

Brak korelacji wartości sIgE dla rBet v 1, rBet v 2 z krzyżowo reagującymi alergenami pokarmowymi u pacjentów uczulonych na pyłek brzozy

Lack of correlation between specific rBetv1, rBetv2 IgE and cross-reactive food allergens in birch pollen allergic patients

dr n. med. Aneta Wagner¹, prof. dr hab. n. med. Krzysztof Buczyński², mgr Angelika Szwed¹,
dr hab. n. med. Hanna Zielińska-Bliźniewska, prof. UM¹

¹ Zakład Alergologii i Rehabilitacji Oddechowej II Katedry Otolaryngologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Kierownik Zakładu: dr hab. n. med. Hanna Zielińska-Bliźniewska

² NZOZ Centrum Alergologii w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Krzysztof Buczyński

Streszczenie: Celem badań była ocena występowania oraz profilu IgE-zależnej alergii pokarmowej i/lub wziewnej u pacjentów uczulonych na pyłek brzozy t3 (+) o endotypie izolowanej alergii na *Bet v 1*, w porównaniu z kombinacją *Bet v 1/Bet v 2*, izolowaną *Bet v 2* czy też izolowaną t3 (+) bez obecności wymienionych komponent. Przeprowadzono 980 badań *in vitro* u 49 osób z fenotypem pyłkowicy brzozowej [typowe objawy, testy skórne (+), sIgE t3 (+)]. Materiał podzielono na 4 grupy na podstawie komponent *rBet v 1/rBet v 2*: endotyp A = t3 (+), *rBet v 1* (+), *rBet v 2* (-); endotyp B = t3 (+), *rBet v 1* (+), *rBet v 2* (+); endotyp C = t3 (+), *rBet v 1* (-), *rBet v 2* (+); endotyp D = t3 (+), *rBet v 1* (-), *rBet v 2* (-). Wykonano 980 oznaczeń specyficznych IgE dla 20 alergenów. W całej grupie z reakcją sIgE t3 (+) częstość występowania IgE-zależnej alergii pokarmowej wyniosła ok. 40%, a wziewnej od ponad 93% (olcha) do ok. 25% (lateks). W podgrupie 36 pacjentów o endotypie A krzyżowe reakcje wziewne obejmowały najczęściej olchę (83,7%) i leszczynę (73,5%), korelacja znamienne dodatnia, a w odniesieniu do alergii pokarmowej – najczęściej orzechy laskowe (26,5%) oraz owoce cytrusowe (24,5%); nie stwierdzono statystycznie znamienych korelacji pyłkowo-pokarmowych. Równoległy pomiar komponent pyłku brzozy *Bet v 1* i *Bet v 2* nie zwiększał poprawności diagnozowania nawet w endotypie B, gdzie oba wyniki były dodatnie. W endotypie C krzyżowe reakcje pokarmowe potwierdzono tylko u ok. 6%. Reakcje krzyżowe w rzadkim endotypie D występowały sporadycznie. Ocena występowania sIgE dla komponent *Bet v 1* oraz *Bet v 2*, niezależnie od analizy endotypów, wykazała zarówno w odniesieniu do alergenów wziewnych, jak i pokarmowych wysoką zgodność diagnostyki za pomocą sIgE dla t3 i komponenty *Bet v 1*, lecz bardzo niską przy użyciu komponenty *Bet v 2*.

Abstract: The aim of the study was to evaluate the prevalence and profile of IgE-mediated food and/or inhaled allergy in patients sensitized to birch pollen t3 (+) of isolated allergy to *Bet v 1* endotype compared to a combination of *Bet v 1/Bet v 2*, isolated *Bet v 2* or isolated t3 (+) without the presence of the mentioned components. 980 *in vitro* analyses were performed in 49 subjects with birch pollinosis phenotype [typical symptoms, skin tests (+), sIgE t3 (+)]. The subjects were divided into 4 groups basing on *rBet v 1/rBet v 2* components: endotype A = t3 (+), *rBet v 1* (+), *rBet v 2* (-); endotype B = t3 (+), *rBet v 1* (+), *rBet v 2* (+); endotype C = t3 (+), *rBet v 1* (-), *rBet v 2* (+); endotype D = t3 (+), *rBet v 1* (-), *rBet v 2* (-). Polychick *rBet v* plus panel (Biocheck, Germany) was used for sIgE evaluation. In the whole group with sIgE t3 (+) reaction, the prevalence of IgE-dependent food allergy was about 40% and inhaled allergy from > 93% (alder) to 25% (latex). In the subgroup of 36 endotype A patients, inhaled cross-reactions included most frequently alder (83,7%) and hazel (73,5%), significantly positive correlation, and in food allergy most often: hazelnuts (26,5%) and citrus fruits (24,5%), no statistically significant pollen-food correlations were found. Simultaneous measurement of the components of birch pollen *Bet v 1* and *Bet v 2* did not increase the accuracy of the diagnosis even in endotype B, where both results were positive. In endotype C, food cross-reactivity was confirmed only in about 6%. Cross-reactions were observed occasionally in rare endotype D. Evaluation of the presence of sIgE to *Bet v 1* and *Bet v 2* components demonstrated, irrespective of the analysis of endotypes, both in relation to inhaled and food allergens high compliance of the diagnostics with the help of sIgE to t3 and *Bet v 1* component but very low with the use of *Bet v 2* component.

Słowa kluczowe: rekombinowane alergeny pyłku brzozy *rBet v 1*, *rBet v 2*, reakcje krzyżowe, endotypy zespołu pyłkowo-pokarmowego

Key words: birch pollen recombinant allergens *rBet v 1*, *rBet v 2*, cross-reacting allergy, pollen-food syndrome endotypes

Wprowadzenie

Diagnostyka alergii pokarmowej u pacjentów uczulonych na alergeny powietrzno pochodne jest współcześnie jednym z ważniejszych wyzwań. Szczególnie identyfikacja osób o wysokim ryzyku wystąpienia reakcji systemowych bywa trudna przy zastosowaniu wyłącznie tradycyjnych narzędzi diagnostycznych [1].

Determinanty antygenowe (inaczej epitopy lub komponenty) pyłku brzozy należą do typowych przyczyn alergicznego nieżyty nosa oraz astmy oskrzelowej w północnej i środkowej Europie oraz Ameryce Północnej [2]. Osoby uczulone na pyłek brzozy zgłaszają często nadwrażliwość na surowe owoce, warzywa i orzechy, co określa się mianem brzożowego zespołu pyłkowo-pokarmowego (BPFS, *birch pollen-food syndrome*) [3]. Według dotychczasowych poglądów objawy BPFS były związane z obecnością specyficznych przeciwciał IgE (sIgE) dla alergenu głównego brzozy *Bet v 1* i/lub profiliny brzożowej – *Bet v 2*, które miały reagować krzyżowo z homologicznymi białkami wymienionych pokarmów roślinnych [4]. Krzyżowa alergja na pokarmy może wywoływać rozmaite i różnie nasilone objawy, w dużej mierze zależne od komponenty alergenu, na którą jest uczulony konkretny pacjent. Opisano miejscową oraz anafilaktyczną postać UZU – ustnego zespołu uczuleniowego (OAS, *oral allergy syndrome*) [5]. Przyjmuje się obecnie, że wyłącznie miejscowe symptomy towarzyszą izolowanej reakcji na homologi *Bet v 1* i/lub *Bet v 2* w surowych produktach [6], natomiast uogólniona reakcja anafilaktyczna pojawia się u osób dodatkowo lub wyłącznie nadwrażliwych na odpowiednik białka przenoszącego tłuszcze (LTP, *lipid transfer protein*), nawet po spożyciu potraw gotowanych [7]. Przykładowo w miększu jabłka homologiczne dla wymienionych są odpowiednio *Mal d 1* (odpowiednik *Bet v 1*), *Mal d 2* (podobne do *Bet v 2*) i *Mal d 3* (zbliżone do znsLTP) [8]. Istotną przyczyną dolegliwości związanych z żywnością są także warzywa z rodziny *Apiaceae*, takie jak seler (*Api g 1*) i marchew (*Dau c 1*), obie komponenty homologiczne z *Bet v 1* [9]. W badaniach wcześniejszych stwierdzono, że dane uzyskane na podstawie oznaczeń sIgE wobec rekombinowanych komponent pyłku brzozy znacznie pogłębiają charakterystykę alergologiczną pacjenta, niekiedy określają wręcz odmienny endotyp pyłkowicy, związany z ciężkością przebiegu immunoterapii czy też określonymi reakcjami krzyżowymi [10]. Podobne obserwacje umożliwiły stworzenie gotowych list „typowych” reakcji krzyżowych pyłkowo-pokarmowych oraz wyjaśniły genezę charakterystycznych zespołów klinicznych, takich jak brzoza–jabłko, bylica–seler czy

lateks–banan [11]. Jednak podjęte w ślad za opisanymi odkryciami praktyczne zastosowania specjalnie przygotowanych zestawów diagnostycznych sIgE oraz punktowych testów skórnych standaryzowanych i/lub natywnych ujawniają bardziej złożoną sytuację. „Teoretycznie przewidywalna” dla pyłkowicy brzożowej alergja krzyżowa przybiera u poszczególnych badanych nieoczekiwane różną formę. Utrudnia to podjęcie odpowiedniej edukacji pacjentów dotyczącej diety, a jednocześnie rodzi ważne pytania teoretyczne:

- Dlaczego wykrycie maksymalnego miana *Bet v 1* lub *Bet v 2* nie zawsze skutkuje dodatnim rezultatem sIgE z alergenami pokarmowymi, według wielu doniesień zawierającymi odpowiednie homologi o wysokim stopniu powinowactwa?
- Czy stosowane obecnie standardy przygotowania alergenów do oznaczeń sIgE są nadal użyteczne?
- Czy właściwie interpretujemy wyniki oznaczeń sIgE?

Przedstawione wątpliwości stanowiły podstawę do podjęcia niniejszych badań.

Cel pracy

Ogólnym celem badań była ocena występowania oraz profilu IgE-zależnej alergii pokarmowej i/lub wziewnej u pacjentów uczulonych na pyłek brzozy t3 (+) o endotypie izolowanej alergii na *Bet v 1*, w porównaniu z kombinacją *Bet v 1/Bet v 2*, izolowaną *Bet v 2* czy też izolowaną t3 (+) bez obecności wymienionych komponent. Celami szczegółowymi podjętych badań było określenie:

1. Jakie są faktycznie częstość występowania i profil IgE-zależnej alergii pokarmowej i wziewnej u chorych z dodatnią reakcją na klasyczne sIgE dla pyłku brzozy t3?
2. Jaki jest profil IgE-zależnej alergii pokarmowej i/lub wziewnej u pacjentów uczulonych na pyłek brzozy t3 (+) o endotypie izolowanej alergii na *Bet v 1* i jakie to ma znaczenie kliniczne?
3. Czy równoległy pomiar komponent pyłku brzozy *Bet v 1* i *Bet v 2* zwiększa poprawność diagnozowania BPFS, czy jej nie zwiększa?
4. Jakie są typowe reakcje krzyżowe u badanych mieszkańców Polski uczulonych na pyłek brzozy t3 (+) o endotypie wyłącznie *Bet v 2*?
5. Jakie konsekwencje dla alergii krzyżowej w oznaczeniach IgE może mieć teoretycznie możliwy endotyp pyłkowicy brzożowej t3 (+) przy braku komponent *Bet v 1* i *Bet v 2*?

6. Czy równoległe oznaczanie sIgE dla t3, *Bet v 1* oraz *Bet v 2* ma istotne znaczenie dla wykrywania alergii krzyżowej wobec alergenów wziewnych i/lub pokarmowych?

Materiał badań

Stworzono grupę badaną złożoną z 49 dorosłych osób (w wieku 19–60 lat, średnia wieku: 34,8 roku), w tym 21 mężczyzn i 28 kobiet z rozpoznaniem alergicznego nieżytu nosa (ANN). Kwalifikacja pacjentów do grupy badanej polegała na dodatnim wywiadzie wskazującym na alergię brzożową, występowaniu klinicznych cech ANN w sezonie pylenia drzew kontrolowanym palinologicznie we własnej stacji pomiarowej, obecności przedmiotowych symptomów choroby w badaniu otolaryngologicznym i dodatnich punktowych testach skórnych (PTS) z pyłkiem brzozy. Z badań wykluczono osoby aktualnie lub uprzednio poddawane immunoterapii. Kluczowym kryterium włączenia było uzyskanie dodatniego wyniku sIgE dla pyłku brzozy (t3). Dla realizacji postawionych celów, wzorując się na badaniach Twardosz-Kropfmüller A. i wsp. [12], materiał podzielono na 4 grupy odpowiadające endotypom pyłkowicy brzożowej w oparciu o diagnostykę komponent *rBet v 1/rBet v 2*: endotyp A = t3 (+), *rBet v 1* (+), *rBet v 2* (–); endotyp B = t3 (+), *rBet v 1* (+), *rBet v 2* (+); endotyp C = t3 (+), *rBet v 1* (–), *rBet v 2* (+); endotyp D = t3 (+), *rBet v 1* (–), *rBet v 2* (–). Na badania uzyskano zgodę Komisji Bioetyki Okręgowej Izby Lekarskiej w Łodzi nr RNN/731/11.

Metodyka – oznaczanie obecności sIgE

Wykonano 980 oznaczeń stężenia swoistych IgE, do badań zastosowano 20-alergenowy panel Polycheck *rBet v plus* (Biocheck, Niemcy), służący do przesiewowej diagnostyki laboratoryjnej. Zestaw obejmował pyłek brzozy (kod sIgE t3), komponenty rekombinowane *Bet v 1* i *Bet v 2*, pyłek olszy, leszczyny, tymotki i bylicy. Ponadto w składzie znajdowały się: lateks, roztocze *D. pteronyssinus* (Dp) i szereg alergenów pokarmowych znaczących pod kątem występowania objawów reakcji krzyżowych m.in. z alergenami brzozy: orzech ziemny, orzech laskowy, seler, marchew, pomidor, brzoskwinia, jabłko, mąka pszenna, soja, papryka i owoce cytrusowe. Metodologia badania opierała się na reakcji immunoenzymatycznej ELISA, z modyfikacją w postaci uproszczonego odczytu wyników badania za pomocą skanera. Wyniki były przedstawiane ilościowo, na podstawie krzywej wzorcowej zamieszczonej na każdej płytce badania w kU/l

oraz klasach (0–5). Całość oznaczeń wykonywano ściśle według zaleceń producenta [10].

Analiza statystyczna

Normalność rozkładu zmiennych ciągłych weryfikowano przy pomocy testu Shapiro–Wilka. Siłę i kierunek związku pomiędzy tymi zmiennymi oceniano na podstawie współczynnika korelacji liniowej Pearsona (*r*). Rozkład zmiennych dyskretnych porównywano przy pomocy testu chi-kwadrat Pearsona. Siłę związku pomiędzy zmiennymi dyskretnymi oceniano na podstawie ilorazu szans (OR, *odds ratio*) wyliczonego w modelu regresji liniowej. Wszystkie obliczenia wykonano przy użyciu pakietu Statistica 7 (StatSoft), jako poziom istotności przyjmując $p \leq 0,05$.

Wyniki

Wartość stężenia t3 w całej grupie 49 badanych wyniosła średnio 46 kU/l. Badając siłę związku, ustalono, iż podwyższone stężenie t3 (pyłek brzozy) wykazywało znamienne dodatnią korelację ze stężeniem alergenów olszyny szarej ($r = 0,626$; $p < 0,001$) oraz leszczyny ($r = 0,465$; $p = 0,001$). W całej grupie badanej o fenotypie alergii na pyłek brzozy t3 krzyżowa alergologia pokarmowa, ustalona w oparciu o pomiar sIgE, dotyczyła 20/49 osób (40,81%).

Izolowane uczulenie dla *rBet v 1* (endotyp A) potwierdzono u 36 osób, czyli 73,46% badanej grupy, a średnie stężenie przeciwciał E dla *rBet v 1* wyniosło 64,25 kU/l. U 11 badanych stężenie sIgE dla brzozy t3 było ekstremalnie wysokie (> 100 kU/l), natomiast bardzo wysokie miana dla *rBet v 1* dotyczyły 25 osób. W przypadku stężenia *rBet v 1* wykazano istnienie znamiennej dodatniej korelacji ze stężeniem alergenów olszyny szarej ($r = 0,499$; $p < 0,001$). Dodatni wynik sIgE dla obu komponent *rBet v 1* oraz *rBet v 2* (endotyp B) zanotowano u 8 osób (16,32%), a średnie stężenie sIgE *rBet v 2* w badanej grupie wyniosło 1,06 kU/l. Występowanie wyłącznie komponenty *Bet v 2* (endotyp C) stwierdzono u jednej pacjentki (2,04%), stężenie w tym przypadku wyniosło 6,6 kU/l. Dodatni wynik sIgE dla *rBet v 2* nie wpływał istotnie na częstość występowania uczulenia na pozostałe badane alergeny. W 4 przypadkach endotypu D, pomimo dodatniego wyniku dla mieszaniny – wyciągu pyłku brzozy t3 – nie wykryto obecności komponent *Bet v 1* ani *Bet v 2* (8,16%). Opisaną korelację stężenia przeciwciał dla badanych determinant alergenów brzozy z krzyżową alergią pokarmową przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Występowanie 4 endotypów alergii zależnej od komponent *rBet v 1/rBet v 2* i reakcji krzyżowych – pokarmowych w badanej grupie z fenotypem pyłkowicy brzozej *t3 (+)*.

Endotypy alergii na pyłek brzozy	Występowanie endotypów w populacji		Jakikolwiek krzyżowe uczulenie pokarmowe	
	Materiał 49 osób	N badanych	% badanych	N badanych
A <i>t3 (+), rBet v 1 (+), rBet v 2 (-)</i>	36	73,47	12	24,49
B <i>t3 (+), rBet v 1 (+), rBet v 2 (+)</i>	8	16,33	4	8,16
C <i>t3 (+), rBet v 1 (-), rBet v 2 (+)</i>	1	2,04	1	2,04
D <i>t3 (+), rBet v 1 (-), rBet v 2 (-)</i>	4	8,16	3	6,12
Razem	49	100	20	40,81

Dokonana następnie analiza uczuleń krzyżowych u pacjentów z badanych grup, wyodrębnionych na podstawie endotypów immunologicznych A, B, C i D, ujawniła następujące zależności:

- **Endotyp A** = *t3 (+), rBet v 1 (+), rBet v 2 (-)*: 36/49 pacjentów. Pomimo obecności w surowicach badanych komponenty *Bet v 1*, często w maksymalnym stężeniu, tylko u 12 osób wystąpiło krzyżowe uczulenie na pokarmy (24,49%), najczęściej orzech laskowy (26,5%) i owoce cytrusowe (24,9%), natomiast aż u 24 osób (75,51%) brak było dodatnich IgE na pokarmy. Najczęściej reagujące krzyżowo alergeny zwierne to olcha (83,7%) i leszczyna (73,5%).
- **Endotyp B** = *t3 (+), rBet v 1 (+), rBet v 2 (+)*: 8/49 badanych – 4 osoby ze współistniejącą alergią pokarmową (8,16%) i 4 bez podwyższonego stężenia przeciwciał. Stwierdzono uczulenie na brzoskwinie, jabłko, soję, marchew, mąkę pszenną, jednak we wszystkich przypadkach występowały niskie stężenia IgE (0,44–0,58 kU/l). U wszystkich pacjentów z tej grupy wykryto również uczulenie na olszę, leszczynę i trawy.
- U jedynej pacjentki (chora l. 27, *t3* = 16 kU/l) z grupy **endotypu C** = *t3 (+), rBet v 1 (-), rBet v 2 (+)* wykryto alergię na mąkę pszenną, seler i owoce cytrusowe, jednak o niskim nasileniu (1. klasa), u chorej tej występowało również wysokie stężenie przeciwciał dla traw (> 100), leszczyny i olszy.
- Pacjenci o **endotypie D** = *t3 (+), rBet v 1 (-), rBet v 2 (-)*: 4/49 badanych – u 3 osób (6,12%) wykryto prawdopodobnie krzyżowe alergię pokarmowe (seler, marchew, pomidor, brzo-

skwinia, jabłko, soja, mąka pszenna, orzechy), przy współistniejącej alergii na tymotkę, bylicę, leszczynę i olszę. Jedynek pacjent z tej grupy bez alergii pokarmowej był dodatkowo uczulony na tymotkę i leszczynę. Po ustaleniu zasięgu poszczególnych endotypów wewnątrz fenotypu alergii na pyłek brzozy przeprowadzono analizę ich zależności z kolejnymi aeroalergenami, obecnymi w użytym zestawie. Dane odsetkowe dotyczące aeroalergenów krzyżowych dla pyłku brzozy lub towarzyszących przedstawiono za pomocą diagramu na rycinie 1 i w tabeli 2.

Współwystępowanie sIgE w badanej populacji wykryto pomiędzy pyłkiem brzozy *t3* a pyłkiem olchy – 93,8%, leszczyny – 83,7% oraz tymotki – 75,5%. Rzadziej współistniała alergia na pyłek bylicy – 36,7%. W badanym materiale ujawniono pewien odsetek badanych z towarzyszącym uczuleniem na roztozce kurzu domowego – 42,8%. U 13 (26,5%) badanych z fenotypem pyłkowicy brzozej *t3 (+)* stwierdzono obecność sIgE dla lateksu, co mogło być zarówno objawem alergii krzyżowej na profilinę, jak i przypadkową koincydencją.

W odniesieniu do *rBet v 1*, przy nieco niższych, jak wynika z tabeli 2, wartościach bezwzględnych i odsetkowych zauważono niemal identyczne zależności jak w grupie *t3 (+)*. Z kolei pomiar *rBet v 2*, oscylujący od 8,2% do 16,3%, nie korelował z poprzednimi danymi, zarówno jeśli chodzi o *t3*, jak i *rBet v 1*. Oznaczenie *rBet v 2* okazało się w badanej grupie mało przydatne klinicznie w ocenie faktycznych, wobec potencjalnych, reakcji krzyżowych.

Następnie przeanalizowano krzyżowe alergię pokarmowe w zależności od określonych komponent sIgE. Dane te przedstawiono w tabeli 3 i na rycinie 2.

Rycina 1. Diagram ilustrujący odsetek krzyżowych reakcji z aeroalergenami w zależności od obecności IgE t3 lub sIgE Bet v 1 oraz sIgE Bet v 2 w surowicy badanych z pyłkownicą brzoową. Znamienne statystycznie, dodatnie korelacje potwierdzono jedynie dla leszczyny i olchy.

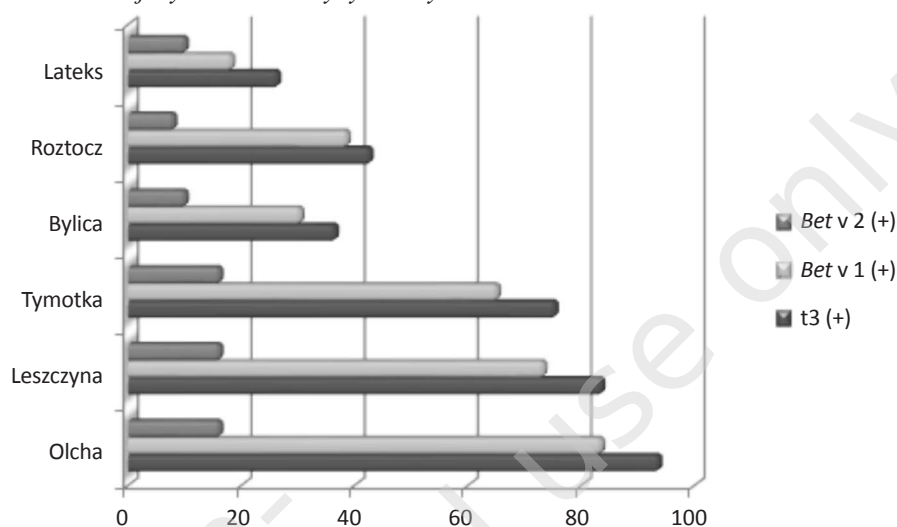


Tabela 2. Endotypy w obrębie alergii brzoowej t3 (+) zależne od komponent Bet v 1/Bet v 2 w badanej grupie i ich korelacja z pojedynczymi alergenami wziewnymi.

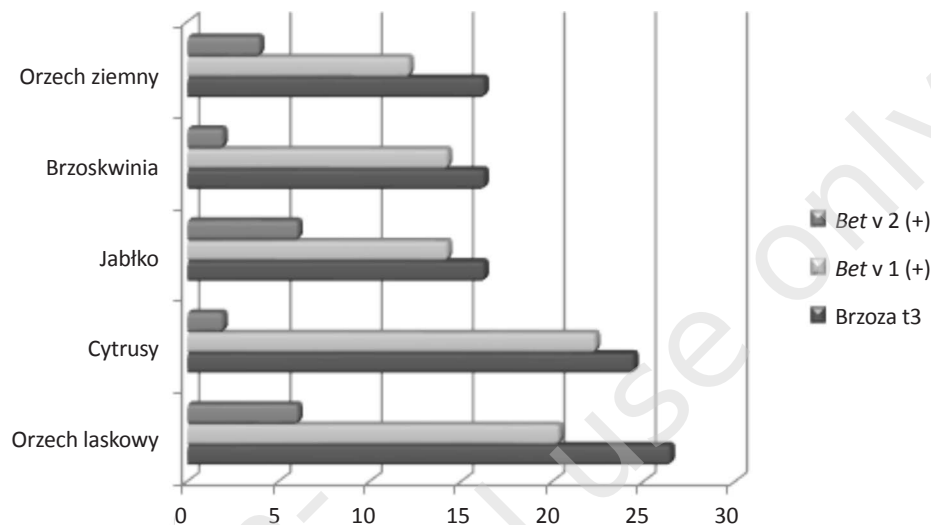
Oznaczenie sIgE n = 49		Olcha (+)	Leszczyna (+)	Tymotka (+)	Bylica (+)	Roztocze Dp (+)	Lateks (+)
Pyłek brzozy t3 (+)	n	46	41	37	18	21	13
	%	93,8	83,7	75,5	36,7	42,8	26,5
rBet v 1 (+)	n	41	36	32	15	19	9
	%	83,7	73,5	65,3	30,6	38,8	18,4
Fishera	p	0,718	0,5751	0,3154	0,3423	1,0000	0,0142*
Fi		-0,86	-0,148	-0,191	-0,1627	0,194	-0,4083
rBet v 2 (+)	n	8	8	8	5	4	5
	%	16,3	16,3	16,3	10,2	8,2	10,2
Fishera	p	0,4214	0,3220	0,1732	0,4428	0,7102	0,0229**
Fi		-0,11	0,195	0,251	0,1215	0,063	0,3599

* Dane z tabeli mogą informować o alergii krzyżowej lub współistniejącej; ** korelacje znamienne dodatnie.

Tabela 3. Endotypy alergii brzoowej zależne od komponent t3, Bet v 1/Bet v 2 w badanej grupie i ich korelacja z ocenianymi pojedynczo alergenami orzechów i owoców.

Oznaczenie sIgE n = 49		Orzech laskowy (+)	Orzech ziemny (+)	Brzoskwinia (+)	Jabłko (+)	Owoce cytrusowe (+)
Pyłek brzozy t3 (+)	n	13	8	8	8	12
	%	26,5	16,3	16,3	16,3	24,5
rBet v 1 (+)	n	10	6	7	7	11
	%	20,4	12,2	14,3	14,3	22,4
Fishera	p	1,086	0,223	0,0256*	0,0256*	0,001*
Fi				Fi -0,398	Fi -0,398	Fi -0,4351
rBet v 2 (+)	n	3	2	1	3	1
	%	6,1	4	2	6,1	2
Fishera	p	1,00	1,00	1,00	0,601	1,00

Rycina 2. Diagram ilustrujący odsetek krzyżowych reakcji z trofoalergenami (orzechy i owoce) w zależności od obecności IgE t3 lub sIgE *Bet v 1* oraz sIgE *Bet v 2* w surowicy badanych z pyłkowicą brzoową.



Jak wynika z tabeli 3, na podstawie oznaczeń sIgE u osób uczulonych na pyłek brzozy t3 stwierdzono w ponad 1/4 przypadków (26,5%) reakcję na orzechy laskowe, u niemal 1/4 (24,5%) – na owoce cytrusowe oraz u ok. 1/6 (po 16,3%) – na orzechy ziemne, brzoskwinie i jabłka. Na podstawie oznaczenia *rBet v 1* rozpoznano reakcję krzyżową pyłkowo-pokarmową w takich samych proporcjach przy nieco niższej częstotliwości, co potwierdza dużą rolę badanego alergenu głównego w BPFs. Pomiar obecności *rBet v 2* w surowicach badanych oscylowały od 2% do 6,1% i były niecharakterystyczne.

Endotypy alergii brzozowej zależne od komponent t3, *Bet v 1/Bet v 2* w badanej grupie i ich korelacja z ocenianymi alergenami poszczególnymi warzyw i mąki przedstawiały obraz następujący. U ponad 1/5 (22,4%) badanych z fenotypem t3 wykryto krzyżowe uczulenie na seler i marchew, podobnie było u pacjentów z endotypem A – *rBet v 1 (+)*, bowiem u ok. 1/5, czyli 20,4% badanych, stwierdzono identyczne alergeny pokarmowe. Na trzecim miejscu plasowała się alergia na mąkę pszenną (odpowiednio 14,3% oraz 12,2%), a na następnym pojawiło się uczulenie na soję (12,2% dla t3 oraz 6,1% dla *Bet v 1*). Ostatnie dwa oceniane pokarmy, czyli pomidor i papryka, występowały w identycznych, niższych odsetkach: 6,1% oraz 8,2%, zarówno w grupie t3, jak i *Bet v 1*. Nie uchwyciono żadnych logicznych zależności pomiędzy obecnością sIgE dla *Bet v 2* a fenotypem t3 i/lub alergią na warzywa i mąki. W ocenie statystycznej bezwzględnych wartości stężenia *rBet v 1* wykazano istnienie znamiennych odwrotnych (ujemnych) korelacji z alergenami: marchwi ($r = -0,335$; $p = 0,017$), pomidora ($r = -0,351$;

$p = 0,012$), soi ($r = -0,349$; $p = 0,013$), mąki pszennej ($r = -0,357$; $p = 0,011$) i papryki ($r = -0,356$; $p = 0,011$).

Omówienie wyników

Dotychczas w diagnostyce IgE-zależnej alergii wykonywano głównie punktowe testy skórne, wspierając się oznaczeniami IgE *in vitro* w technice RAST. W metodach tych w większości wykorzystywano naturalne ekstrakty alergenowe złożone z mieszaniny substancji, które z natury rzeczy były trudne do standaryzacji [13]. Co więcej, testy zawierające naturalne ekstrakty identyfikują jedynie źródło alergenu, lecz nie dają informacji, na które komponenty alergenowe jest uczulony pacjent oraz jakiego typu reakcji nadwrażliwości można się spodziewać po kontakcie z substancjami je zawierającymi [14]. Nadal w codziennej praktyce alergologicznej do oznaczeń swoistych IgE zdecydowanie częściej są wykorzystywane metody immunoenzymatyczne (ELISA), dzięki którym oznaczane są stężenia IgE dla naturalnych wyciągów alergenów (np. pyłku brzozy t3) w jednostkach masy. Niektóre ośrodki stosują analizy typu ISAC oparte na chipach wyposażonych zarówno w panalergeny (np. profilina *Bet v 2*), jak i alergeny specyficzne, zazwyczaj rekombinowane.

Omówienie endotypu A

W badaniach własnych endotyp t3 (+), *rBet v 1 (+)*, *rBet v 2 (-)*, określane jako izolowany *rBet v 1* lub endotyp A, występował najczęściej, zgodnie z dotychczasowymi danymi z piśmiennictwa. Dotyczył on niemal 3/4 pacjentów z uczuleniem na pyłek brzozy

(73,46%). W niedawnych badaniach przeprowadzonych w Bydgoszczy w mniejszej grupie 19 chorych u wszystkich wykazano obecność alergenowo swoistych przeciwciał IgE przeciw alergenowi brzozy *rBet v 1* [13]. Różnica ta – przy podobnym trendzie – może wynikać z innych kryteriów doboru lub po prostu z różnej liczebności grup.

Reaktywność IgE wobec rekombinowanego alergenu głównego pyłku brzozy *rBet v 1* wiąże się z uczuleniem na pyłek spokrewnionych taksonomicznie drzew oraz niektórych pokarmów roślinnych [12]. Według dotychczasowych doniesień niemal u 70% pacjentów uczulonych na pyłek brzozy rozwija się alergia pokarmowa na homologii *Bet v 1*, takie jak *Api g 1* – główny alergen selera czy *Dau c 1* – marchwi [3]. Własne dane nie potwierdzają tak wysokiej korelacji pyłkowo-pokarmowej i są niemal trzykrotnie niższe. Należy zwrócić uwagę, że z czystą rekombinowaną postacią *Bet v 1* porównywano klasyczny wyciąg wielokomponentowy, a nie pojedyncze białko.

W innym doniesieniu zdecydowana większość indywidualnych surowic zawierających przeciwciała dla *Cor a 1* reagowała krzyżowo z *rBet v 1*, ale preinkubacja z leszczynowym *Cor a 1* tylko częściowo hamowała wiązanie *rBet v 1*. Natomiast stymulacja wymienionymi alergenami limfocytów T spowodowała odpowiedź specyficznie uczulonych na *Bet v 1/Cor a 1* – komórek T u wszystkich pacjentów poddanych ocenie metodą cytometrii przepływową. Preaktywacja z alergenem marchwi *Dau c 1* powodowała jednak znacznie mniej wyraźny efekt [15]. Praca ta, częściowo zgodna z własnymi wynikami, wyjaśnia jeden z możliwych mechanizmów niezgodności wyniku sIgE z pokarmami roślinnymi z powodu braku pełnej homologii z sIgE *Bet v 1* na poziomie przeciwciał surowicznych i zwraca uwagę na niedocenianą – przynajmniej w rutynowej diagnostyce klinicznej – rolę komórek immunologicznie kompetentnych w alergii klinicznie atopowej.

Najczęstszym przejawem reakcji krzyżowej pyłkowo-pokarmowej jest zespół brzoza–jabłko. Immunoterapia skutecznie leczy objawy pyłkowicy brzożowej, lecz jej efekt w zakresie objawów alergii krzyżowej na jabłko jest wciąż kontrowersyjny [11]. W większości przypadków swoista immunoterapia (SIT) z ekstraktem pyłku brzozy nie redukuje objawów po spożyciu homologów *Bet v 1* w pokarmach [3]. Cytowane opinie potwierdzają zaobserwowany w badaniach własnych fakt tylko częściowej zgodności reakcji organizmu człowieka na homologiczne, a więc niezupełnie identyczne alergeny pyłku wobec alergenów owoców czy warzyw i mąki. Prawdopodobnie swoistość reakcji układu immunologicznego jest dalece bardziej subtel-

na i precyzyjna. W innym badaniu 2 z 8 chorych, czyli 1/4 grupy, odczulanych podskórnie szczepionką pyłku brzozy (SCIT, *subcutaneous specific immunotherapy*) oraz 1 z 7 odczulanych podjęzykowo (SLIT, *sublingual immunotherapy*) uzyskali pełną tolerancję jabłka. U pozostałych pacjentów tolerancja podczas prowokacji wzrosła – u kolejnych 3 chorych poddanych SCIT oraz 2 dalszych po SLIT. Zmiany w poziomie sIgE dla *Mal d 1* nie korespondowały z poprawą kliniczną [11]. Bardzo bliskie cytowanym wynikom są proporcje występowania BPFS we własnej grupie badanej. Niska skuteczność SCIT lub SLIT w części dotyczącej krzyżowych reakcji pokarmowych znajduje w ten sposób logiczne uzasadnienie teoretyczne.

Standaryzacja naturalnych ekstraktów jest trudna i ich skład często znacząco się różni pomiędzy produktami różnych wytwórców, a nierzadko pomiędzy seriami; stężenie alergenu głównego *Bet v 1* w różnych preparatach wahało się od 1,62 µg/ml do 19,6 µg/ml [14]. Niezależnie od opisywanych wielokrotnie różnic w zawartości alergenów w preparatach rozmaitych producentów szczepionek i testów występuje – jak wynika z przeprowadzonych badań – znacząca różnica w blokowaniu np. *Bet v 1* i *Mal d 1* czy *Cor a 1* itd. Oto przykład: homologia głównego alergenu brzozy *Bet v 1* wobec głównego alergenu jabłka *Mal d 1* wynosi 63% [6]. Wydaje się, że mimo dobrze już poznanego składu alergenów pyłku brzozy i owocu jabłoni nie zawsze wiemy, jakie komponenty były w danej szczepionce, ani nie znamy unikalnego dla każdej osoby wzoru jej odpowiedzi immunologicznej.

Omówienie endotypu B

Na drugim miejscu co do częstości występowania znalazł się w badanej grupie fenotyp B mieszany, obejmujący dwie typowe komponenty pyłku brzozy t3 (+), *rBet v 1* (+), *rBet v 2* (+). Ten wariant stwierdzono u ok. 1/6 osób (16,32%). Wyniki własne wskazujące na blisko 1/4 przypadków BPFS wśród chorych z pyłkowicą brzożową (porównaj tab. 3) dobrze korespondują z danymi Ciprandiego i wsp. [5], według których OAS stanowił tylko 28,57% przypadków alergii na pyłek brzozy. Być może własne dane, podobnie jak cytowana obserwacja, wskazują na uczulenie u chorych zagrożonych rozwojem objawów klinicznych, a nie tylko ujawniają nosicielstwo skazy atopowej. Zauważono, że występowanie IgE dla *Bet v 1* jest związane z objawami OAS oraz alergią na owoce z rodziny *Rosaceae* (jabłko, brzoskwinia, gruszka, wiśnia, śliwka i truskawka), natomiast obecność *Bet v 2* – także z objawami OAS oraz alergią

na owoce spoza tej rodziny (melon, kiwi, arbuz) [6]. W badanym materiale chorzy uczuleni na brzozę nie byli kwalifikowani na podstawie występowania wyraźnych objawów OAS ani nie zgłaszali samoistnie wyraźnych objawów OAS, być może dlatego nie wystąpiła korelacja z charakterystycznymi pokarmami roślinnymi. W zbliżonych badaniach Napiórkowskiej i wsp. [13] jedynie u 3/19 pacjentów wykazano obecność przeciwciał przeciwko alergenowi brzozy o masie cząsteczkowej 17–18 kDa. Tylko u 1 z 19 osób wykazano obecność przeciwciał reagujących jednocześnie z białkami jabłka, selera i marchwi o tej samej masie cząsteczkowej, co odpowiada głównym alergenom tych pokarmów – *Mal d 1*, *Api g 1* oraz *Dau c 1*. Stosowane obecnie preparaty do immunoterapii swoistej pyłkiem brzozy są standaryzowane na podstawie zawartości *Bet v 1*, z nieznaną ilością *Bet v 2*, a szczepionki przyszłości, obecnie w fazie końcowych prób klinicznych, zawierają niemal wyłącznie *rBet v 1*, bez *rBet v 2* [14]. W badaniach, które przeprowadzili Yamamoto i wsp. [6], określono zależność pomiędzy występowaniem przeciwciał IgE dla *rBet v 1* i *rBet v 2* oraz występowaniem alergii pokarmowej, w szczególności objawów OAS, za pomocą oceny stężenia IgE dla 9 gatunków owoców. W badanej grupie u 100% osób wykryto podwyższone stężenie IgE dla *rBet v 1*, natomiast dla *rBet v 2* u 15% badanych nie było przypadków uczulenia na LTP (*rPru p 3*). W innym porównywalnym badaniu *in vitro* komponent pyłku brzozy u mieszkańców Japonii stwierdzono 97,5% zgodności *rBet v 1* oraz 15% zgodności *rBet v 2* z naturalnym ekstraktem pyłku brzozy (t3) [16]. Oznacza to, że wartości uzyskane w Japonii są bardzo zbliżone do wyników własnych, jeśli chodzi o profilinę *Bet v 2* (16,3% wobec 15%), oraz częściowo podobne, jeśli chodzi białko transportujące glikokortykosteroidy *Bet v 1* (73,47% vs 98,5%). Wykrycie maksymalnego miana *Bet v 1* lub *Bet v 2* nie zawsze skutkuje dodatnim rezultatem testu z alergenami pokarmowymi „teoretycznie” zawierającymi odpowiednie homologi o wysokim stopniu powinowactwa.

Omówienie endotypu C

Endotyp C to inaczej wariant t3 (+), *rBet v 1* (–), *rBet v 2* (–). Nieoczekiwanie i w zasadzie niezgodnie z danymi z piśmiennictwa w badanej podgrupie z dodatnimi wynikami PTS dla pyłku brzozy oraz sIgE dla klasycznego oznaczenia pyłku brzozy t3 (+) nie stwierdzono występowania komponenty głównej (*rBet v 1*) ani profiliny (*rBet v 2*) u 4/49 badanych, co stanowiło 8,16%. Pośrednio można wywnioskować, że

w opisywanej podgrupie mniejszej niż 1/10 badanej populacji Polski za reakcję kliniczną i wynik PTS/sIgE odpowiadały inne komponenty pyłku brzozy, czyli LTP lub białko podobne do taumatyny (TLP, *thaumtine-like protein*). Wariant alergii wobec innych komponent (endotyp C) okazał się rzadki, ale przewyższał izolowane występowanie alergii na profilinę – endotyp D. Wynik ten plasuje badaną populację bliżej wzorca śródziemnomorskiego niż skandynawskiego. Klinicznie omawiana podgrupa endotypu C kryje dwa poważne niebezpieczeństwa. Pierwsze to wzmożone ryzyko wstrząsu podczas immunoterapii nowoczesnymi szczepionkami pyłku brzozy standaryzowanymi w oparciu o zawartość *Bet v 1*. Drugie zaś to potencjalnie większe zagrożenie ogólnoustrojowymi objawami OAS, szczególnie wyraźne przy dodatnim sIgE na brzoskwinię i jabłko.

Omówienie izolowanego endotypu D

Immunologiczny wzór wariantu alergii t3 (+), *rBet v 1* (–), *rBet v 2* (+), inaczej endotyp D z izolowaną alergią wyłącznie na profilinę *rBet v 2*, wystąpił w badanej grupie tylko raz, co stanowiło 2,04%. Zatem endotyp zwany „czysto profilinowym” okazał się wyjątkowy. Pozostaje to w znacznej rozbieżności z dotychczasowymi doniesieniami i – choć może być związane z przypadkowym doбором populacji – wynika prawdopodobnie z celowego „oczyszczenia” alergenów pokarmowych użytych w zestawie ze składowej powszechnie występującej – profiliny *Bet v 2* i jej homologów przez producenta alergenów wykorzystywanych przez wiele firm w panelach diagnostycznych. Reaktywność sIgE w stosunku do rekombinowanych komponent alergenowych może być związana z fenotypem alergii oraz daje możliwość wyboru strategii postępowania z pacjentem [17]. W badaniach Twardosz-Kropfmüller [12] oceniano zależności sIgE komponent pyłku traw z innymi uczuleniami. Stwierdzono, iż u pacjentów *rPhl p 7* (+) częściej pojawia się wieloczynnikowa alergja na odmienne gatunki drzew i chwastów, a u pacjentów uczulonych na *rBet v 2* (profilinę) występuje alergja na niespokrewnione botanicznie pokarmy roślinne. W badaniach własnych nie udało się potwierdzić podobnej zależności, przy czym posługiwano się jedynie testem przesiewowym.

Interpretacja wzajemnych zależności sIgE dla t3, *Bet v 1* oraz *Bet v 2*

W pracy dokonano także analizy występowania sIgE dla komponent t3, *Bet v 1* oraz *Bet v 2* niezależnie

od analizy endotypów. Wyniki przedstawiono w tabelach 2–4 oraz na rycinach 1–3 jako korelację (lub brak spodziewanej korelacji) występowania reakcji krzyżowych lub współistniejących na wybrane alergeny wziewne i pokarmowe u mieszkańców Polski. Wykazała ona w odniesieniu do alergenów wziewnych wysoką zgodność diagnostyki za pomocą sIgE dla t3 i *Bet v 1*, lecz bardzo niską przy użyciu komponenty *Bet v 2* (porównaj tab. 2 oraz diagram na ryc. 1). W zakresie krzyżowych reakcji pokarmowych ujawniono podobne rezultaty, zarówno dla owoców i orzechów (patrz tab. 3 oraz diagram na ryc. 2), jak i warzyw lub mąki (tab. 4 i diagram na ryc. 3). Próba interpretacji przedstawionych wyników obejmuje szereg możliwości:

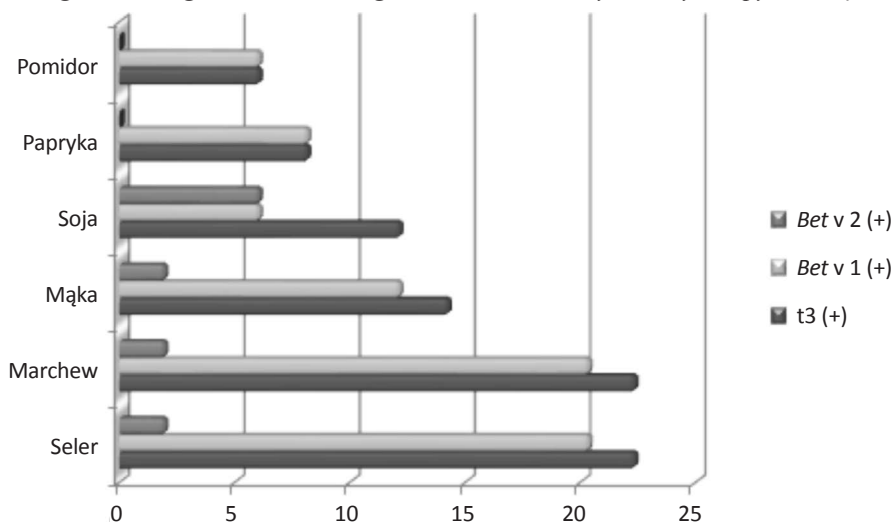
- a) Przepuszczalnie niska zawartość homologów *Bet v 1* w natywnych substratach pokarmów do

testu Polycheck. Można jedynie przypuszczać, że koproducenci, tworząc wzorcowy alergen (w sensie mieszaniny naturalnych komponent), pominęli frakcję panalergenu *Bet v 1* odpowiedzialną za liczne reakcje krzyżowe wielu produktów spożywczych i wielu pyłków roślin, pozostawiając bardziej specyficzne składniki i uznając je arbitralnie za „bardziej typowe” dla danego pokarmu. Do niedawna nauka nie dopuszczała przecież możliwości „podwojonych” czy też zdecydowanie zróżnicowanych wpływów odmiennych alergenów – białek z tego samego pyłku czy owocu. Zapewne dopiero szersze zastosowanie wielokomponentowych testów przesiewowych, wykrywających zarówno determinanty powszechne, jak i bardzo

Tabela 4. Endotypy alergii brzożowej zależne od komponent t3, *Bet v 1*/*Bet v 2* w badanej grupie i ich korelacja z ocenianymi alergenami poszczególnymi warzyw i mąki.

Oznaczenie sIgE		Seler (+)	Marchew (+)	Pomidor (+)	Papryka (+)	Soja (+)	Mąka pszenna (+)
Pyłek brzozy t3 (+)	n	11	11	3	4	6	7
	%	22,4	22,4	6,1	8,2	12,2	14,3
Fishera	p	0,051	0,676	0,0244* Fi -0,408	0,0021** Fi -0,6338	0,1069	0,0166** Fi -0,4404
<i>rBet v 1</i> (+)	n	10	10	3	4	3	6
	%	20,4	20,4	6,1	8,2	6,1	12,2
Fishera	p	1,00	0,171	1,00	0,522	0,047** Fi 0,3403	1,00
<i>rBet v 2</i> (+)	n	1	1	0	0	3	1
	%	2	2	0	0	6,1	2
Fishera	p	1,00	0,17	1,00	0,52	0,047**	

Rycina 3. Diagram ilustrujący odsetek krzyżowych reakcji z trofoalergenami (warzywa i mąka pszenna) w zależności od obecności IgE t3 lub sIgE *Bet v 1* oraz sIgE *Bet v 2* w surowicy badanych z pyłkowicą brzożową.



indywidualne dla poszczególnych źródeł alergicznych, pozwoli bliżej wyjaśnić problem.

- b) Przypadkowa denaturacja białek najbardziej ciepłochwiejnych lub ich kluczowych determinant w czasie preparowania antygenów ze źródeł pokarmowych. Ekstrakty mogą ulegać degradacji w procesie produkcji, co z kolei może dawać fałszywe wyniki podczas diagnostyki [14]. Siłą rzeczy może to dotyczyć zarówno *Bet v 1*, jak i *Bet v 2*, w mniejszym zaś stopniu protein transportujących tłuszcze (PR14 – np. nsLTP) czy białek spichrzowych, takich jak kupiny i prolaminy. Kliniczne rozwiązanie stanowiłyby w takiej sytuacji punktowe testy skórne natywne ze świeżymi produktami.
- c) Usunięcie panalergenu *Bet v 2* w trakcie przygotowania materiału do testu sIgE dla uzyskania większej swoistości. Jeżeli to prawda, to lekarz, otrzymawszy wynik panelowy, powinien interpretować dodatni rezultat z *rBet v 1* lub *rBet v 2* jako wysoce prawdopodobny marker alergii pokarmowej na wszystkie produkty zawierające w stanie świeżym owe białka. Dodatnie sIgE dla *Bet v 1* przy ujemnym dla np. jabłka nakazuje sięgnięcie po test natywny, który może przynieść – przynajmniej w części przypadków – rozwiązanie dylematu „starzenia się” z natury mniej trwałych białek pokarmowych grupy PR10. Dowiedziono, że wyciągi alergenów mogą ulegać rozkładowi podczas przechowywania [14]. Mimo deklarowanej daty ważności nie można wykluczyć stopniowej samodegradacji najbardziej aktywnych biologicznie substancji, takich jak białka przenoszące glikokortykosteroidy (np. *Bet v 1*) czy białka wspomagające zapłodnienie (np. *Bet v 2*).
- d) Możliwe są także inne, nierozpoznane dotąd przyczyny opisanych zależności lub ich braku.

Jak wynika z omówienia i dyskusji uzyskanych danych IgE, specyficzny profil pacjenta może być wartościowym, choć trudnym do interpretacji narzędziem, które umożliwia postawienie trafniejszej diagnozy. Autorzy niniejszej pracy wspierają swoimi wnioskami opinię Kim J.S. i Nowak-Węgrzyn A. [17], że takie informacje w połączeniu z pogłębioną wiedzą, które produkty spożywcze i rośliny zawierają poszczególne komponenty alergenowe, mogą kształtować lepsze postępowanie z pacjentem alergicznym i pomogą wdrożyć odpowiednią – nie za szeroką – profilaktykę. Jednym z ograniczeń obecnie stosowanych testów (PTS i sIgE) jest fakt, że dodatnie wyniki mogą nie być

diagnostyczne dla alergii pokarmowej z powodu reakcji krzyżowych dających wyniki fałszywie dodatnie (np. mąka i trawy, brzoza i orzechy ziemne/laskowe) [18] lub fałszywie ujemne, z wielu powodów, omówionych powyżej jako a–d. Diagnostyka oparta na komponentach alergenów stwarza możliwość rozwiązania podobnych problemów [4], jednak dopiero wówczas, gdy w danym zestawie występują zarówno panalergeny, jak i alergeny wysoce specyficzne dla danego źródła. Na podstawie własnych wcześniejszych badań u 36 chorych z ustaloną uprzednio alergią na pyłek brzozy wskazano na większą kompatybilność kompleksowych oznaczeń sIgE za pomocą panelu Polycheck plus niż PTS, a nawet sIgE t3, wobec składu obecnie stosowanych szczepionek alergenowych i możliwych reakcji niepożądanych, w tym rozwoju nowych uczuleń [10].

Opisana zaleta nie w pełni dotyczy zbadanych alergii pokarmowych. Molekularna diagnostyka alergii pozwala na lepszą identyfikację właściwego alergenu i rokowanie, czy może on spowodować jedynie objawy lokalne, przemijające, o niewielkim zagrożeniu (grupa PR10, profiliny), czy też może być przyczyną reakcji uogólnionych, zagrażających życiu (nsLTP, białka spichrzowe) [7]. Diagnostyka, której podstawą jest cząstka uczulająca (inaczej komponenta rozstrzygająca o rozpoznaniu), daje szansę na stworzenie profilu alergicznego oraz może wyjaśnić niezrozumiałe w konkretnych przypadkach reakcje alergiczne [19]. Pogłębiona analiza immunologiczna z wyodrębnieniem 4 endotypów zależnych od komponenty *Bet v 1* czy *Bet v 2* może wpływać na większą trafność diagnozowania brzozowego zespołu pyłkowo-pokarmowego.

Piśmiennictwo:

1. Vieira T., Lopes C., Pereira A.M. et al.: Microarray based IgE detection in poly-sensitized allergic patients with suspected food allergy – an approach in four clinical cases. *Allergol. Immunopathol. (Madr.)* 2012; 40(3): 172-180.
2. Geroldinger-Simic M., Zelniker T., Aberer W.: Birch pollen-related food allergy: clinical aspects and the role of allergen-specific IgE and IgG4 antibodies. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 127(3): 616-622.
3. Hoflehner E., Hufnagl K., Schabussova I. et al.: Prevention of birch pollen-related food allergy by mucosal treatment with multi-allergen-chimers in mice. *PLoS ONE* 2012; 7(6): e39409.
4. Wang J., Sampson H.A.: Food allergy. *J. Clin. Invest.* 2011; 121(3): 827-835.
5. Ciprandi G., Fenoglio G., Kalli F. et al.: Patients with oral allergic syndrome to apple have intense proliferative response

- to Bet v 1. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents* 2012; 26(1 supl.): S113-117.
6. Yamamoto T., Asakura K., Shirasaki H. et al.: Relationship between IgE antibodies to recombinant allergens rBet v 1 and rBet v 2 and food causing oral allergy syndrome in cases of birch-pollen allergy. *Nihon Jibiinkoka Gakkai Kaiho* 2010; 113(8): 661-669.
 7. Schmid-Grendelmeier P.: Recombinant allergens. Routine diagnostics or still only science? *Der Hautarzt* 2010; 61(11): 946-953.
 8. Ballmer-Weber B.K., Hoffmann-Sommergruber K.: Molecular diagnosis of fruit and vegetable allergy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 11(3): 229-235.
 9. Bauermeister K., Ballmer-Weber B.K., Bublin M. et al.: Assessment of component-resolved in vitro diagnosis of celeriac allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009; 124(6): 1273-1281.
 10. Buczyłko K., Wagner A.: Przydatność zestawu Polycheck plus zawierającego alergeny rBet v 1 i rBet v 2 przed immunoterapią pyłkowicy brzozy. *Postępy Dermatologii i Alergologii* 2011; 1(26): 75-82.
 11. Mauro M., Russello M., Incorvaia C. et al.: Birch-apple syndrome treated with birch pollen immunotherapy. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2011; 156(4): 416-422.
 12. Twardosz-Kropfmüller A., Singh M.B., Niederberger V. et al.: Association of allergic patients' phenotypes with IgE reactivity to recombinant pollen marker allergens. *Allergy* 2010; 65(3): 296-303.
 13. Napiórkowska K., Żbikowska-Gotz M., Bartuzi Z. et al.: Alergia krzyżowa pyłku brzozy z alergenami jabłka, selera oraz marchwi przy użyciu dostępnych metod diagnostycznych. *Alergologia Info* 2009; 4(2): 52-57.
 14. Focke M., Marth K., Valenta R.: Molecular composition and biological activity of commercial birch pollen allergen extracts. *Eur. J. Clin. Invest.* 2009; 39(5): 429-436.
 15. Hofmann C., Scheurer S., Rost K. et al.: Cor a 1-reactive T cells and IgE are predominantly cross-reactive to Bet v 1 in patients with birch pollen-associated food allergy to hazelnut. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 131(5): 1384-1392.
 16. Shirasaki H., Yamamoto T., Koyanagi Y. et al.: 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(1): 93-96.
 17. Kim J.S., Nowak-Węgrzyn A.: Component-resolved diagnostics: shedding light on the so-called 'squishy science' of food allergies? *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2011 June 29; 156(3): 231-233.
 18. Santos A., Van Ree R.: Profilins: mimickers of allergy or relevant allergens? *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2011; 155(3): 191-204.
 19. Bokszczyński K.L., Przybyła A.A.: Molecular aspects of allergy to plant products. Part I. Class I and II allergens and cross reactivity of IgE antibodies. *Pol. Merk. Lek.* 2012; 32(188): 129-134.

Wkład autorów/Authors' contributions:

Według kolejności.

Konflikt interesów/Conflict of interests:

Nie występuje.

Finansowanie/Financial support:

Nie występuje.

Etyka/Ethics:

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

Adres do korespondencji:

dr n. med. Aneta Wagner

Zakład Alergologii i Rehabilitacji Oddechowej,

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

90-647 Łódź, pl. Hallera 1

tel. (42) 632-81-47

e-mail: aneta.wagner@umed.lodz.pl