

Sezonske varijacije koncentracije specifičnog IgE-a prema alergenu *Betula verrucosa*, Bet v

Slavica Dodig¹, Giorgie Petković², Branka Kristić Kirin²

Cilj je ispitati sezonske razlike u koncentraciji ukupnog IgE-a (ulgE-a), specifičnog IgE-a (slgE) prema alergenu breze, Betula verrucosa - Bet v, te indeks slgE-a (I-slgE) u djece preosjetljive na alergen breze, Bet v. Ispitana su djeca s astmom i/ili rinitisom (N=19), preosjetljiva na alergen Bet v. Standardiziranom fluoroimunokemijskom metodom UniCAP određena je koncentracija ulgE-a, slgE-a prema Bet v, te izračunat I-slgE. Odabrani biomarkeri određivani su u sezoni peludacije breze (od ožujka do lipnja) i izvan nje (tijekom listopada). Koncentracija slgE-a prema alergenu Bet v u sezoni peludacije breze iznosila je [M(IQR) = 33,9 (7,2-130,3) kIU_λ/L], a izvan nje [M(IQR) = 5 (2,3-32,7) kIU_λ/L], sa statistički značajnom razlikom, p = 0,005. Vrijednosti ulgE-a i I-slgE-a nisu se statistički značajno razlikovale. U sezoni peludacije breze najveću koncentraciju ulgE-a (1378 kIU/L) i slgE-a (942 kIU_λ/L) imao je bolesnik s dijagnozom astme i rinitisa, ujedno preosjetljiv i na alergene trava, ambrozije i lijeske; I-slgE bio je 0,68. Izvan sezone peludacije ulgE je iznosio 146 kIU/L, slgE prema Bet v 46 kIU_λ/L, a I-slgE 0,31. Za precizniju interpretaciju nalaza ulgE-a te slgE-a i I-slgE-a prema Bet v krv za analizu treba uzorkovati u sezoni peludacije.

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

UVOD

Peludna alergija, uzrokovana peosjetljivošću na alergene alergenskih biljaka - trava, stabala i korova, očituje se u vrijeme njihove peludacije. Peludni kalendar sadrži podatke o sezoni cvatnje biljaka i o kritičnom broju peludnih zrnaca koji u osoba s preosjetljivošću uzrokuju pojavu simptoma alergijske bolesti. U Republici Hrvatskoj najveća peludacija breze odvija se od veljače do svibnja (1). Broj peludnih zrnaca u zraku izravno utječe na jačinu simptoma alergijskih bolesti dišnog sustava.

Pelud breze sadrži tridesetak alergena, a za mnoge od njih definirana je struktura i određene su biokemijske značajke (2, 3). Alergen Bet v1, protein od 17 kDa pripada skupini PR-10 proteina (4, 5), Bet v2 je profilin molekularne mase 15 kDa (6), Bet v3 (24 kDa) i Bet v4 (9 kDa) proteini su koji vežu kalcij (7, 8), Bet v5 (35 kDa) protein je sličan izoflavon reduktazi (9), itd. Bet v1 je izrazito heterogena molekula i pojavljuje se u 20 izoformi (Bet v1a-Bet v1n). Te se izoforme razlikuju prema kapacitetu vezanja. Bet v1 je najvažniji alergen, jer 95% osoba preosjetljivih na alergene breze ima pozitivan

kožni test i povećanu koncentraciju slgE-a baš na taj alergen (9). Bet v 2 kod 10-38% preosjetljivih osoba u središnjoj Europi može izazvati alergijsku reakciju, a Bet v3 kod 10% (9).

Pri ulasku u dišne putove alergeni djeluju na adhezijske proteine (npr. okcludin, klaudin-1 i E-kadherin) tako da povećavaju njihovu propusnost (10). Pritom različiti alergeni na različite načine utječu na propusnost bronhalnog epitela (11).

U atopičara je sinteza IgE-a povećana (12), a istodobno je usporen njegov katabolizam na 4,3 dana (usp. kod neato- pičara 1,8 dana) (13). Kada dendritične stanice preoblikuju alergene i predstave ih pomagačkim limfocitima T, imunološki odgovor se usmjerava prema subpopulaciji pomagač-

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: 27. 10. 2015.

kih limfocita Th2. Th2-limfociti svojim citokinima aktiviraju limfocite B da sintetiziraju IgE protutijela (14, 15).

Ovo istraživanje je retrospektivna analiza podataka iz medicinske, odnosno laboratorijske dokumentacije. Istraživanje je imalo za cilj ispitati sezonske razlike u koncentraciji ukupnoga IgE-a (ulgE), specifičnog IgE-a (slgE) prema alergenu Bet v, te udio slgE-a u ukupnoj koncentraciji IgE-a, koji je izražen kao indeks koncentracije slgE-a (I-slgE).

ISPITANICI I METODE

Ispitanici

U ovom su radu obrađena djeca koja su iz primarne zdravstvene zaštite s područja Zagrebačke županije i Grada Zagreba bila upućena na alergološku obradu radi utvrđivanja etiologije respiratornih simptoma, u razdoblju od početka ožujka 2012. do kraja rujna 2015. godine. U tom je razdoblju laboratorijska alergološka obrada obavljena kod 13 330-ero djece. Nakon kliničkog pregleda provedena je alergološka odnosno pulmološka obrada. Primijenjen je standardizirani dijagnostički postupak, koji je u skladu s etičkim načelima i Deklaracijom o ljudskim pravima iz Helsinkija 2013. i posebnim načelima za dječju dob dokumenta iz Seula 2008. godine (16).

Dijagnostičkim postupcima *in vivo* (klinički nalaz, spirometrija, ventolinski test, kožni ubodni testovi) i *in vitro* (npr. određivanje koncentracije ulgE-a, s-IgE) postavljena je dijagnoza alergijske bolesti, astme odnosno rinitisa. Odabrana su djeca (N = 19) kod koje je dokazana preosjetljivost na alergen stabla breze, *Betula verrucosa*, Bet v. Sva su djeca imala polisenzibilizaciju na inhalacijske (npr. na alergene peluda, alergene grinja iz kućne prašine, epitela životinja, plijesni), odnosno nutritivne alergene. Kriteriji uključivanja djece bili su: 1. Pozitivna anamneza glede atopije, 2. Klinička dijagnoza alergijske bolesti te dokaz alergijske preosjetljivosti metodama *in vivo* i *in vitro* i 3. Krv je uzorkovana dva puta - u sezoni peludacije stabla breze (od ožujka do lipnja), odnosno izvan nje (tijekom listopada). Kriteriji neuključivanja bili su: 1. Virusna ili bakterijska infekcija, vitalno ugroženo dijete i 2. Vrijednosti C-reaktivnog proteina > 2,8 mg/L. Prema tim kriterijima nije bilo uključeno 120-ero djece.

Metode

Koncentracija ulgE-a i slgE-a određivana je standardiziranim fluoroimunokemijskom metodom UniCAP (proizvođač opreme i reagensa, Thermo Fischer, Uppsala, Švedska). Metoda je standardizirana prema sekundarnom standardu Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) 75/502 (17, 18). Analize su provedene na selektivnom poluautomatskom analizatoru UniCAP 100. Raspon pouzdanosti za ulgE iznosi

od 1 do 5000 kIU/L, a za slgE od 0,10 kU_A/L do 100 kU_A/L. Iz omjera slgE-a i ulgE-a izračunat je I-slgE prema Bet v. Numerički podatci bili su pohranjeni u programu *Excel 2000* programskog paketa *Microsoft Office* (Microsoft, SAD). Za opis kvalitativnih varijabli primijenjene su tablice razdiobe podataka. Kvantitativne varijable s normalnom raspodjelom (dob ispitanika) opisane su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom ($\bar{x} \pm SD$). Varijable s asimetričnom raspodjelom (raspodjela koja ne slijedi normalnu razdiobu) opisane su rasponom vrijednosti, medijanom te interkvartilnim rasponom [M (IQR)]. Brojčani podatci s normalnom raspodjelom uspoređivani su t-Studentovim testom, a podatci s asimetričnom raspodjelom s Mann-Whitneyjevim testom. Koeficijent korelacije izražen je kao r (odnosno *rank rho*). Vrijednosti $p < 0,05$ smatrane su statistički značajnima (19). Statistička obrada obavljena je u programu *MedCalc* (Medi-software, Mariakerke, Belgium) (20).

REZULTATI

Iz podataka na Tablici 1 može se vidjeti da su djeca preosjetljiv na alergen Bet v (N=19) bila u dobi od 6-14 godina ($\bar{x} \pm SD = 9 \pm 3$ godine; medijan 9 godina). Među djecom bilo je manje dječaka (7/19 = 37%) nego djevojčica (12/19 = 63%). Kod većine djece potvrđena je dijagnoza i astme i rinitisa (12/19=63%), troje ih je imalo samo astmu (3/19=16%), a četvero samo rinitis (4/19=21%).

U većine bolesnika utvrđena je senzitivacija i na alergen ambrozije – limundžike (w1); samo kod četvero ispitanika (bolesnici 11, 12, 15, 17) nije postojala povećana koncentracija slgE-a prema alergenu ambrozije Amb a. Devetero ispitanika (bolesnici 1, 3, 4, 6, 7, 9, 12, 15, 19) imalo je povećanu koncentraciju na alergen grinje *Dermatophagoides pteronyssinus*, Der p (d1). Na alergene hrane bilo je preosjetljivo troje djece (bolesnici 1, 2, 13). U dvoje djece (bolesnici 12 i 13) dokazana je preosjetljivost na plijesan *Alternaria alternata* (m6).

U sezoni peludacije najveću koncentraciju ulgE-a (1378 kIU/L), slgE-a (942 kIU_A/L) i I-slgE-a (0,68) imao je bolesnik br. 16. Izvan sezone peludacije vrijednost ulgE-a (146 kIU/L) i slgE-a (45,6 kIU_A/L) smanjila se gotovo desetorostruko, a I-slgE-a na polovicu prvotne vrijednosti. Taj je bolesnik imao i senzitivaciju na alergen lijeske (t4) i ambrozije (w1). Najmanju koncentraciju slgE-a odnosno najmanju vrijednost I-slgE-a imao je bolesnik koji je, osim na Bet v bio preosjetljiv i na lijesku, ambroziju te grinju iz kućne prašine (bolesnik br. 7).

Izvan sezone peludacije najveću koncentraciju ulgE-a (912 kIU/L) imao je bolesnik br. 17. Ta je koncentracija bila neznatno manja nego u sezoni peludacije (942 kIU/L). Udio slgE-a prema ukupnoj vrijednosti IgE-a bio je u oba mjerenja ma-

TABLICA 1. Pojedinačni rezultati u 19-ero bolesnika preosjetljivih na alergen *Bet v*, ispitivanih u sezoni peludacije breze i izvan nje

Bolesnik	Spol	Dob	Dijagnoza	Sezona			Izvan sezone			ostali alergeni
				ulgE	slgE (t3)	I-slgE	ulgE	slgE (t3)	I-slgE	
1	Z	6	A, R	536	184	0,34	170,4	2,91	0,02	g3, w1, t4, d1, f1, f2, f4, f14, f79
2	M	6	A, R	621	81,9	0,13	581,8	19,3	0,03	g3, w1, t4, e1, f1, f2, f4, f79
3	Z	14	R	73,8	13,5	0,18	47,2	2,77	0,06	t3, t4, w1, d1, e1
4	Z	8	R	954	411	0,43	153	49,7	0,32	w1, t4, d1
5	M	11	A	200	24,4	0,12	682,2	5,93	0,09	w1, t4, e1
6	M	7	A, R	73,7	5,27	0,07	144	0,92	0,01	g3, w1, t4, d1, e1, e5
7	M	11	A, R	1110	3,46	0,003	763,8	3,46	0,01	w1, t4, d1,
8	Z	12	A, R	552	173	0,31	105,8	42,4	0,4	g3, w1, t4, e5
9	Z	7	R	139	33,9	0,24	72,6	37,2	0,51	g3, w1, t4, d1
10	Z	8	R	145	10,1	0,07	101	1,57	0,02	g3, w1, t4
11	Z	12	A, R	257	128	0,5	317	108	0,34	t4
12	M	9	A	119	3,39	0,03	120,2	0,89	0,01	d1, m6
13	Z	6	A	300	131	0,44	250	13,6	0,05	w1, t4, m6, f13, f17, f20
14	Z	9	A, R	740	5,3	0,01	159	0,98	0,01	g3, w1, t4
15	M	12	A, R	58,2	6,27	0,11	74	2,29	0,03	t4, d1
16	M	8	A, R	1378	942	0,68	146	45,6	0,31	g3, w1, t4
17	Z	14	A, R	127	80,9	0,64	25,6	2,37	0,09	t4
18	Z	9	A, R	125	48,5	0,39	51,8	14,2	0,27	g3, w1, t4
19	Z	10	A, R	942	13,8	0,02	912,4	5,02	0,01	g3, w1, w6, t4, d1, e1, e5, f13

ulgE - ukupni IgE; slgE (t3) - specifični IgE prema alergenu *Bet v*; I-slgE (t3) - Indeks slgE-a prema alergenu *Bet v*; w1 - *Ambrosia a*, w6 - *Artemisia v*, t3 - *Betula v*, t4 - *Corylus a*, g3 - *Dactylis g*, d1 - *Dermatophagoides p*, e1 - epitel mačke, e5 - epitel psa, m6 - *Alternaria a*, f1 - bjelanjak jajeta, f2 - mlijeko, f4 - pšenično brašno, f13 - kikiriki, f14- soja, f17 - lješnjak, f20 - badem, f79 - gluten

TABLICA 2. Rezultati određivanja ulgE-a, slgE-a prema *Bet v*, te indeks slgE-a prema alergenu *Bet v*. Prikazani su rezultati u sezoni peludacije breze i izvan sezone peludacije breze

	ulgE u sezoni	slgE (t3) u sezoni	I-slgE (t3) u sezoni	ulgE izvan sezone	slgE (t3) izvan sezone	I-slgE (t3) izvan sezone
raspon	58,2 - 1378	3,4-942,0	0,003-0,68	25,6 - 912,4	0,89-108,0	0,01-0,51
M	257	33,9	0,18	146	5,0	0,05
(IQR)	(125,5-710,3)	(7,2-130,3)	(0,07-0,42)	(80,8-300,3)	(2,3-32,7)	(0,01-0,30)

ulgE - ukupni IgE; slgE (t3) - specifični IgE prema alergenu *Bet v*; I-slgE (t3) - Indeks slgE-a prema alergenu *Bet v*; ulgE p>0,05; spec. IgE p=0,005; Indeks p>0,05

len (0,02 u sezoni, 0,01 izvan nje). Riječ je o bolesniku koji je imao potvrđenu preosjetljivost ne samo na sezonske alergene nego i na cjelogodišnje alergene – alergene grinja (d1), epitela mačke (e1) i psa (e5) te na alergene kikirikija (f13). Najmanju vrijednost slgE-a izvan sezone peludacije imao je bolesnik br. 12, s dokazanom preosjetljivošću na alergene grinje (d1) i plijesni (m6).

Posebnu pozornost zavrjeđuju nalazi kod bolesnika 8 i 9, jer je kod njih vrijednost I-slgE-a na *Bet v* izvan sezone peludacije (0,40 odnosno 0,51) bila veća nego u sezoni (0,31; odnosno 0,24). Osim toga, kod bolesnika br. 8 koncentracija slgE-a prema *Bet v* bila je izvan sezone peludacije breze veća nego u sezoni peludacije. U tog je bolesnika I-slgE bio

dvostruko veći izvan sezone peludacije nego u sezoni peludacije.

Koncentracija ulgE-a (Tablica 2) u sezoni peludacije iznosila je [M(IQR) = 257 (125,5-710,3) kIU/L], a koncentracija slgE-a [M(IQR) = 33,9(7,2-130,3) kIU_A/L]. Izvan sezone peludacije ulgE nije bio statistički značajno različit od vrijednosti u sezoni cvatnje: [M(IQR) = 146 (80,8-300,3) kIU/L], p>0,05. Za razliku od ulgE-a koncentracije slgE-a bile su statistički značajno veće u sezoni izloženosti alergenu *Bet v*, nego izvan sezone, [M(IQR) = 5 (2,3-32,7) kIU_A/L], p = 0,005. I-slgE nije se statistički značajno razlikovao (p>0,05) između ispitivanih skupina; u sezoni I-slgE je bio [M (IQR) = 0,18 (0,07-0,42)], a izvan sezone je bio [M(IQR) = 0,05(0,01-0, 0,30)]. Korela-

cija l-slgE-a : slgE-a pokazala je vrlo dobru do izvrsnu povezanost i u sezoni peludacije ($r = 0,849$, $p < 0,001$) i izvan nje ($r = 0,789$, $p > 0,001$).

RASPRAVA

Ovo je istraživanje pokazalo da koncentracija slgE-a ovisi o izloženosti peludnim zrcima u tijeku sezone peludacije breze, što se odrazilo i na vrijednosti l-slgE-a. Budući da je značajan broj bolesnika istodobno imao preosjetljivost i na druge - sezonske i cjelogodišnje alergene, promjene u koncentraciji ulgE-a nisu postojale. Udio slgE-a u ukupnoj koncentraciji IgE-a nije pokazao statističku značajnost, iako pojedinačna vrijednost za svakog bolesnika može biti korisna za procjenu stupnja senzitivizacije i otkrivanje vodećeg uzročnog alergena.

U osoba s alergijom gornji i donji dišni putovi ne smiju se promatrati odvojeno iz barem dvaju razloga: jer postoji jedinstvena građa stanica gornjeg i donjeg dišnog sustava i jer je patomehanizam alergije jedinstven i za rinitis i za astmu (21, 22). Stoga se danas govori o jedinstvenom dišnom putu. Većina bolesnika u ovom radu imala je udružene astmu i rinitis, što je sukladno podatcima iz literature, prema kojima gotovo 2/3 astmatičara ima simptome alergijskog rinitisa (23). Budući da je alergijska upala kod bolesnika s rinitisom prisutna i u donjim dišnim putovima (24), alergijski rinitis i astma mogu se smatrati jedinstvenom bolešću koja se očituje u oba dijela respiratornog sustava (25).

Dok se određivanje ulgE-a primjenjuje radi probira bolesnika s atopijom, određivanje slgE-a prema alergenima ima za cilj otkriti preosjetljivost na pojedinačne alergene. Vrijednost slgE-a ovisi o izloženosti uzročnom alergenu (26, 27), što se osobito ogleda kod preosjetljivosti na alergene peludi. Ispitanici opisani u ovom radu imali su u sezoni peludacije breze značajno veće vrijednosti slgE-a prema Bet v nego izvan sezone peludacije. Ta činjenica upozorava na nekoliko problema koji se mogu pojaviti u svakodnevnoj praksi ako se rezultati promatraju izvan sezone peludacije: 1. pouzdanost interpretacije manjih koncentracija slgE-a, odnosno mogućnost lažno negativnog nalaza, osobito ako nema podatka o kožnom ubodnom testu; 2. sukladnost kožnih ubodnih testova i koncentracije slgE-a; 3. ako se praćenje koncentracije slgE-a provodi radi praćenja uspješnosti terapije, osobito alergen-specifične imunoterapije (ASIT), radi ispravne interpretacije nalaza slgE-a potrebno je krv uzorkovati u sezoni peludacije (za proljetne biljke u sezoni proljeće-ljeto; za korove u sezoni ljeto-jesen).

Kliničko značenje određivanje l-slgE-a još se ispituje. Prema dosadašnjim istraživanjima mogao bi pomoći u praćenju ASIT-a (28, 29). Iako u našem istraživanju nije bilo statistički značajne razlike između vrijednosti l-slgE-a ovisno o sezoni

ispitivanja, pojedinačne vrijednosti mogu dati koristan dodatni podatak, što je vidljivo u bolesnika kod kojih su vrijednosti l-slgE-a prema Bet v bile veće nakon sezone peludacije. Nalazi kod ta dva bolesnika otvaraju pitanje križne reaktivnosti alergena Bet v s drugim alergenima, što se može provjeriti određivanjem pojedinih alergenskih komponenti (30). Poznato je da Bet v1 pokazuju križnu reaktivnost s drugim alergenima peludi stabala (npr. lijeske, Cor a1, brijesta, Aln g1), alergenima hrane (kikirikija, Ara h8, lješnjaka, jabuke, kivija, soje, celera) (4, 31-37).

U zaključku se može reći kako je ovo istraživanje pokazalo da je za interpretaciju nalaza ulgE-a te slgE-a i l-slgE-a prema Bet v nužno imati u vidu sezonu uzorkovanja krvi za analizu, kao preduvjet za preciznije dijagnostičko i prognostičko vrijednovanje odabranih biomarkera.

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

- Peternel R, Musić Milanović SM, Hrga I, Mileta T, Čulig J. Incidence of Betulaceae pollen and pollinosis in Zagreb, Croatia, 2002–2005. *Ann Agric Environ Med.* 2007;14:87–91.
- Wiebicke K, Schlenvoigt G, Jager L. Allergologic-immunochemical study of various tree pollens. I. Characterization of antigen and allergen components in birch, beech, alder, hazel and oak pollens. *Allerg Immunol (Leipz).* 1987;33:181-90.
- Florvaag E, Holen E, Vik H, Elsayed S. Comparative studies on tree pollen allergens. XIV. Characterization of the birch (*Betula verrucosa*) and hazel (*Corylus avellana*) pollen extracts by horizontal 2-D SDS-PAGE combined with electrophoretic transfer and IgE immunoautoradiography. *Ann Allergy.* 1988;61:392-400.
- Swoboda I, Twaroch T, Valenta R, Grote M. Tree pollen allergens. *Clin Allergy Immunol.* 2008;21:87-105.
- Seutter von Loetzen C, Hoffmann T, Hartl MJ, et al. Secret of the major birch pollen allergen Bet v 1: identification of the physiological ligand. *Biochem J.* 2014;457:379-90. doi: 10.1042/BJ20130413.
- Valenta R, Duchêne M, Pettenburger K, et al. Identification of profilin as a novel pollen allergen; IgE autoreactivity in sensitised individuals. *Science.* 1991;253:557-60.
- Tinghino R, Twardosz A, Barletta B, et al. Molecular, structural, and immunologic relationships between different families of recombinant calcium-binding pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;109:314-20.

8. Ferreira F, Engel E, Briza P, Richter K, Ebner C, Breitenbach M. Characterization of recombinant Bet v 4, a birch pollen allergen with two EF-hand calcium-binding domains. *Int Arch Allergy Immunol.* 1999;118:304-5. doi:10.1159/000024110
9. Karamloo F, Schmitz N, Scheurer S, et al. Molecular cloning and characterization of a birch pollen minor allergen, Bet v 5, belonging to a family of isoflavone reductase-related proteins. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;104:991-9. doi: org/10.1016/S0091-6749(99)70080-1
10. 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. doi: 10.1111/j.1398-9995.2011.02598.x
11. Blume C, Swinde EJ, Gilles S, Traidl-Hoffmann C, Davies DE. Low molecular weight components of pollen alter bronchial epithelial barrier functions. *Tissue Barriers.* 2015;3:e1062316. doi: 10.1080/15476286.2015.1062316.
12. von Mutius E. Gene-environment interactions in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123:3-11. doi: 10.1016/j.jaci.2008.10.046
13. Dodig S. *Imunokemija.* 1. izd. Medicinska naklada Zagreb, 2015.
14. El Biaze M, Boniface S, Koscher V. T cell activation from atopy to asthma: more a paradox than a paradigm. *Allergy.* 2003;58:844-53.
15. Larche M, Robinson DS, Kay AB, The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111:450-63.
16. 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.
17. Johansson SGO ed. *Clinical Workshop. IgE antibodies and Pharmacia CAP System in Allergy diagnosis.* Lidkoping: Landstroms, 1988.
18. Axen R, Drevin H, Kober A, Yman L. A new laboratory diagnostic system applied to allergy testing. In: Johansson SGO, ed. *Proceedings of a Clinical Workshop "IgE Antibodies and the Pharmacia CAP Systems in allergy Diagnosis"*. 1st ed. Uppsala, Sweden: Pharmacia Publication 1988.
19. Marusteri M, Bacarea V. Comparing groups for statistical differences: How to choose the right statistical test? *Biochem Med.* 2010;20:15-32.
20. MedCalc Download, pristupljeno 15. 12. 2010. www.medcalc.be/download.php.
21. Togias A. Rhinitis and asthma: evidence for respiratory system integration. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111:1171-83.
22. Bourdin A, Gras D, Vachier I, Chanez P. Upper airway x 1: allergic rhinitis and asthma: united disease through epithelial cells. *Thorax.* 2009;64:999-1004. doi:10.1136/thx.2008.112862
23. Smith JM. Epidemiology and natural history of asthma, allergic rhinitis and atopic dermatitis (eczema). In: Middleton E. Jr, Reed CE, Ellis EF, eds. *Allergy: Principles and practice.* 2nd ed. St. Louis: Mosby 1983;771-803.
24. Marple BF. Allergic rhinitis and inflammatory airway disease: interactions within the unified airspace. *Am J Rhinol Allergy.* 2010;24:249-54. doi: 10.2500/ajra.2010.24.3499
25. Casale TB, Dykewicz MS. Clinical implications of the allergic rhinitis-asthma link. *Am J Med Sci.* 2004;327:127-38.
26. Ahlstedt S. Understanding the usefulness of specific IgE tests in allergy. *Clin Exp Allergy.* 2002;32:11-6.
27. 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
28. 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
29. 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
30. Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. *Clin Exp Allergy.* 2010;40:1442-60. doi: 10.1111/j.1365-2222.2010.03585.x
31. Movérare R, Westritschnig K, Svensson M, et al. Different IgE reactivity profiles in birch pollen-sensitive patients from six European populations revealed by recombinant allergens: an imprint of local sensitization. *Int Arch Allergy Immunol.* 2002;128:325-35.
32. Mothes N, Valenta R. Biology of tree pollen allergens. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2004;4:384-90.
33. Bohle B. The impact of pollen-related food allergens on pollen allergy. *Allergy.* 2007;62:3-10.
34. Voskresensky Baričić T, Dodig S. Birch pollen-associated peanut allergies in children. *Aerobiologia.* 2013;29:85-93.
35. Voskresensky Baričić T, Dodig S. Genuine and cross-reactive peanut components in birch-sensitive preschool children. *LabMedicine.* 2013;44:210-4. doi:10.1309/LMNC5CXG4ZV2ZIVT
36. Martínez A, Asturias JA, Monteseirín J, et al. The allergenic relevance of profilin (Ole e 2) from *Olea europaea* pollen. *Allergy.* 2002;57 (Suppl 71):17-23.
37. Valenta R, Hayek B, Seiberler S, et al. Calcium-binding allergens: from plants to man. *Int Arch Allergy Immunol.* 1998;117:160-6.

SUMMARY

Seasonal variations of specific IgE concentrations to *Betula verrucosa* allergen, *Bet v*

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

Aim: to investigate seasonal differences in concentrations of total IgE (tIgE), specific IgE to birch allergen *Bet v*, and index of specific IgE (I-sIgE) in children with hypersensitivity to birch allergen *Bet v*.

Methods: Children with asthma and/or rhinitis (N=19) sensitive to birch allergen *Bet v*. Concentrations of tIgE and sIgE to *Bet v* were determined by the use of standardized UniCAP-fluoroimmunoassay method. Also, I-sIgE was calculated. Selected biomarkers were determined during the birch pollen season (from March to June) and out of season (during October).

Results: During the birch pollen season, concentration of sIgE to *Bet v* was [M(IQR) = 33.9(7.2-130.3) kIU_A/L], and out of season [M(IQR) = 5 (2.3-32.7) kIU_A/L], $p = 0.005$. At the same time neither tIgE nor I-sIgE were statistically different. During the pollen season, the largest concentrations of tIgE (1378 kIU/L) and sIgE (942 kIU_A/L) was found in the child with asthma and rhinitis, also sensitive to grass, ragweed and hazel allergens. I-sIgE was 0.68. Out of season uIgE was 146 kIU/L, sIgE to *Bet v* 46 kIU_A/L, and I-sIgE 0.31.

Conclusions: For precise interpretation of tIgE, sIgE to *Bet v* and I-sIgE blood samples should be taken during the pollen season.

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