

Određivanje izrazito povećanih koncentracija specifičnog IgE-a i indeksa specifičnog IgE-a prema alergenu *Ambrosia artemisiifolia*

Slavica Dodig¹, Giorgie Petković², Branka Kristić Kirin²

Cilj je ispitati serumske koncentracije ukupnog IgE-a (ulgE), specifičnog IgE-a (slgE) prema alergenu ambrozije *Ambrosia artemisiifolia*, *Amb a*, te vrijednost indeksa koncentracije slgE-a prema *Amb a* (I-slgE) u sezoni cvjetanja ambrozije, u djece preosjetljive na alergen peludi ambrozije. Ispitana su djeca s astmom i/ili rinitisom (N=121), preosjetljiva na alergen ambrozije, *Amb a*. Standardiziranom fluoroimunokemijskom metodom UniCAP u sezoni cvjetanja ambrozije (tijekom rujna i listopada), određena je serumska koncentracija ulgE-a, slgE-a prema *Amb a*, te izračunat I-slgE. Ispitanici su svrstani u dvije podskupine: podskupina 1a (N = 70), djeca s koncentracijom slgE-a prema *Amb a* < 100 kIU_A/L; Podskupina 1b (N = 51), djeca s vrijednostima slgE-a prema *Amb a* ≥ 100 kIU_A/L. ROC krivuljom je određena razlikovna granična koncentracija za I-slgE za ispitivane podskupine. Koncentracija ulgE-a bila je u rasponu od 41,5 do 5730 kIU/L, a koncentracija slgE-a u rasponu 2,5 - 991 kIU_A/L. Raspon I-slgE-a bio je u 0,01 - 0,53 [M (IQR) = 0,14 (0,08-0,26)]. Vrijednosti I-slgE-a bile su statistički značajno veće (p < 0,0001) u podskupini 1b - [M (IQR) = 0,28 (0,20-0,35)] - u odnosu na podskupinu 1a - [M (IQR) = 0,09 (0,07-0,13)]. Granična vrijednost I-slgE-a između podskupine 1b i podskupine 1a bila je >0,15 (osjetljivost 87,3%; specifičnost 88%). I-slgE se može primijeniti kao koristan dodatan biomarker stupnja senzitivacije bolesnika prema alergenu *Amb a*.

Ključne riječi: alergija i imunologija; ambrozija; serum; receptori, IgE

UVOD

Sinteza IgE-a određena je genetičkim i okolišnim čimbenicima (1). Sinteza IgE-a i njegov katabolizam u zdravih su osoba uravnoteženi. U atopičara je sinteza IgE-a povećana, a katabolizam usporen, jer se odvija samo ekstravaskularno, za razliku od zdravih osoba kod kojih se katabolizam IgE-a odvija i ekstravaskularno i intravaskularno (2). Udio ekstravaskularnog katabolizma obrnuto je razmjern serumskoj koncentraciji IgE-a. Poluživot slobodnog IgE-a u serumu zdrave osobe neznatno je manji od dva dana, a u osobe s atopijom je nešto duži od 4 dana. Budući da koncentracija specifičnih IgE-a (slgE) prema sezonskim alergenima ovisi o izloženosti uzročnim alergenima, ona je u sezoni cvjetanja alergenske biljke veća nego prije sezone cvjetanja (3). To znači da je udio slgE-a u ukupnoj količini IgE-a u serumu,

koji se može nazvati indeksom specifičnog IgE-a (I-slgE), veći u sezoni cvjetanja alergenske biljke nego izvan nje. Veća koncentracija slgE-a ujedno podrazumijeva i izraženije simptome alergije (4).

Ambrozija, limundik (*Ambrosia artemisiifolia*, *Ambrosia elatior*) jednogodišnji je sezonski korov. Osobito je rasprostranjena diljem središnje i istočne Europe (5-9). U kontinentalnoj Hrvatskoj koncentracija peluda ambrozije izrazito je po-

¹ Odjel za kliničko laboratorijsku dijagnostiku, Dječja bolnica Srebrnjak, 10000 Zagreb

² Dnevna bolnica, Dječja bolnica Srebrnjak, 10000 Zagreb

Adresa za dopisivanje:

Slavica Dodig, spec. med. biokemije; Dječja bolnica Srebrnjak; Srebrnjak 10 000, Zagreb; e-mail: slavica.dodig@zg.t-com.hr

Primljeno/Received: 21. 9. 2015., Prihvaćeno/Accepted: 22. 10. 2015.

većana u sezoni cvatnje (10, 11), osobito u blizini Panonske nizine, odnosno u blizini hrvatsko-mađarske granice (12). Prema podacima u dvije uzastopne godine, 2006. i 2007., broj zrnaca peludi ambrozije bio je značajno veći, primjerice u Virovitici (2006. medijan = 42 zrnaca/m³ zraka, 2007. medijan = 82 zrnaca/m³ zraka) nego u Zagrebu (2006. medijan = 33 zrnaca/m³ zraka, 2007. medijan = 24 zrnaca/m³ zraka) (12). Osim doze i puta ulaska u domaćina, biološke i biokemijske karakteristike alergena (molekularna masa, topljivost, kapacitet vezanja s antitijelom, enzimska aktivnost, razgradnja i sl.) ključne su za njegovu alergeničnost (13).

Pelud ambrozije sadrži brojne alergene. Za dvadesetak alergena definirane su strukturne i biokemijske karakteristike. Među njima je šest alergena koji se smatraju glavnim alergenima (Amb a 1- Amb a 6). Amb a1 je najvažniji alergen, jer 95% osoba preosjetljivih na alergene Amb a imaju pozitivan kožni test i povećanu koncentraciju sIgE-a baš na Amb a1 (14-16). Amb a1 je protein, enzim pektat lijaza, molekularne mase 37,5 kDa, izoelektična točka pI = 5,1. Izoforme Amb a 1 su identificirane kao Amb a 1.1, Amb a 1.2, Amb a 1.3, i Amb a 1.4 (17). Alergeni Amb a, poput ostalih peludnih alergena, svojom proteolitičkom aktivnošću povećavaju propusnost transmembranskih adhezijskih proteina, npr. okcludina, klau-dina-1 i E-kadherina (18). Istodobno degradiraju bioaktivne peptide te izravno sudjeluju u alergijskoj upali (19).

Uobičajeno je da se izrazito povećane vrijednosti ulgE-a izražavaju kvantitativno, a izrazito povećane vrijednosti sIgE-a polukvantitativno (> 100 kIU_A/L). Stoga je cilj ovog istraživanja bio odrediti egzaktnu vrijednost sIgE-a, kako bi se mogao odrediti udio sIgE-a u ukupnoj količini serumskog IgE-a, izražen kao I-sIgE.

ISPITANICI I METODE

Ispitanici

U ovom su radu, koji je retrospektivna analiza medicinske dokumentacije, odabrana djeca (N = 121) u koje je dokazana preosjetljivost na alergene korova ambrozije, *Ambrosia artemisiifolia* (Amb a), kod koje je krv za analizu uzorkovana u sezoni cvjetanja ambrozije, odnosno djeca s izrazito povećanom koncentracijom sIgE-a prema Amb a. Obrađena djeca upućena su u Dječju bolnicu Srebrnjak iz Zagreba, radi utvrđivanja etiologije respiratornih simptoma, u razdoblju od 2009. do 2014. godine. Nakon dolaska u bolnicu svakom je djetetu uzeta anamneza i obavljen kompletan klinički pregled. Kod svih je ispitanika provedena alergološka odnosno pulmološka obrada, prema standardiziranom dijagnostičkom postupku, a u skladu s etičkim načelima i Deklaracijom o ljudskim pravima iz Helsinkija 1964. i posebnim načelima za dječju dob sadržanih u dokumentu iz Seula 2008.

godine (20). Nakon kliničkog nalaza uslijedili su dijagnostički postupci *in vivo* (spirometrija, ventolinski test, kožni ubodni testovi) i *in vitro* (npr. određivanje serumске koncentracije ukupnoga IgE-a, ulgE-a i specifičnih IgE-a, s-IgE-a). Navedenim testovima postavljena je dijagnoza alergijske astme, odnosno rinitisa. Sva su djeca imala polisenzibilizaciju na inhalacijske alergene, bilo na alergene peludi ili na alergene grinja iz kućne prašine. Kriteriji uključivanja bili su: 1. Pozitivna anamneza glede atopije, 2. Klinička dijagnoza alergijske bolesti te dokaz alergijske preosjetljivosti metodama *in vivo* i *in vitro*, 3. Krv uzorkovana u sezoni cvjetanja ambrozije (tijekom rujna i listopada). Kriteriji neuključivanja bili su: 1. Krvi uzorkovane šest mjeseci prije početka sezone cvjetanja ambrozije, od veljače do kolovoza, 2. vrijednosti C-reaktivnog proteina > 2,8 mg/L. Prema vrijednostima sIgE-a djeca su svrstana u dvije podskupine: u podskupinu 1a (N = 70) svrstana su djeca s koncentracijom sIgE-a prema Amb a < 100 kIU_A/L, a u podskupinu 1b djeca (N = 51) s vrijednostima sIgE-a prema Amb a ≥ 100 kIU_A/L. Djeca su bila u dobi od 2 do 17 godina ($\bar{x} \pm SD = 9 \pm 4$ godine). Među djecom bilo je više dječaka (8/121 = 69%) nego djevojčica (38/121 = 31%).

Metode

Serumska koncentracija ulgEa i sIgE-a određivana je standardiziranom fluoroimunokemijskom metodom UniCAP (proizvođač opreme i reagensa Thermo Fischer, Uppsala, Švedska), koja je standardizirana prema sekundarnom standardu Svjetske zdravstvene organizacije, WHO 75/502 (21, 22). Raspon pouzdanosti za ulgE iznosi od 1 do 5000 kIU/L, a za sIgE od 0,10 kIU_A/L do 100 kIU_A/L. Da bi se dobili precizni rezultati, serumski bolesnika s koncentracijom ulgE-a većom od 5000 kIU/L, odnosno sIgE-a većom od 100 kIU_A/L bili su razrijeđeni s matriksom seruma, koji je sastavni dio paketa reagensa. Analiza svježeg nativnog i razrijeđenog seruma obavljena je unutar 24 sata od uzorkovanja krvi. I-sIgE, izražen kao jedinica (1), omjer je koncentracije sIgE-a i ulgE-a, te se izračunava prema sljedećoj jednadžbi:

$$I\text{-sIgE} = \frac{\text{sIgE (kIU}_A\text{/L)}}{\text{ulgE (kIU/L)}}$$

Pohrana numeričkih podataka obavljena je u programu Excel 2000 programskog paketa Microsoft Office (Microsoft, SAD). Za opis kvalitativnih varijabli primijenjene su tablice distribucije frekvencije, a kvantitativne varijable s normalnom raspodjelom (dob ispitanika) opisane su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom ($\bar{x} \pm SD$), a varijable s nenormalnom (asimetričnom) raspodjelom rasponom od najmanje do najveće vrijednosti, medijanom i interkvartilnim rasponom [M (IQR)]. Za usporedbu brojčanih podataka s normalnom raspodjelom (dob) primijenjen je t-Studentov test, a za usporedbu brojčanih podataka s nenormalnom

TABLICA 1. Razlikovna djelotvornost prema vrijednostima površine (AUC) ispod ROC krivulje

AUC	razlikovna djelotvornost
0,50 do 0,60	nedovoljno dobra
0,61 do 0,70	dovoljno dobra
0,71 do 0,80	dobra
0,81 do 0,97	vrlo dobra
0,97 do 1,00	izvrsna

AUC - površina ispod krivulje

raspodjelom Mann-Whitneyev test. ROC krivulja (eng. *Receiver Operating Characteristic Curve*) primijenila se za izračunavanje pokazatelja dijagnostičke valjanosti I-sIgE-a. Za dobivene ROC krivulje izračunata je vrijednost površine ispod krivulje AUC (eng. *Area Under Curve*), kako bi se odredila diskriminirajuća snaga (dijagnostička osjetljivost i specifičnost) između podskupine 1a i podskupine 1b. AUC za idealan test imao bi vrijednost 1,0, što znači da takav test uopće ne bi imao ni lažno pozitivnih ni lažno negativnih rezultata. Dogovoreni okvirni sustav vrjednovanja razlikovne učinkovitosti podrazumijeva vrijednosti za AUC prikazane na Tablici 1.

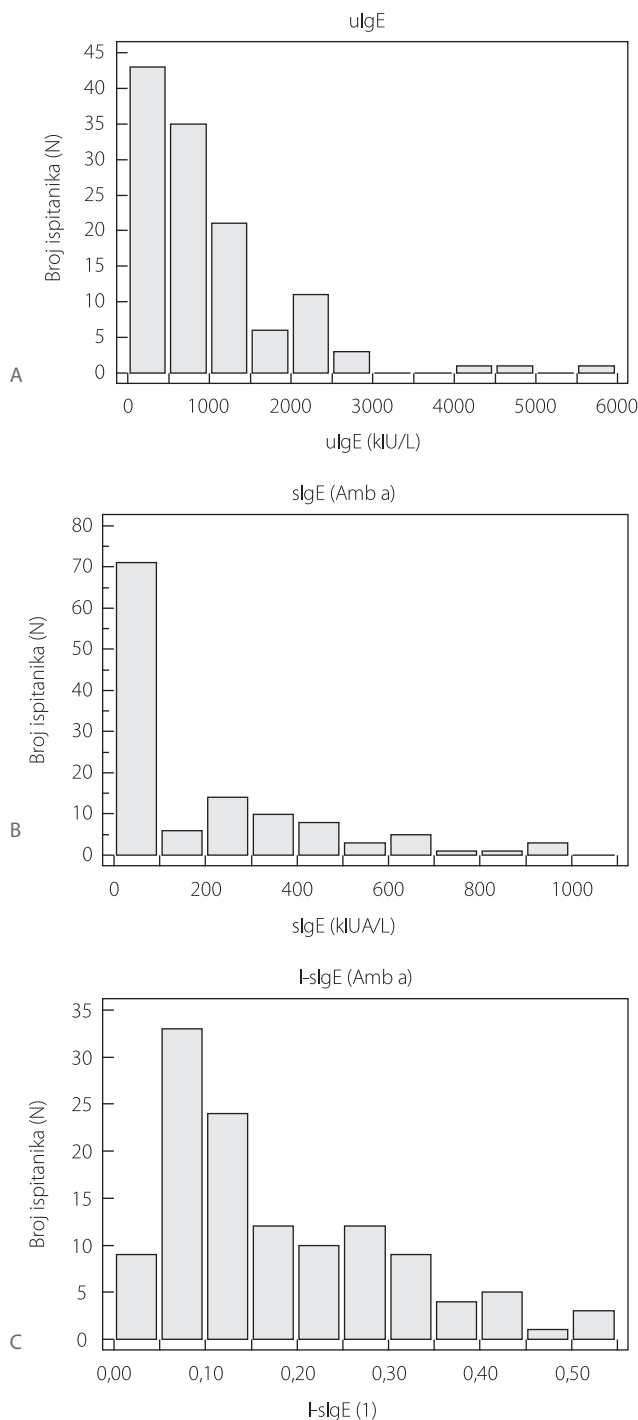
Vrijednosti $p < 0,05$ smatrane su statistički značajnima (23). Obrada podataka obavljena je u programu za statističku obradu MedCalc (Medissoftware, Mariakerke, Belgium) (24).

REZULTATI

Iz razdiobe bolesnika (Slika 1a) može se vidjeti da je većina djece ($98/121=81\%$) imala koncentraciju ulgE-a ≤ 1500 kIU/L. Koncentracija slgE-a prema Amb a bila je u 70-ero (58%) ispitanika < 100 kIU_A/L. Koncentraciju slgE-a prema Amb a ≥ 100 kIU_A/L imalo je 42% (51/121) ispitanika (Slika 1b). I-slgE $< 0,15$ imalo je 65-ero (54%) djece (Slika 1c).

Koncentracija ulgE-a (Tablica 2) bila je u rasponu od 41,5 do 5730 kIU/L. Vrijednost medijana iznosila je [M (IQR) = 734 (320,5-1230,5) kIU/L]. Vrijednosti slgE-a bile su u rasponu 2,5 - 991 kIU_A/L, a vrijednosti medijana i IQR-a iznosile su 76,2 (34,1-305) kIU_A/L. Raspon I-slgE-a bio je 0,01 - 0,53 [M (IQR) = 0,14 (0,08-0,26)]. Vrijednosti I-slgE-a bile su statistički značajno veće ($p < 0,0001$) u podskupini 1b - [M (IQR) = 0,28 (0,20-0,35)] - u odnosu na podskupinu 1a - [M (IQR) = 0,09 (0,07-0,13)].

ROC krivulja I-slgE-a prikazana je na slici 2. Granična vrijednost I-slgE-a za koju je postojala najbolja osjetljivost (87,3%) i specifičnost (88%) bila je $> 0,15$ (podskupina 1b : podskupina 1a). Osjetljivost od 87,3% podrazumijeva da je 87,3% ispitanika podskupine 1b imalo vrijednost I-slgE-a $> 0,15$. Specifičnost od 88% upućuje na to da je 88% ispitanika podskupine 1a imalo vrijednosti I-slgE-a $\leq 0,15$. Razlikovna djelotvornost bila je vrlo dobra (AUC = 0,925).



SLIKA 1. Razdioba vrijednosti ulgE-a (A), slgE-a (B) i I-slgE-a (C) u djece preosjetljive prema alergenu Amb a.

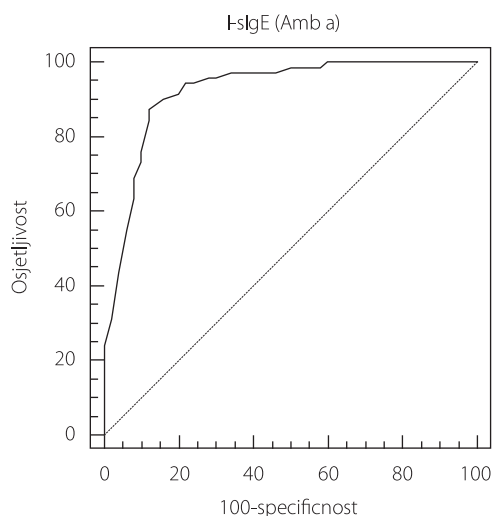
RASPRAVA

Ovo je istraživanje pokazalo da u djece sa simptomima alergijske bolesti dišnog sustava, u sezoni cvjetanja ambrozije, koncentracije IgE-a mogu biti izrazito povećane, kako koncentracija ulgE-a, tako i koncentracija slgE-a prema alergenu Amb a. Veliki broj djece (njih 42%) imalo je tako izrazito po-

TABLICA 2. Vrijednosti ukupnog IgE-a (ulgE), specifičnog IgE-a prema *Amb a* (slgE) i indeksa specifičnoga IgE-a prema *Amb a* (I-slgE). Vrijednosti za slgE prikazane su i u podskupinama 1a i 1b.

	Raspon	M (IQR)
ulgE (kIU/L) (N = 121)	41,5 - 5730,0	734,0 (320,5 - 1230,5)
slgE (kIU _A /L) (N = 121)	2,5 - 991,0	76,2 (34,1 - 305,0)
I-slgE (N = 121)	0,01 - 0,53	0,14 (0,08 - 0,26)
I-slgE, Podskupina 1a (N = 70)	0,01 - 0,30	0,09 (0,07 - 0,13)
I-slgE, Podskupina 1b * (N = 51)	0,07 - 0,53	0,28 (0,20 - 0,35)

* Podskupina 1a : Podskupina 1b, p < 0,0001



SLIKA 2. ROC krivulja - granične vrijednosti indeksa sIgE-a prema *Amb a* [I-slgE (*Amb a*)] između podskupine 1b (slgE \geq 100 kIU_A/L) i podskupine 1a (slgE < 100 kIU_A/L) i granična vrijednost I-slgE-a > 0,15; osjetljivost 87,3 %; specifičnost 88%; AUC = 0,925.

većanu koncentraciju sIgE-a prema alergenu *Amb a*. U tih je bolesnika udio sIgE-a u ukupnoj koncentraciji IgE-a bio veći od 15% (I-slgE > 0,15).

Koncentracija ulgE-a povećava se tijekom djetinjstva sve do puberteta (25). Indeks povećanja ulgE-a s dobi podjednak je i u djece bez atopije i u djece s atopijom (26), što znači da osim genetičkih i okolišnih čimbenika na sintezu IgE-a utječe i sazrijevanje djetetovog imunološkog sustava. Povećana sinteza odnosno smanjen katabolizam IgE-a u djece s alergijom perzistiraju tijekom djetinjstva (27). Povećana sinteza IgE-a u djece mlađe od godine dana upućuje na mogućnost rane pojave alergijske bolesti, ako se dijete rano izloži alergenima, a veće koncentracije ujedno upućuju i na stupanj težine bolesti (28). Rezultati ovog istraživanja pokazali su da značajan broj djece preosjetljive na alergen *Amb a* ima koncentraciju sIgE-a \geq 100 kIU_A/L. Budući da su se uzorci s tako povećanom koncentracijom sIgE-a razrjeđivali radi

dobivanja egzaktnih vrijednosti (što nije uobičajeno u svakodnevnom radu), dobili su se kvantitativni podatci koji su dosegali izrazito povećane vrijednosti (npr. 991 kIU_A/L). Cvitanović i sur. su u odraslih pokazali da je koncentracija sIgE-a prema *Amb a* bila >100 kIU_A/L, ali autori nisu određivali egzaktne vrijednosti sIgE-a (29).

Koncentracija IgE-a u serumu ovisi o stimulaciji imunološkog sustava s uzročnim alergenom te dozi i putu ulaska alergena u domaćina (30). Određivanje koncentracije ulgE-a ima dijagnostičku i prediktivnu i terapijsku vrijednost - dijagnostičku jer otkriva odnosno potvrđuje atopiju, a prediktivnu jer može upućivati na jačinu senzitivacije i rizik pojavljivanja težeg stupnja bolesti (28).

Vrijednost koncentracije sIgE-a također ima dijagnostičku, prediktivnu ali i terapijsku vrijednost. Dijagnostičko značenje sIgE-a ogleda se u otkrivanju alergena koji je potaknuo reakciju preosjetljivosti te za probir bolesnika kojima će se preporučiti alergen-specifična imunoterapija, ASIT. Prediktivna vrijednost sIgE-a može pomoći u procjeni stupnja težine bolesti i u planiranju terapije. U polisenzitiviranih bolesnika sIgE se može primijeniti u procjeni vodećeg alergena za svakog pojedinog bolesnika. Terapijsko značenje sIgE-a ogleda se u mogućnosti praćenja smanjenja koncentracije sIgE u tijeku ASIT-a.

Budući da intravaskularni IgE ima kratki poluživot (31), važno je koncentraciju sIgE-a prema sezonskim peludnim alergenima odrediti u vrijeme maksimalnih koncentracija, jer se tako može procijeniti intenzitet senzitivacije na uzročni alergen. Izvan sezone, kad je stimulacija imunološkog sustava manja, manja je i koncentracija sIgE-a na dotični alergen.

Iz indeksa koncentracije sIgE-a dobiva se podatak o udjelu sIgE-a prema *Amb a* u ukupnoj koncentraciji IgE-a. I-slgE se kao parametar ne primjenjuje u svakodnevnoj kliničkoj praksi, tako da ni u literaturi nema mnogo podataka o njegovom značenju. *Di Lorenzo i sur.* odredili su graničnu vrijednost I-slgE-a = 0,16 prema alergenu grinje iz kućne prašine *Dermatophagoides pteronyssinus*. Vrijednost indeksa primjenjivali radi praćenja uspješnosti ASIT-a, te su pokazali da se vrijednost smanjivala tijekom primjene terapije (32). Slične je rezultate pokazala i druga skupina autora (33).

Ovo je istraživanje pokazalo da određivanje egzaktnih vrijednosti sIgE-a prema alergenu *Amb a* u sezoni cvjetanja ambrozije može biti korisno za interpretaciju nalaza svakog pojedinog bolesnika. Ujedno je određivanje preciznih vrijednosti sIgE-a omogućilo određivanje indeksa specifičnog IgE-a, kao dodatnog korisnog biomarkera u dijagnostici alergijskih bolesti.

NOVČANA POTPORA/FUNDING

Nema/None

ETIČKO ODOBRENJE/ETHICAL APPROVAL

Nije potrebno/None

SUKOB INTERESA/CONFLICT OF INTEREST

Autori su popunili *the Unified Competing Interest form* na www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (dostupno na zahtjev) obrazac i izjavljuju: nemaju potporu niti jedne organizacije za objavljeni rad; nemaju financijsku potporu niti jedne organizacije koja bi mogla imati interes za objavu ovog rada u posljednje 3 godine; nemaju drugih veza ili aktivnosti koje bi mogle utjecati na objavljeni rad./All authors have completed the *Unified Competing Interest form* at www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.

LITERATURA

- von Mutius E. Gene-environment interactions in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123:3-11. doi: 10.1016/j.jaci.2008.10.046
- Dodig S. *Imunokemija*. 1. izd. Medicinska naklada: Zagreb, 2015.
- Somville MA, Machiels J, Gilles JG, Saint-Remy JM. Seasonal variation in specific IgE antibodies of grass-pollen hypersensitive patients depends on the steady state IgE concentration and is not related to clinical symptoms. *J Allergy Clin Immunol.* 1989;83:486-94. PMID: 2918188
- Rolinck-Werninghaus C, Keil T, Kopp M, et al. Specific IgE serum concentration is associated with symptom severity in children with seasonal allergic rhinitis. *Allergy.* 2008;63:1339-44. doi: 10.1111/j.1398-9995.2008.01692.x.
- Fumanal B, Chauvel B, Bretagnolle F. Estimation of pollen and seed production of common ragweed in France. *Ann Agricul Environ Med.* 2007;14:233-6. PMID 18247457
- Bohren Ch, Delabays N, Mermillod G, Keimer Ch, Kündig Ch. Common ragweed in Switzerland: Distribution and control. *Agrarforschung.* 2005;12:71-8.
- Vogl G, Smolik M, Stadler LM, et al. Modeling the spread of ragweed: Effects of habitat, climate change and diffusion. *Eur Phys J: Special Topics.* 2008;161:167-73. doi: 10.1140/epjst/e2008-00758-y
- Zanon P, Chiodini E, Berra D. Allergy to ragweed in northern Italy and prevention strategies. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2002;57:144-6. PMID 12357847
- Makra L, Juhasz M, Beszi R, Borsos E. The history and impacts of airborne Ambrosia (Asteraceae) pollen in Hungary. *Grana.* 2005;44:57-64. doi: 10.1080/00173130510010558
- Peternel R, Čulig J, Hrga I, Hercog P. Airborne ragweed (Ambrosia artemisiifolia L.) pollen concentrations in Croatia, 2002-2004. *Aerobiologia.* 2006;22:161-8. doi: 10.1007/s10453-006-9028-9
- Štefanić E, Kovačević V, Lazanin Ž. Airborne ragweed pollen concentration in North-Eastern Croatia and its relationship with meteorological parameters. *Ann Agricul Environ Med.* 2005;12:75-9.
- Špehar M, Dodig S, Hrga I, Simić D, Turkalj M, Venus M. Concentration of IgE in children during ragweed pollination. *Aerobiologia.* 2010;26:29-34. doi: 10.1007/s10453-009-9140-8
- Sehgal N, Čustović A, Woodcock A. Potential roles in rhinitis for protease and other enzymatic activities of allergens. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2005;5:221-6. PMID 15842960
- Rogers BL, Morgenstern JP, Griffith IJ, et al. Complete sequence of the allergen Amb alpha II. Recombinant expression and reactivity with T cells from ragweed allergic patients. *J Immunol.* 1991;147:2547-52. PMID 1717566
- Wopfner N, Bauer R, Thalhamer J, Ferreira F, Chapman M. Natural and recombinant Amb a 1: Analysis of IgE and monoclonal antibody epitopes. 2nd Int Symp Molecular Allergol, Rome, Italy 2007; April 22-4.
- Gadermaier G, Dedic A, Obermeyer G, Frank S, Himly M, Ferreira F. Biology of weed pollen allergens. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2004;4:391-400. PMID 15283880
- Kuo MC, Zhu XJ, Koury R, et al. Purification and immuno-chemical characterization of recombinant and native ragweed allergen Amb a II. *Mol Immunol.* 1993;30:1077-87. PMID 8366858
- Vinhas R, Cortes L, Cardoso I, et al. Pollen proteases compromise the airway epithelial barrier through degradation of transmembrane adhesion proteins and lung bioactive peptides. *Allergy.* 2011;66:1088-98.
- Runswick S, Mitchell T, Davies P, Robinson C, Garrod DR. Pollen proteolytic enzymes degrade tight junctions. *Respirology.* 2007;12:834-42.
- World Medical Association Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/>, dostupno 12. 9. 2015.
- Johansson SGO ed. *Clinical Workshop. IgE antibodies and Pharmacia CAP System in Allergy diagnosis*. 1st ed. Lidköping: Landstroms, 1988.
- Axen R, Drevin H, Kober A, Yman L. A new laboratory diagnostic system applied to allergy testing. In: Johansson SGO, ed. 1st ed. *Proceedings of a Clinical Workshop "IgE Antibodies and the Pharmacia CAP Systems in Allergy Diagnosis"*. Uppsala, Sweden: Pharmacia Publication 1988.
- Marusteri M, Bacarea V. Comparing groups for statistical differences: How to choose the right statistical test? *Biochem Med.* 2010;20:15-32.
- MedCalc Download, pristupljeno 15. 12. 2010. www.medcalc.be/download.php.
- Lindberg RE, Arroyave C. Levels of IgE in serum from normal children and allergic children as measured by an enzyme immunoassay. *J Allergy Clin Immunol.* 1986;78:614-8.
- Dodig S, Richter D, Benko B, et al. Cut-off values of total serum IgE between nonatopic and atopic children in North-West Croatia. *Clin Chem Lab Med.* 2006;44:639-47. doi: 10.1515/CCLM.2006.092
- Zimmerman B, Flannig S, Reisman J. Allergy in asthma. I. The dose relationship of allergy to severity of childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 1989;81:63-70.
- Wever-Hess J, Kouwenberg JM, Duiverman EJ, Hermans J, Wever AM. Risk factors for exacerbations and hospital admissions in asthma of early childhood. *Pediatr Pulmonol.* 2000;29:250-6.
- Cvitanić S, Znaor Lj, Kanceljak-Macan B, Macan J, Gudelj I, Grbić D. Allergic rhinitis and asthma in southern Croatia: Impact of sensitization to Ambrosia elatior. *Croat Med J.* 2007;48:68-75.
- Nelde A, Teufel M, Hahn C, et al. The impact of the route and frequency of antigen exposure on the IgE response in allergy. *Int Arch Allergy Immunol.* 2001;124:461-9.
- Platts-Mills TAE. The role of immunoglobulin E in allergy and asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164:1-5. doi: 10.1164/ajrccm.164.supplement.1.2103024
- Di Lorenzo G, Mansueto P, Pacor ML, et al. Evaluation of serum s-IgE/total IgE ratio in predicting clinical response to allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123:1103-10. doi: 10.1016/j.jaci.2009.02.012.
- Karakoc GB, Yilmaz M, Altıntaş DU, Güneşer Kendirli S. Can serum-specific IgE/total IgE ratio predict clinical response to allergen-specific immunotherapy in children monosensitized to house dust mite? Hindawi Publishing Corporation. *J Allergy.* 2012;2012: 694094. doi:10.1155/2012/694094
- Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. *Clin Exp Allergy.* 2010;40:1442-60. doi: 10.1111/j.1365-2222.2010.03585.x

SUMMARY

Determination of markedly elevated concentrations of specific IgE and index of specific IgE to *Ambrosia artemisifolia* allergen

S. Dodig, G. Petković, B. Kristić Kirin

Aim: to investigate the serum concentrations of total IgE (tIgE), specific IgE to birch allergen Bet v, and index of specific IgE (I-sIgE) in children with sensitivity to ragweed allergen Amb a, during ragweed pollen season. *Methods:* Children with asthma and/or rhinitis (N=121) sensitive to ragweed allergen Amb a. Concentrations of serum tIgE and sIgE to Amb a were determined by the use of standardized UniCAP-fluoroimmunoassay method. Also, I-sIgE was calculated. Subjects were grouped in two subgroups: Subgroup 1a: (N = 70), children with sIgE to Amb a < 100 kIU_A/L; Subgroup 1b (N = 51), children with sIgE to Amb a ≥ 100 kIU_A/L. ROC-curve was used to define cut-off value for I-sIgE for these subgroups. *Results:* Concentration of tIgE ranged between 41.5 to 5730 kIU/L, and concentration of sIgE between 2.5 - 991 kIU_A/L. I-sIgE ranged between 0.01 - 0.53 [M (IQR) = 0.14 (0.08-0.26)]. Values of I-sIgE were statistically higher ($p < 0,0001$) in Subgroup 1b - [M (IQR) = 0.28 (0.20-0.35)], than in Subgroup 1a - [M (IQR) = 0.09 (0.07-0,13)]. Cut-off value for I-sIgE-a between Subgroups 1b and 1a was >0.15 (sensitivity 87.3 %; specificity 88%). *Conclusions:* I-sIgE to allergen Amb a may be used as useful additional biomarker of the degree of sensitization of patients.

Keywords: allergy and immunology; ambrosia; serum; receptors, IgE