa przekwitają na ogół w ciągu 5 dni; kwitnienie łąnu trwa 8-10 dni [6].

Główny okres pylenia traw przypada w Europie Centralnej na drugą połowę maja, czerwiec i pierwszą połowę lipca, w Europie Północnej na drugą połowę czerwca, lipiec i pierwszą połowę sierpnia, w Europie Południowej i Rejonie Śródziemnomorskim na maj [15,42].

Ziarno pyłku traw jest zwykle okrągłe lub lekko owalne, z cienkimi ścianami, które mają gładką lub lekko granulowaną powierzchnię. Ściany mają poniżej 1 µm grubości i mogą być nieco pogrubiałe wokół pojedynczej pory tworząc tzw. pierścień [9]. Pierścień jest zamknięty przez nakrywkę. Wielkość ziaren pyłku traw jest różna dla różnych gatunków, jednak generalnie mieści się w przedziale 16-60 µm. Mniejsze ziarna pyłku są charakterystyczne dla traw dzikich, a większe dla traw uprawnych [9].

Alergeny pyłku traw należą do najdokładniej zbadanych. Na podstawie podobieństw fizykochemicznych i immunochemicznych podzielono je na 7 grup: I, II, III, IV, IX (V), X, i profiliny. Pełna sekwencja aminokwasowa

kilkunastu alergenów z grupy II i III została ustalona metodami klasycznymi, a ostatnio za pomocą klonowania cDNA zbadano alergeny z grupy I i IX [4].

Alergeny grupy I są kwaśnymi glikoproteinami o masie molekularnej 27 kDa. Badania immunochemiczne wykazały, że alergeny grupy I są zlokalizowane w zewnętrznej ścianie oraz wokół ziarenek skrobi i w cytoplazmie ziarna pyłku. Ziarenka skrobi mają około 3 µm średnicy i są uwalniane z pyłku w trakcie kontaktu z wodą [4]. Mogą być one wykrywane w atmosferze i prawdopodobnie są silnym źródłem alergenów. Najlepiej poznanym alergenem tej grupy jest *Lol p I* zbudowany z 240 aminokwasów o znanej sekwencji, pI = 5,1, masa molekularna 26 kDa.

Szczegółowe badania fizykochemiczne grupy II, III i IV alergenów wykazały, że są to białka nieglikozylowane o masie molekularnej 11 kDa, podczas gdy alergeny grupy IV są proteinami o masie 57 kDa. Metodami konwencjonalnymi poznano sekwencję aminokwasów alergenów grupy II i III żyta. Okazało się, że obie grupy alergenów mają podobną sekwencję aminokwasów. Wykazano także znaczne podobieństwo do sekwencji alergenu *Lol p I*.

Alergeny grupy IX są heterogenicznym zbiorem białek nieglikozylowanych o masie molekularnej 30 kDa. Poznano ich sekwencję aminokwasową, a ostatnio sklonowano alergeny żyta i tymotki z grupy IX [4]. Immunochemicznie potwierdzono polimorfizm alergenów grupy IX. Najlepiej zbadanym alergenem tej grupy jest *Lol p IX* i *Poa p IX*. Uzyskano 3 klony *Poa p IX* o różnej liczbie aminokwasów i różnej masie molekularnej.

Badania fizykochemiczne alergenów gr. X wykazały, że są cytochromami. Alergen *Lol p X* jest to cytochrom C [4].

Profiliny mają masę molekularną 14 kDa i odpowiadają w pyłku za polimeryzację aktyny [4].

Blizsze poznanie alergenów pyłku traw powinno przyczynić się do znaczącego postępu w diagnostyce i immunoterapii. Obecny stan wiedzy (poznanie sekwencji aminokwasów) daje częściową odpowiedź na pytania dotyczące reakcji krzyżowych w obrębie rodziny *Gramineae*.

Bylica (łac. *Artemisia*, ang. *Mugwort*, niem. *Beifuß*)

Bardzo popularny w całej Europie chwast wiatropylny. Jest rośliną pionierską, zasiedla nowe tereny, place budowy i nasypy. W Europie Centralnej: *A. vulgaris* w Południowej *A. annua* i *A. verlotorum*. Tuż nad ziemią stężenie jej pyłku jest bardzo wysokie i często przekracza 400-500 ziarn pyłku/m³ powietrza. Aktywność alergenowa pyłku bylicy jest bardzo wysoka. Ma duże znaczenie kliniczne. Odpowiada za większość objawów pyłkowicy późnym latem [40]. Ziarno pyłku średnicy 19x22 µm. Opisano część alergenów wyizolowanych z pyłku bylicy. Główne alergeny to *Art v I* o masie molekularnej 60 kDa i pI = 4,4 oraz *Art v II* o masie molekularnej 20 kDa i pI = 4,1-4,8 [4].

Babka (łac. *Plantago*, ang. *Plantain*, niem. *Wegerich*)

W Polsce występują 3 gatunki: *Plantago major*, *P. lanceolata*, *P. media*. W Europie Południowej powszechna jest *P. coronopus*. Kwiaty od 3 cm długości u babki lancetowatej, do 15 cm u *P. major*. Ziarno pyłku o 24 µm średnicy i pofałdowanej powierzchni. Posiada w zależności od gatunku 5-14 porzrzucanych nieregularnie por. Babka jest owado- i wiatropylna. Stężenia jej pyłku nigdy nie osiągają bardzo wysokich wartości. *Plantago lanceolata* i *P. media* kwitnie w maju i czerwcu a *P. major* w lipcu. Zwykle uczulenie na pyłek babki towarzyszy nadwrażliwości na pyłek innych gatunków roślin [4,42].

Szczaw (łac. *Rumex*, ang. *Sorrel*, *Dock*, niem. *Ampfer*)

W Europie występuje 5 gatunków szczawiu: *Rumex acetosa*, *R. acetosella*, *R. crispus* i *R. obtusifolius*. Z tego powodu w Europie Centralnej sezon pylenia jest stosunkowo długi (maj - sierpień) [42]. Ziarno 20x22 µm z 3-4 sferoidalnymi szczelinami. Ściany pyłku są średniej grubości 1-1,5 µm, z rzeźbieniem na powierzchni oraz 3-4 długimi wyłobieniami odchodzącymi od centralnego otworu. Osiąga średnie stężenia w atmosferze. Znaczenie kliniczne małe lub średnie.

Komosa (łac. *Chenopodium*, ang. *Lamb's Quaters*, *Fat Hen*, *Goosefoot*, niem. *Gänsefuß*)

Komosa jest pospolitym chwastem w całej Europie jednak stężenie jej pyłku nie osiąga wysokich wartości. Obserwowane jest uczulenie na pyłek komosy, jednak rzadko są to objawy o dużym nasileniu. Ziarno ma 25-34 µm średnicy, z dużą liczbą por, 60-70 [37].

Pokrzywa (łac. *Urtica*, ang. *Stinging Nettle*, niem. *Brennnessel*)

Pokrzywa jest charakterystyczna dla rejonów o klimacie umiarkowanym i zimnym, z *Urtica dioica* jako głównym reprezentantem. Pokrzywa produkuje dużą ilość pyłku, ma długi okres pylenia, a stężenia jej pyłku osiągają bardzo wysokie wartości w atmosferze. Uczulenia na pyłek pokrzywy należą jednak do rzadkości [4,37,42]. Ziarno pyłku *Urtica dioica* ma średnicę 15-18 µm, sferoidalne z 3-4 porami [1].

Ambrozja (łac. *Ambrosia*, ang. *Ragweed*, niem. *Traubenkraut*)

Alergen pyłku ambrozji jest najczęstszą przyczyną pyłkowicy w Ameryce Północnej i przez wiele lat uważano, że nie stanowi problemu w Europie. Od końca lat 60. ambrozja obecna jest we Francji, północnych Włoszech, na Ukrainie, w krajach bałkańskich, na Węgrzech i południowej Austrii [4], a ostatnio także w południowej Polsce. Z uwagi na wymagania klimatyczne nie wydaje się jednak, aby ambrozja mogła się w Polsce rozmnażać. Pyłek ambrozji znaleziony w atmosferze Polski (w pojedynczych dniach nawet w wysokim stężeniu) pochodzi najprawdopodobniej z roślin wysianych wraz z importowanym zbożem. Wskazuje na to ograniczone występowanie okazów ambrozji np. w okolicach stacji przeładunkowych i dworców kolejowych. Kwitnienie przypada na drugą połowę sierpnia i wrzesień. Ziarno pyłku ma średnicę 20-22 µm. Eksyna z relatywnie długimi kolcami. Bardzo dokładnie poznano alergeny ambrozji. Z pyłku *A. artemisifolia* (*elator*) wyizolowano 6 głównych alergenów. Zdefiniowano je jako *Amb a I, II, III, IV, V, VI* [4].

Piśmiennictwo

1. Dyakowska J.: Podręcznik palynologii. Wyd. Geologiczne. Warszawa 1959.
2. Holgate S.T., Church M.K.: Allergy. Gower Medical Publishing. London 1993.
3. Negrini A.C.: Pollens as allergens. *Aerobiologia*, 1992, 8: 9-15.
4. Busse W.W., Holgate S.T.: Asthma and rhinitis. Blackwell. Cambridge 1995.
5. Szafer W., Kulczyński S., Pawłowski B.: Rośliny polskie. PWN, Warszawa 1993.
6. Tarkowski C.: Biologia żyta. PWN, Warszawa 1983.
7. Faegri K., Iversen J.: Podręcznik Analizy Pyłkowej. Wyd. Geologiczne, Warszawa 1978.
8. Brooks J., Shaw G.: Chemical structure of the exine of pollen walls and a new function for carotenoids in nature. *Nature*. 1988, 219: 522-529.
9. Airborne pollens and spores. A guide to trapping and counting. The British Aerobiology Federation. Aylesford 1995.
10. Southworth D.: Isolation of exines from gymnosperm pollen. *Amer. J. Bot.* 1988, 75: 15-19.
11. Buczyński K., Wnuk M.: Analiza palinologiczna dynamiki występowania pyłków roślin w Łodzi. *Otolaryngol. Pol.*, 1979, 33: 265-272.
12. Rapiejko P.: Palynologia a medycyna. *Nowa Medycyna*, 1995, 7: 33-35.
13. Pressey R., Reger B.J.: Polygalacturonase in pollen from corn and other grasses. *Plant Science*, 1989, 59: 57-62.
14. Samoliński B., Zawisza E.: Jak żyć z alergią. Dom Wydawniczy Sz. Szymański. Warszawa 1993.
15. Spiekma F.T.H.M., Nikkels B.H., Dijkman J.H.: Seasonal appearance of grass pollen allergen in natural, pauci-micronic aerosol of various size fractions. Relationship with airborne grass pollen concentration. *Clin. Exp. Allergy*. 1995, 25: 234-240.
16. Southworth D., Singh M.B., Hough T., i wsp.: Antibodies to pollen exines. *Planta* 1988, 176:482-488.

17. Glck U.: Pollinosis und orales Allergiesyndrom (OAS). HNO 1990, 38: 188-193.
18. Zawisza E., Samoliński B.: Częstość występowania i reakcje krzyżowe nadwrażliwości na alergeny wziewne mierzone testem skaryfikacyjnym. Otolaryngol. Pol., 1992, 14: 618-621.
19. Hjelmroos M., Schumacher M.J., Van Hage-Hamsten M.: Heterogeneity of pollen proteins within individual *Betula pendula* trees. Intern. Arch. Allergy Immunol., 1995, 108(4): 368-371.
20. Śpiewak R., Prażmo Z., Sitkowska J. i wsp.: Bacterial microflora of allergenic pollens. w : Śpiewak R. (red): Pollens and Pollinosis: Current Problems. Institute of Agricultural Medicine, Lublin 1995: 33-35.
21. Śpiewak R., Skórska Cz.: Bacterial endotoxin in allergenic pollens. w: Śpiewak R. (red): Pollens and Pollinosis: Current Problems. Institute of Agricultural Medicine, Lublin 1995: 38-39
22. Rapiejko P., Jurkiewicz D., Lipiec A.A. i wsp.: Objawy uczuleniowe po spożyciu miodu. w: Śpiewak R. (red): Pyłki i Pyłkowica: Aktualne Problemy. Instytut Medycyny Wsi, Lublin 1995, 69.
23. Zawisza E.: Epidemiologia pyłkowic w Warszawie. rozprawa doktorska. AM Warszawa 1973.
24. Obtulowicz M.: O niezycie pyłkowym. Biol. Lek. 1939, 3: 217-249.
25. Bugała W.: Drzewa i krzewy dla terenów zielonych. PWRiL, Warszawa 1991.
26. Rapiejko P. Lipiec A.A.: Etiologia alergicznych nieżytów nosa. w: Zawisza E. (red): Diagnostyka i leczenie alergicznych nieżytów nosa. Roche, Warszawa 1995.
27. Solomon W.R., Burge H.A., Muilenberg M.L.: Allergen carriage by atmospheric aerosol. I. Ragweed pollen determinants in smaller micronic fractions. J. Allergy Clin. Immunol., 1983, 72, 443-447.
28. Spieksma F. Th. M., Norland N., Frenguelli G. i wsp.: Pollen atmosferico en Europa. UCB. Brussels 1993.
29. Rapiejko P., Zawisza E., Lipiec A.A.: The pollen count at 1 - 1500 meters above ground level. Allergy, 1992, 47 (supl. 12): 301.
30. Rapiejko P., Szurogajło A., Zawisza E. i wsp.: Progowe stężenie pyłku roślin niezbędne do wywołania objawów uczuleniowych. w: Śpiewak R. (red): Pyłki i Pyłkowica; Aktualne Problemy. Instytut Medycyny Wsi, Lublin 1995, 66.
31. Hircks S., Helander M., Heino S.: Birch pollen production, transport and deposition for the period 1984-1993 at Kevo, northernmost Finland. Aerobiologia 1994, 10: 183-191.
32. Lipiec A., Rapiejko P.: Stężenia pyłku drzew w 1996r w Warszawie. Monitor Pyłkowy 1996, 6: 3-5.
33. Gniazdowski R.: Pyłki roślin a schorzenia alergiczne układu oddechowego. Wiad. Lek. 1976, 29: 25-29.
34. Obtulowicz K., Szczepanek K., Szczeklik A.: The value of pollen count for diagnosis and therapy of pollen allergy in Poland. Grana 1990, 29: 318-320.
35. Szczepanek K.: Pollen fall in Kraków in 1982-1991. Zesz. Nauk. Uniw. Jagiell., Prace Geogr. 1994, 97: 9-22.
36. Ligęziński A., Rapiejko P., Wojtkowski M.: Profilaktyka pyłkowicy u dzieci i młodzieży. Otolaryngol. Pol. 1994, 48 (sup 18): 51-53.
37. Ligęziński A., Rapiejko P.: Koncentracja pyłku roślin w atmosferze Polski. Pneumonol. Alergol. Pol. 1994, 62: 347-351.
38. Zawisza E. Samoliński B. Tarchalska B. i wsp.: Allergenic pollen and pollinosis in Warsaw. Aerobiologia 1993, 9: 47-51.
39. Rapiejko P., Zawisza E., Samoliński B. i wsp.: Monitoring stężenia aeroalergenów w profilaktyce i leczeniu pyłkowicy. Otolaryngol. Pol. 1992, 14: 624-626.
40. May K.L.: Pyłkowica (uczulenie na pyłek roślin wiatropylnych). Nowa Klinika 1994, 4: 29-32.
41. Rapiejko P.: Aneks. w: Prelaud P.: Alergiczne zapalenia skóry u psów i kotów. Sanmedia, Warszawa 1995: 164-168.
42. Nilsson S., Spieksma F.Th.M.: Allergy service guide in Europe. Sweddish Museum of Natural History. Stockholm 1994.
43. Rapiejko P., Lipiec A.A.: Częstość dodatnich testów skórnych u pacjentów z pyłkowicą. Monitor Pyłkowy, 1996, 12: 6-9.
44. Spieksma F.Th.M.: Airborne pollen concentrations in the European Economic Community (EEC). VI. Poaceae (Grasses) 1982-1986. Aerobiologia 1989, 5: 38-43.
45. D'Amato G., Lobefalo G.: Allergenic pollen in the Mediterranean area. J. Allergy Clin. Immunol., 1989, 83: 258-267.
46. Connell J.T.: Quantitative intranasal pollen challenges. III. The priming effect in allergic rhinitis. J. Allerg., 1969, 43: 33-37.

Pollen allergens

PIOTR RAPIEJKO

Summary

The autor presents important facts concerning pollen allergens as well as pollen grain structure and methods of pollen count measurment. Special attention is paid to the plant species that are the most common cause of allergy symptoms in Poland.