

La diagnosi di allergia a Bet v 1 e ai suoi omologhi

a cura della Commissione Diagnostica Allergologica della SIAIP

Giovanni Cosimo Indirli¹, Riccardo Asero², Mauro Calvani³ (coordinatore), Stefania La Grutta^{4,5}, Neri Pucci⁵



Parole chiave: Bet v 1, cross-reattività, sindrome orale allergica

Abstract

Bet v 1, l'allergene maggiore del polline della betulla, e i suoi omologhi, presenti in altri pollini e alimenti vegetali, fanno parte della famiglia delle Pathogenesis-Related Proteins 10 (PR-10), proteine difensive prodotte in risposta a stimoli infettivi e antibiotici (ormonali, traumatici e climatici). Gli omologhi di Bet v 1 sono l'allergene maggiore dei pollini delle *Fagales* e inducono sintomi respiratori nel periodo invernale primaverile (rinocongiuntivite e/o asma). Altamente cross-reattivi, possono indurre sintomi prolungati per la coesistenza di specie a diverso periodo di pollinazione nella medesima regione, e causare sintomi anche dove la betulla non è presente.

Gli omologhi di Bet v 1 sono presenti anche in diversi alimenti vegetali e possono frequentemente indurre sintomi da ingestione, lievi nella grande maggioranza dei casi (Sindrome Orale Allergica), a causa della scarsa resistenza di queste molecole al calore e alla digestione peptica. Il grado di cross-reattività tra le diverse PR-10 e Bet v 1 dipende fondamentalmente dall'omologia di sequenza primaria aminoacidica ed è maggiore per alcuni alimenti appartenenti alla famiglia delle *Rosaceae* (mela, pera ecc.) e per la nocciola e minore per altri, come le *Apiaceae* (sedano, carota).

La diagnosi può essere sospettata, in presenza di un quadro clinico suggestivo, riscontrando una positività degli SPT per la betulla e per alcuni vegetali e contemporanea negatività per la profilina. La diagnosi di certezza si fonda sulla ricerca delle IgE specifiche per le singole molecole (ove disponibili) mediante CAP system e ISAC microarray.

Struttura, diffusione in natura ed epidemiologia

Bet v 1 è l'allergene maggiore, tra i 7 conosciuti, del polline della betulla. La pianta appartiene alla classe *magnoliopsida* (dicotiledoni), all'ordine *fagales*, alla specie *betula verrucosa*; Bet v 1 è responsabile di oltre il 95% della reattività IgE-specifica nei pazienti aller-

gici al polline di betulla¹. Ha un peso molecolare di 17 kD e fa parte, con i suoi omologhi presenti in altri pollini ed alimenti vegetali, della famiglia delle Pathogenesis-Related proteins 10 (PR10) o Bet v 1 - Related Proteins². Queste proteine furono scoperte all'inizio degli anni '70 e la loro produzione fu attribuita ad un meccanismo di difesa messo in atto dai vegetali in

¹ U.O.S. di Allergologia Pediatrica, Ospedale di Copertino (LE), ASL/LE; ² Ambulatorio di Allergologia, Clinica San Carlo, Paderno Dugnano (MI); ³ UOC di Pediatria e Ematologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera S. Camillo Forlanini, Roma; ⁴ U.O.S. Ambiente e Salute-ARPA Sicilia, IBIM CNR, Palermo; ⁵ SOD di Immunoallergologia, AOU "A. Meyer", Firenze

gindirli@libero.it

Gli Autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interesse rispetto agli argomenti trattati nell'articolo.

seguito allo stimolo da parte di agenti infettivi virali, fungini o batterici; successivamente è stato dimostrato che anche stress abiotici (ormonali, traumatici o climatici) sono in grado di stimolarne la sintesi. Negli anni '80 è stato coniato il termine "pathogenesis-related proteins" (PRs) ad indicare proteine codificate, ma indotte da situazioni patologiche o "correlate", termine quest'ultimo che indica una origine da stimoli abiotici³. Le PRs costituiscono una serie di 14 famiglie, non correlate tra loro, e comprendenti molti allergeni ubiquitari presenti nel regno vegetale.

Le proteine appartenenti alle Bet v 1 sono polipeptidi di 154-160 aminoacidi ampiamente diffuse nel mondo vegetale, ciascuno codificato da numerosi geni (es. almeno 18 geni per Mal d 1)⁴.

La struttura tridimensionale di Bet v 1 e degli omologhi correlati (Fig. 1) è costituita da 7 catene nastriformi antiparallele che si incurvano intorno ad un'elica C-terminale, dove si evidenzia un sito di ripiegamento idrofobico assai simile tra gli allergeni e che ne determina l'elevata cross-reattività nonostante la non sempre alta omologia della sequenza primaria⁵. L'analisi strutturale rivela che questa piega costituisce una struttura cavitaria che attraversa la proteina e che ha funzione di sito di legame per ormoni steroidei vegetali, da cui un possibile ruolo di "carrier" steroideo⁶. Altri studi mostrano però una più ampia specificità delle PR-10 verso una varietà di ligandi biologici tra cui acidi grassi, flavonoidi, citochine, ed anche attività ribonucleasica; complessivamente quindi la funzione di Bet v 1 ed omologhi non è ancora pienamente compresa⁷.

La diffusione nel regno vegetale di Bet v 1 e dei suoi omologhi è ubiquitaria tra i procarioti e gli eucarioti. A seguito della sensibilizzazione primaria all'allergene pollinico della betulla, con il passar del tempo numerosi soggetti possono sviluppare sintomi allergici da ingestione di Bet v 1 related proteins presenti in numerosi frutti, noci e vegetali, come riportato in Tabella I.

Si tratta di proteine relativamente labili al calore e alla digestione acida gastrica (pH) per cui sono considerate allergeni alimentari di II classe; la sintomatologia che ne deriva, pertanto, è solitamente lieve e caratterizzata da prurito o bruciore orale, ovvero da una Sindrome Orale Allergica (SOA). Nel caso in cui il pH della matrice si mantenga neutro il calore non altera la struttura di Bet v 1, come è stato verificato per Pru p 1 della pesca; in tal caso i quadri clinici possono essere gravi⁸, anche se le uniche reazioni serie sono

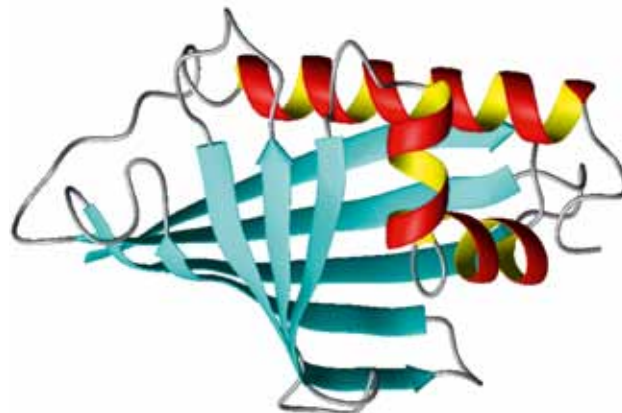


Fig. 1. Struttura tridimensionale di Bet v 1 e degli omologhi correlati PR-10 (spettroscopia di risonanza): la struttura tridimensionale evidenzia un sito di ripiegamento assai simile tra gli allergeni, che ne determina l'elevata cross-reattività delle IgE specifiche⁵.

Tab. I. Bet v 1 e proteine Bet v 1 omologhe.

ALLERGENE	ORIGINE	ESPOSIZIONE
Act c 8	Kiwi (p. gialla)	Ingestione
Act d 8	Kiwi (p. verde)	Ingestione
Api g 1	Sedano	Ingestione
Ara h 8	Arachide	Ingestione
Dau c 1	Carota	Ingestione
Fra a 1	Fragola	Ingestione
Gly m 4	Soia	Ingestione
Lyc e 4	Pomodoro	Ingestione
Mal d 1	Mela	Ingestione
Pru ar 1	Albicocca	Ingestione
Pru av 1	Ciliegia	Ingestione
Pru p 1	Pesca	Ingestione
Pyr c 1	Pera	Ingestione
Rub l 1	Lampone	Ingestione
Vig r 1	Fagioli mungo	Ingestione
Aln g 1	Ontano	Inalazione
Bet v 1	Betulla	Inalazione
Car b 1	Carpino	Inalazione
Fag s 1	Faggio	Inalazione
Que a 1	Quercia	Inalazione
Cas s 1	Castagno/a	Inalazione/Ingestione
Cor a 1	Nocciolo/a	Inalazione/Ingestione

riportate solo per la soia. Questo fenomeno mette in risalto la rilevanza dell'effetto matrice sull'allergenicità di certe proteine. In condizioni di pH acido (intorno a 3), invece, anche una cottura a basse temperature (25°C) è in grado di produrre una denaturazione rapida e irreversibile della struttura proteica⁴. In Tabella I sono riportati la Bet v 1 e gli omologhi cross-reattivi delle piante e degli alimenti, questi ultimi appartenenti

Bet v 1 fa parte della famiglia delle Pathogenesis-Related proteins 10 (PR10) o Bet v 1 - Related Proteins. Il termine “pathogenesis-related proteins” (PRs) indica proteine codificate, ma indotte da situazioni patologiche o “correlate”.

alla famiglia delle *Rosaceae* (mela, pera, pesca, ciliegia, albicocca, fragola), delle *Fabaceae* (soia, arachide, fagiolo) e delle *Apiaceae* (sedano e carota).

Cross-reattività e vie di sensibilizzazione

Cross-reattività. Il fenomeno della Cross-reattività (CR), si verifica quando una risposta adattativa immune a un particolare antigene causa reattività nei confronti di altri antigeni che sono strutturalmente correlati all'antigene induttore. La CR rappresenta

un vantaggio nei meccanismi di difesa nei confronti degli agenti infettivi, ma produce effetti negativi in alcune malattie immunologiche, principalmente quelle autoimmuni, e nelle malattie allergiche.

La reazione tra l'antigene e l'anticorpo è basata sulla complementarità spaziale dell'Epitopo dell'antigene con l'Idiotipo anticorpale.

Gli Epitopi, che sono costituiti da frammenti di 5-7 aminoacidi, possono essere lineari o conformazionali, sebbene questi ultimi siano più frequenti e variabili⁹. Una molecola allergenica può avere epitopi lineari costituiti da una specifica sequenza aminoacidica lungo la sua struttura primaria ed epitopi conformazionali generati dal ripiegamento della proteina e costituiti da aminoacidi che sono distanti nella struttura primaria, ma vicini l'uno all'altro quando la molecola è ripiegata (Fig. 2)¹⁰.

Il concetto di Omologia tra molecole antigeniche si fonda sul fatto che la somiglianza nelle sequenze aminoacidiche tra le molecole deriva dalla loro origine comune; esse pertanto condividono le stesse funzioni e devono conservare gli stessi ripiegamenti nella loro struttura terziaria⁹. Le Linee Guida per la predizione dell'allergenicità dell'Organizzazione Mondiale della Sanità precisano che una proteina può essere considerata capace di cross-reattività con altri allergeni, se condivide con essi almeno un 35% di similarità di

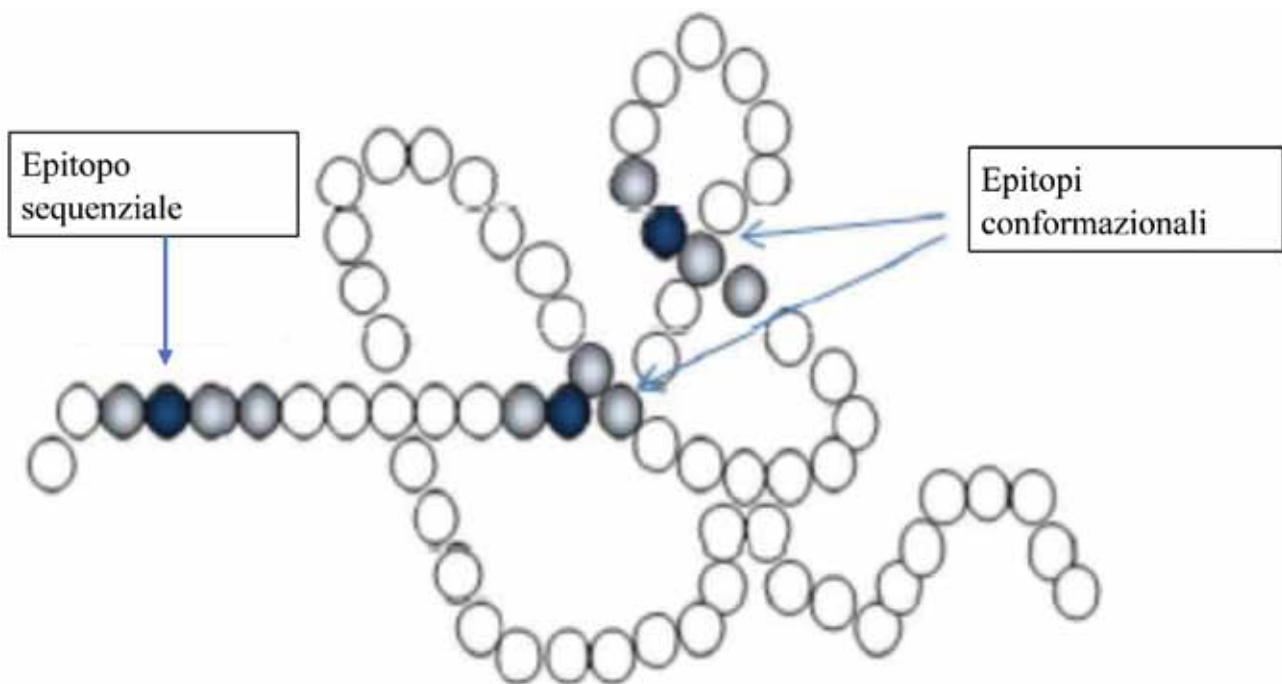


Fig. 2. Epitopi conformazionali e sequenziali.

sequenza in un frammento di 80 aminoacidi o una completa identità in un peptide di 6-8 aminoacidi ¹¹. Sembra che il fenomeno della CR si verifichi con frequenza tra proteine che condividono un'identità di sequenza > al 70%, mentre si verifichi più raramente tra quelle che presentano un'identità < al 50% ¹².

Le sindromi riconducibili a fenomeni di CR sono state descritte tra specie vicine filogeneticamente, nelle quali sembra che quanto maggiore è la vicinanza tassonomica tanto maggiore è la probabilità di CR, ma anche tra specie filogeneticamente distanti. In quest'ultimo caso, gli allergeni responsabili sono usualmente proteine omologhe appartenenti a specifiche famiglie di molecole che sono altamente conservate da un pun-

to di vista evolutivo e che, data la loro presenza molto diffusa tra gli organismi, sono state indicate con il termine di Panallergeni ⁹. L'allergia alimentare associata alle pollinosi si sviluppa come conseguenza di caratteristiche condivise a livello della struttura primaria e terziaria delle proteine coinvolte ¹². Un'alta omologia nella sequenza primaria risulta in strutture tridimensionali omologhe e, pertanto, potenzialmente in fenomeni di cross-reattività ¹³.

Nel caso dell'allergia agli alimenti correlata al polline della betulla, essa è considerata la conseguenza di una cross-reattività immunologica tra gli allergeni del polline della betulla e le proteine degli alimenti strutturalmente correlate. È dovuta, nella stragrande

	Allergome Code	Description	Code	Score	E Value	% Identity
1	89	Bet v 1	uniprot:O23751	327.0	2.0E-91	100.0
237	464	Mal d 1	uniprot:Q4VPL0	202.0	7.0E-54	60.0
238	1316	Pru av 1.0101	uniprot:Q24248	200.0	3.0E-53	59.0
242	602	Pru p 1	uniprot:B6CQR8	195.0	1.0E-51	58.0
240	5985	Pru du 1	uniprot:B6CQS5	198.0	1.0E-52	60.0
245	3446	Pru ar 1.0101	uniprot:O50001	194.0	2.0E-51	58.0
109	237	Cor a 1.0201	uniprot:Q39453	273.0	2.0E-75	81.0

Fig. 3. Omologia di sequenza tra Bet v 1 e Bet v 1-like delle Rosaceae e della Nocciola.

	Allergome Code	Description	Code	Score	E Value	% Identity
1	41	Api g 1.0101	uniprot:P49372	309.0	3.0E-86	100.0
42	113	Bet v 1.1801	uniprot:Q39427	129.0	4.0E-32	43.0

	Allergome Code	Description	Code	Score	E Value	% Identity
1	287	Dau c 1	uniprot:O8S903	314.0	1.0E-87	100.0
43	89	Bet v 1	uniprot:Q9LEP0	129.0	4.0E-32	45.0

Fig. 4. Omologia di sequenza tra Bet v 1-like di alcuni vegetali e Bet v 1.

maggioranza dei casi, alla cross-reattività tra le IgE dirette contro l'allergene maggiore della betulla, Bet v 1, e proteine omologhe identificate in differenti frutti con nocciolo, come la mela (Mal d 1), la ciliegia (Pru av 1) e la pera (Pyr c 1), ma anche nella nocciola (Cor a 1), nel sedano (Api g 1), nella carota (Dau c 1), nella soia (Gly m 4), nell'arachide (Ara h 8), nel Kiwi (Act d 8) e in altri alimenti ¹⁴.

L'alta similarità di sequenza tra le proteine Bet v 1 correlate, anche tra specie tassonomicamente piuttosto distanti, e la similarità delle strutture tridimensionali tra queste proteine giustifica la cross-reattività IgE mediata che esita nelle sindromi polline-alimento, configuranti alcune volte quadri clinici rilevanti ⁴ (Figg. 3, 4) ¹⁵ (Fig. 5) ¹⁶.

La cross-reattività tra Bet v 1 e le proteine alimentari omologhe correla con la similarità nella loro struttura proteica primaria. Di conseguenza, gli anticorpi IgE specifici per Bet v 1 reagiscono preferenzialmente con

gli allergeni omologhi dei frutti delle Rosaceae che presentano una similarità di sequenza aminoacidica variabile dal 56 al 59% con Bet v 1, mentre reagiscono meno frequentemente con le proteine omologhe presenti nei vegetali della famiglia delle Apiaceae che condividono dal 37 al 41% di similarità nella sequenza primaria. Uno studio che ha analizzato la reattività delle IgE nei confronti degli allergeni alimentari di 50 pazienti Bet v 1 positivi, ha evidenziato che il 99% cross-reagiva con Mal d 1, il 93% con Cor a 1, il 59% con Api g 1 e il 38% con Dau c 1 ¹⁷.

In generale le IgE prodotte nei confronti di Bet v 1 hanno uno spettro di cross-reattività più limitato nei confronti degli allergeni alimentari rispetto a quelle dirette contro le profiline. In uno studio del 2002, gli Autori riscontravano che la sensibilizzazione a Bet v 1 era associata a quella nei confronti di mela, pesca, nocciola e, più debolmente, della carota, mentre la sensibilizzazione alle profiline era associata alla

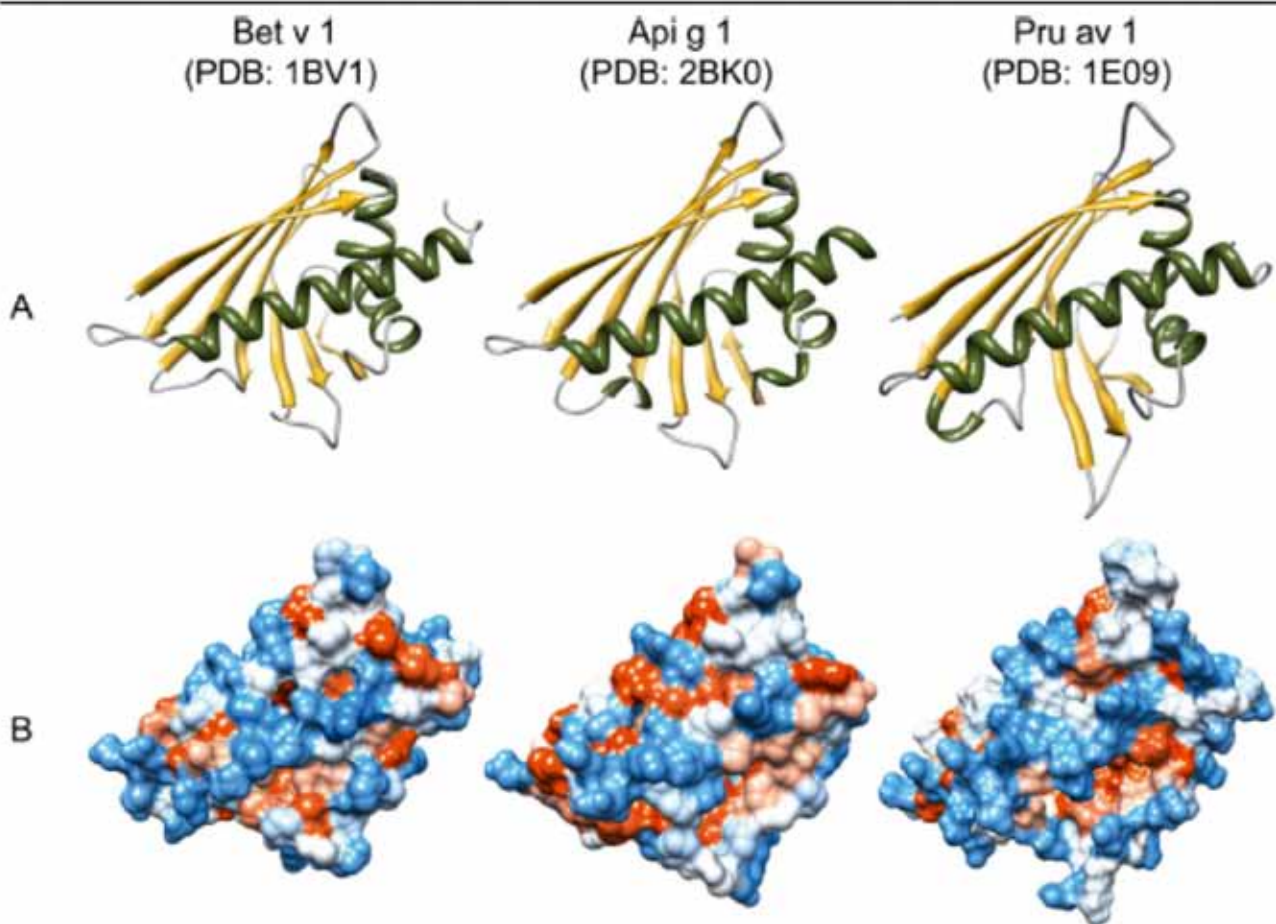


Fig. 5. Struttura tridimensionale di Bet v 1 e di proteine alimentari omologhe (Bet v 1-like). Gli elementi della struttura secondaria (Fig.A) sono visualizzati in verde (α -helices), in giallo (β -sheets) e in grigio (loops and turns).

presenza di RAST positività nei confronti di tutti gli alimenti vegetali investigati (14 alimenti), eccetto la pesca, il melone e la mela¹⁸.

La cross-reattività tra Bet v 1 e le molecole omologhe contenute negli alimenti vegetali non è assoluta né obbligatoria. In uno studio su un numeroso campione di pazienti (283) con evidenza clinica di ipersensibilità al polline di betulla, Asero et al. dimostravano che il 15% dei pazienti non sviluppava SOA dopo 15 o più anni di follow-up. Tutti i pazienti con SOA all'inizio dello studio presentavano Prick by Prick con mela Golden Delicious e/o con nocciola positivo mentre, nella fase prospettica dello studio, solo pochissimi pazienti senza SOA all'ingresso e con SPT negativi con i suddetti alimenti, sviluppava SOA. Questi dati dimostravano che un sottogruppo di pazienti allergici alla betulla produceva IgE che non cross-reagiscono con gli allergeni degli alimenti vegetali e che, pertanto, non presenterà mai SOA¹⁹.

Anche il grado di cross-reattività tra le Bet v 1-like degli alimenti che le contengono è molto variabile. In uno studio cross-sectional su 196 pazienti con allergia al polline della betulla e con sindrome allergica orale, Asero trovava 195 (99,5%) pazienti con SOA causata dalla mela e/o dalla nocciola e 51 (26%) pazienti con SOA causata da uno o più vegetali della famiglia delle *Apiaceae* (sedano, carota e finocchio). Solo 1 (0,5%) paziente presentava sintomatologia dopo ingestione di sedano, carota e finocchio in assenza di evidenza clinica, sierologica e a livello di SPTs di ipersensibilità alla mela o alla nocciola. In definitiva, i pazienti con ipersensibilità alla betulla presentavano allergia alla mela e alla nocciola molto più frequentemente rispetto all'allergia alle *Apiaceae*; inoltre, era molto comune trovare pazienti con allergia alla mela e/o alla nocciola in assenza di ipersensibilità alle *Apiaceae* mentre la situazione opposta era estremamente rara (1 paziente/196). Questo dato, insieme alla osservazione che il RAST per sedano e carota viene fortemente inibito da parte dell'estratto di mela, dimostra che mentre la maggior parte degli epitopi della *Apiaceae* cross-reagiscono con quelli della mela, solo alcuni determinanti delle mela cross-reagiscono con quelli della *Apiaceae*. La sensibilizzazione al sedano, alla carota e al finocchio mostrava una netta tendenza a verificarsi insieme, dimostrando che i determinanti antigenici di questi vegetali, botanicamente correlati, sono fortemente cross-reattivi²⁰.

Questo dato trovava conferma nei risultati di un lavoro sperimentale in cui veniva isolato e caratterizzato

In generale le IgE prodotte nei confronti di Bet v 1 hanno uno spettro di cross-reattività più limitato nei confronti degli allergeni alimentari rispetto a quelle dirette contro le profiline.

dal punto di vista molecolare l'omologo Bet v 1 della carota (*Daucus carota*), cioè il Dau c 1, e le sue isoforme Dau c 1.1, 1.2 e 1.3. Dau c1.1 dimostrava una identità di sequenza aminoacidica dell'81% con Api g 1, la Bet v1-like nonché allergene maggiore del sedano, del 60% con la proteina inducibile dai patogeni del prezzemolo PcPR1, del 38% con Bet v 1 e del 39% con Mal d 1 (Tab. II).

Questi risultati confermano che l'identità di sequenza è maggiore tra piante botanicamente correlate (carota, sedano e prezzemolo appartengono alla famiglia delle *Apiaceae*), mentre è inferiore tra famiglie botanicamente distanti (betulla→*Fagaceae* e mela→*Rosaceae*)²¹.

In un altro interessante lavoro sperimentale, utilizzando piccole molecole chiamate "Mimotopes" che sono in grado di imitare epitopi discontinui della molecola proteica e che competono con la proteina nativa per il legame con l'anticorpo, gli Autori riuscivano a mappare la localizzazione delle aree di superficie che probabilmente contengono i siti di legame delle IgE di Bet v 1 e di altre 3 proteine omologhe (Gly m 4, Ara h

Tab. II. Comparazione della sequenza aminoacidica di Dau c 1 con quella di CR 16 (proteina della radice di carota), di Api g 1 (allergene maggiore del sedano), di PcPR1 (pathogenesis-related protein del prezzemolo), di Bet v 1 (allergene maggiore della betulla) e di Mal d 1 (allergene maggiore della mela)²².

Proteina	Identità di Sequenza (%)
CR16	98
Api g 1	81
Pc PR1	60
Bet v 1	38
Mal d 1	39

8 e Pru av 1). Le aree mappate, così come il risultato dei test di cross-inibizione, dimostravano un più alto grado di similarità di Bet v 1 con Pru av 1, rispetto a Gly m 4 e Ara h 8 e ciò in accordo con la maggiore identità di sequenza tra Bet v 1 e le Bet v 1-like dei frutti, come Pru av 1, che tra Bet v 1 e gli omologhi dei legumi che giustifica, probabilmente, il minor grado di cross-reattività tra le IgE prodotte nei confronti di Bet v 1 e questi ultimi. Infine gli esperimenti di cross-inibizione con metodo ELISA dimostravano anche che non vi erano epitopi addizionali sugli allergeni alimentari al di là di quelli cross-reattivi con Bet v 1²².

La cross-reattività tra Bet v 1 e le molecole Bet v 1-like è stata studiata, oltre che relativamente alle IgE, anche a livello T-cellulare con dimostrazioni di rilevanti differenze tra i 2 fenomeni.

Importanti risultati "in vitro" e "in vivo" sembrano dimostrare che la cottura degli alimenti determina la perdita della capacità degli allergeni Bet v 1-like di legarsi alle IgE e di quella di indurre la liberazione di mediatori da parte dei basofili, ma non della possibilità di attivare le cellule T Bet v 1-specifiche. I risultati "in vitro" sembrano essere confermati da quelli "in vivo", in quanto pazienti allergici al polline di betulla con dermatite atopica che presentano sintomi immediati (OAS) e peggioramento tardivo della loro dermatite (nelle 24 ore successive) al DBPCFC con alimenti crudi (sedano e carota), non presentano più sintomi immediati al DBPCFC con alimento cotto, ma ripresentano un peggioramento significativo dello SCORAD della dermatite atopica.

In definitiva, gli alimenti cotti correlati al polline della betulla inducono un'attivazione T-cellulare e sintomi mediati da reazioni T-cellulari come gli alimenti crudi e queste reazioni si verificano anche in assenza di legame con le IgE e di reazioni ad esso correlate: in pazienti con dermatite atopica la reazione immune risultante può anche manifestarsi come una reazione eczematosa ritardata (manifestazioni, comunque, mai descritte negli adulti). Pertanto, la convinzione che gli alimenti Bet v 1 correlati possano essere consumati cotti, senza conseguenze dal punto di vista allergologico andrebbe, alla luce di questi risultati, riconsiderata anche perché l'assunzione di piccole quantità di allergene cotto, pur in assenza di sintomi, potrebbe portare all'attivazione di cellule-T polline-specifiche di tipo T_H2 anche al di fuori della stagione pollinica e quindi mantenere una produzione perenne di IgE.

Un risultato simile si ottiene usando l'allergene della mela (Mal d 1), del sedano (Api g 1) e della nocciola

(Cor a 1) dopo incubazione con pepsina e successivamente con tripsina al fine di ottenere una degradazione di queste proteine simile a quella che si verifica a livello gastro-intestinale. L'esposizione alle proteasi gastro-intestinali abolisce completamente la capacità dei suddetti allergeni di legarsi alle IgE, ma non quella di stimolare le cellule T Bet v 1-specifiche.

Questo interessante risultato può dipendere dal fatto che gli epitopi IgE di queste proteine sono di tipo conformazionale e dipendono dalla loro struttura proteica terziaria (sono sensibili alla degradazione enzimatica e alla cottura), mentre gli epitopi T-cellulari sono brevi peptidi lineari che sopravvivono alla degradazione gastro-intestinale e alla cottura²³.

In ambito respiratorio le Bet v 1-like rappresentano allergeni maggiori dei pollini di alberi appartenenti all'ordine delle Fagales. La cross-reattività tra i pollini di queste piante è dimostrata dal fatto che l'allergia alle Fagales e la sensibilizzazione a Bet v 1 può essere riscontrata anche in aree dove la Betulla non è presente per l'esposizione e la sensibilizzazione ad altre specie di Fagales. In uno studio effettuato in un'area geografica intorno alla città di Roma, dove la Betulla non è presente, veniva riscontrata una positività dello SPT nei confronti di almeno uno degli estratti di polline di Fagales testati (Betulla, Nocciolo e Quercia) nel 25,5% di 2573 pazienti pollinosici. La reattività nei confronti del polline della Betulla e della Quercia si presentava, in quasi tutti i casi, associata ad almeno 1 delle altre 2 specie e la maggior parte dei pazienti presentava un co-riconoscimento di tutte e 3 le specie di Fagales (66% dei casi) e risultava sensibilizzata anche a quasi tutte le altre specie di Fagales testate (Ontano = Betulaceae; Carpino = Corylaceae; Faggio e Castagno = Fagaceae). Si riscontrava, però, una quota di pazienti monosensibilizzati al Nocciolo (13,5% degli SPT positivi ad esso) che proveniva in gran parte da un'area a nord di Roma con intensa coltivazione della pianta e che mostrava co-riconoscimento solo del polline del Carpino che appartiene anch'esso, come il Nocciolo, alla famiglia delle Corylaceae. Lo studio dimostra che, a causa della intensa cross-reattività, la sensibilizzazione nei confronti delle Fagales tende a presentarsi in maniera omogeneamente raggruppata anche in aree dove la betulla è assente. L'alta esposizione al polline del Nocciolo può indurre sensibilizzazione primaria ad allergeni non Bet v 1-correlati presenti in questo polline e in quello di piante ad esso tassonomicamente vicine^{24 25}. Di notevole interesse sono i dati sulla cross-reattività delle Bet v 1-like dei pollini, provenienti da

Tab. III. Bet v 1 analoghi negli alimenti e negli inalanti e possibilità diagnostiche.

Allergeni alimentari	Fonte allergenica	Molecola allergenica	CAP system	ISAC 112
Apiales <i>Apium graveolens</i>	Sedano	Api g 1	X	X
• <i>Daucus carota</i>	Carota	Dau c 1		
	Prezzemolo	Pet c 1		
Ericales <i>Actinidia chinensis</i>	Kiwi gold	Act c 8		
• <i>Actinidia deliciosa</i>	Kiwi	Act d 8	X	X
		Act d 11		
Fabales <i>Arachis hypogaea</i>	Arachidi	Ara h 8	X	X
• <i>Glycine max</i>	Soia	Gly m 4	X	X
• <i>Vigna radiata</i>		Vig r 1		
Fagales <i>Corylus avellana</i>	Nocciola	Cor a 1	X	X
Rosales <i>Fragaria ananassa</i>	Fragola	Fra a 1		
• <i>Malus domestica</i>	Mela	Mal d 1		X
• <i>Prunus armeniaca</i>	Albicocca	Pru ar 1		
• <i>Prunus avium</i>	Ciliegia	Pru av 1		
• <i>Prunus persica</i>	Pesca	Pru p 1	X	X
• <i>Pyrus communis</i>	Pera	Pyr c 1		
• <i>Rubus idaeus</i>	Lampone	Rub i 1		
Asparagaceae	Asparago	Asp a 0 17 kd		
Aeroallergeni				
	Ontano	rAln g 1		X
	Betulla	rBet v 1	X	X
	Nocciolo	rCor a 1		X
	Carpino bianco	Car b 1		
	Carpino nero	Ost c 1		
	Castagno	Cas s 1		
	Quercia	Que a 1		
	Faggio	Fag s 1		
	Tarassaco	Tar o 18kd		

Da Hauser et al., 2008 ¹², mod. (Da www.allergome.org)

lavori che hanno utilizzato particolari metodiche di laboratorio. In uno studio multicentrico effettuato su 102 pazienti provenienti da diversi paesi (Svezia, Francia, Austria e Svizzera), allergici al polline delle Fagales si dimostrava, con l'uso del CAP quantitativo, che le IgE dirette contro il polline di Betulla riconoscevano nel 99% dei casi Bet v 1 e nel 14,7% dei casi Bet v 2, a riprova che l'allergia nei confronti della Betulla è determinata prevalentemente da sensibilizzazione nei confronti di Bet v 1. Il polline di Betulla appariva essere il sensibilizzante più potente, poiché la totalità dei sieri conteneva IgE nei confronti dell'estratto di

Betulla o di Bet v 1 naturale o ricombinante, mentre diversi sieri non presentavano IgE nei confronti degli estratti di polline delle altre Fagales, in relazione alla distanza tassonomica dalla Betulla. Inoltre, i valori del CAP quantitativo erano molto più alti per l'estratto di Betulla, rispetto a quelli degli estratti di polline delle altre Fagales, dimostrando che il polline di Betulla è, di gran lunga, la sorgente preminente di epitopi IgE. Questo potrebbe permettere l'utilizzo di rBet v 1 e rBet v 2 per la diagnosi e l'immunoterapia dei pazienti allergici al polline delle Fagales, in sostituzione degli estratti ²⁶.

Dati ulteriori sulla cross-reattività e sulla capacità di indurre sensibilizzazione da parte delle molecole Bet v 1-like ci provengono da un recentissimo studio effettuato su pazienti provenienti da 3 aree geografiche distinte (Vienna, area con prevalenza della Betulla; Genova, area con prevalenza dell'Ontano, e di diverse specie delle Coryloideae e delle Fagaceae; Roma, area priva di Betulla e con prevalenza di Fagaceae, soprattutto Quercia, seguite dalle Coryloideae e dall'Ontano). L'allergia alle Fagales si manifesta prevalentemente come allergia al polline della Famiglia delle Betulaceae che, a sua volta, comprende le sub-Famiglie delle Betuloideae (generi Betulla e Ontano) delle Coryloideae (generi Nocciolo, Carpino, Carpino nero) e dell'Ostryopsis (comprendente 3 specie strettamente correlate al nocciolo e al Carpino nero) e al polline della famiglia delle Fagaceae (Faggio, Quercia e Castagno) (Tab. IV). Per lungo tempo si è ritenuto che la suddetta allergia sia dovuta ad un'iniziale sensibilizzazione a Bet v 1, l'allergene maggiore della Betulla, ma molte evidenze dimostrano che l'attività allergenica di alcune molecole Bet v 1-like sia stata sottostimata. In questo lavoro si dimostrava che gli allergeni Bet v 1-like delle Betuloideae e delle Coryloideae possono determinare la produzione di IgE con differente specificità, mentre le reazioni allergiche nei confronti delle Fagaceae sono il risultato di reazio-

La cross-reattività tra Bet v 1 e le molecole Bet v 1-like è stata studiata, oltre che relativamente alle IgE, anche a livello T-cellulare con dimostrazioni di rilevanti differenze tra i 2 fenomeni.

ni cross-reattive. Attraverso esperimenti di cross-inibizione effettuati con metodo Elisa e attraverso l'utilizzazione dell'ISAC microarray, si riusciva a dimostrare che le molecole allergeniche delle Betuloideae e delle Coryloideae condividono circa il 75% degli epitopi allergenici, mentre il 25% sono esclusivi delle rispettive sub-Famiglie; gli epitopi delle molecole allergeniche delle Fagaceae appaiono essere completamente cross-reattivi con quelli delle suddette sub-Famiglie e questo risultato era indipendente dall'area geografica di provenienza del siero utilizzato. Questi dati dimostrano che l'allergia alle Fagales può essere iniziata da un'indipendente sensibilizzazione nei confronti

di membri delle Betuloideae e delle Coryloideae, mentre quella nei confronti delle Fagaceae sembra essere il risultato di anticorpi cross-reattivi diretti primariamente verso componenti della Famiglia delle Betulaceae (Betuloideae e Coryloideae)²⁷.

Vie di sensibilizzazione.

La maggior parte dei soggetti con SOA (Sindrome Orale Allergica), e quindi anche quelli in cui la manifestazione clinica è legata alla sensibilizzazione alle Bet v 1-like, presenta contemporaneamente un'allergia ai pollini. Diversi dati sperimentali e clinici dimostrano che, in questi casi, i sensibilizzanti primari sono gli allergeni pollinici e che la via di sensibilizzazione è quella

Tab. IV. Classificazione delle piante appartenenti all'ordine delle Fagales.

Famiglia	Sottofamiglia	Genere
Nothofagales	Famiglia del Faggio meridionale	Faggio meridionale
Fagaceae	Famiglia del Faggio	Faggio
		Quercia
		Castagno
Juglandaceae	Famiglia del Noce	Noce
Myricaceae	Famiglia del Bayberry	Myrica
Rhoipteleaceae	Famiglia del Rhoiptelea	Roiptelea - equisetolo
Ticodendraceae	Famiglia del Ticodendron	Ticodendro
Betulaceae	Famiglia della Betulla	Betulla
		Ontano
	Famiglia delle Coryloideae	Nocciolo
		Carpino
		Carpino nero
	Famiglia delle Ostryopsis	3 Specie strettamente correlate al nocciolo e al carpino nero
Casuarinaceae	Famiglia della Quercia	Quercia

Da Hauser et al., 2011²⁷, mod.

inalatoria. Alcune prove a conferma di ciò, derivano dal fatto che la pollinosi precede la comparsa dei sintomi indotti dagli alimenti ⁹, che molti pazienti presentano sintomi più severi di allergia alimentare durante la stagione pollinica e che la maggior parte degli allergeni cross-reattivi sono più abbondantemente espressi nei pollini che nei tessuti somatici delle piante ²⁹. Nel caso delle Bet v 1-like, la sensibilità al calore e agli enzimi digestivi, almeno nella grande maggioranza dei casi, porta a classificarle come allergeni alimentari di classe II, con gli allergeni pollinici che si comportano come sensibilizzanti e come induttori di anticorpi IgE cross-reattivi ¹². Un lavoro sperimentale effettuato su 71 pazienti con SOA tramite analisi di inibizione "in vitro", si proponeva, appunto, di determinare le molecole sensibilizzanti primarie, partendo dall'assunto che queste conteranno la maggior parte, se non tutti, gli epitopi rilevanti per le IgE, mentre gli allergeni secondari conteranno meno epitopi IgE. Gli autori preincubavano i sieri di 5 pazienti rappresentativi con allergia al polline di betulla e sensibilizzazione clinicamente rilevante ad almeno un alimento vegetale tra mela, carota e sedano, con rBet v 1 o con gli allergeni maggiori Bet v 1-like della mela (rMal d 1), della carota (rDau c 1) e del sedano (rApi g 1) e verificavano (esperimenti di Western blots e di RAST-inibizione) che il pre-assorbimento dei sieri con rBet v 1 inibiva completamente il legame al Bet v 1 naturale, mentre la preincubazione con gli allergeni alimentari ricombinanti riduceva debolmente o non riduceva affatto il legame a questo. D'altra parte, la preincubazione dei sieri con una combinazione di rBet v 1 e rBet v 2 portava ad un'alta inibizione di legame delle IgE agli estratti degli alimenti (RAST-inibizione quantitativi). I dati sperimentali che una combinazione di rBet v 1 e rBet v 2 contiene la maggior parte degli epitopi presenti sugli allergeni alimentari, mentre questi, nella forma ricombinante, poco inibiscono il legame delle IgE agli allergeni della Betulla fornisce evidenza di una sensibilizzazione primaria per via inalatoria ²⁸. Un altro studio si proponeva di individuare il sensibilizzante primario in caso di allergia alla mela in 389 pazienti provenienti da 4 paesi europei (Italia, Olanda, Austria e Spagna), tutti con storia clinica di allergia alla mela e SPT positivi alla mela fresca Golden Delicious che sembra essere la varietà più ricca di Bet v 1-like. La specie pollinica clinicamente rilevante, in questi pazienti, differiva nei diversi paesi, essendo il polline di betulla prevalente in Italia, Austria e Olanda, e il polline di graminacee in Spagna; in tutti e 4 i paesi, comunque, l'allergia al polline precedeva tem-

La maggior parte dei soggetti con SOA (Sindrome Orale Allergica), e quindi anche quelli in cui la manifestazione clinica è legata alla sensibilizzazione alle Bet v 1-like, presenta contemporaneamente un'allergia ai pollini.

poralmente quella alla mela. In Italia, Austria e Olanda il principale allergene molecolare coinvolto era il Mal d 1, con valori di sIgE al RAST significativamente superiore rispetto a quelli nei confronti di Mal d 2, Mal d 3 e Mal d 4 e con una percentuale di pazienti con valori di sIgE pari o superiore a 1.0 IU/ml. significativamente superiore a quella che tali valori presentavano per Mal d 2, Mal d 3 e Mal d 4. Le risposte IgE nei confronti di mela, betulla, Mal d 1 e Bet v 1 erano fortemente correlate, ma quelle per il polline di betulla e di Bet v 1 erano significativamente più alte. Questi risultati supportano la teoria che pazienti provenienti da aree ricche di alberi di betulla divengono allergici al suo polline e al suo allergene maggiore Bet v 1 attraverso le vie respiratorie e che l'allergia alla mela si sviluppa successivamente come risultato della cross-reattività tra Bet v 1 e Mal d 1 ²⁹.

Gli aspetti clinici

La rino-congiuntivite e l'asma allergico sono le manifestazioni cliniche più frequenti nel Nord e Centro Europa e nel Nord America conseguenti alla sensibilizzazione a Bet v 1 e, nelle regioni dove la betulla non c'è, alla sensibilizzazione primaria nei confronti degli omologhi di Bet v 1 del nocciolo e dell'ontano. È noto da tempo che i pazienti con allergia alla betulla possono sviluppare, oltre ai sintomi stagionali delle vie respiratorie, reazioni immediate per frutta e verdura. Questa sindrome betulla – frutta - verdura è caratterizzata, nella sede di contatto con gli alimenti, da sintomi locali come il prurito delle labbra, della lingua e della gola, talvolta accompagnato da gonfiore delle labbra e della lingua che configurano il quadro della SOA.

Occasionalmente possono verificarsi gravi reazioni sistemiche IgE - mediate come l'orticaria o lo shock anafilattico (al momento descritte solo per la soia). Kleine-Tebbe et al., già nel 2002 avevano evidenziato che la maggior parte dei 20 pazienti allergici alla betulla (17/20) presentava gravi reazioni sistemiche con comparsa di sintomi orofaringei e facciali dopo 20 minuti dall'ingestione di prodotti contenenti proteine della soia, suggerendo una CR tra IgE specifiche per Bet v 1 e proteine omologhe come la proteina SAM22-PR10. In questi soggetti erano presenti allergia alla betulla insieme con SOA da mela (12/20) o da nocciola (11/20) ed alti livelli di IgE specifiche per Bet v 1³⁰. Successivamente, lo studio di Ballmer-Weber ha riscontrato casi di anafilassi: 2 nella storia clinica o 7 su 21 pazienti al challenge con contemporanea presenza di IgE specifiche per rBet v1 e rGly m 4, con una mediana di classe CAP rispettivamente di 2 e 4. In questa casistica i soggetti primariamente sensibilizzati ad entrambe le proteine omologhe, a differenza dei mono-sensibili a rGly m 4, mostrano una minore probabilità di reazioni sistemiche severe. Nell'intero gruppo in studio, la SOA costituisce il quadro clinico più frequentemente espresso dai pazienti, seguito da angioedema, orticaria, sintomatologia gastrointestinale (nausea, vomito) e respiratoria (disfonia, dispnea) e neurologica (vertigini)³¹. I risultati dello studio di Geroldinger-Simic et al., ottenuti mediante utilizzo di un questionario standardizzato su 225 pazienti con allergia alla betulla, mostrano i dati di prevalenza dei principali sintomi cibo-indotti ed i trigger della sindrome betulla - frutta - verdura, evidenziando che il 73% dei soggetti aveva manifestazioni cliniche da allergia alimentare. In particolare, il prurito nella cavità orale era il sintomo maggiormente prevalente (89%), seguito da rinite (58,2%), congiuntivite (57,6%), edema delle labbra (50,6%), sensazione di costrizione alla gola (50,8%), prurito alle orecchie (36,7%), dispnea (28,5%), crampi (18,4%), mentre altri sintomi come nausea (9,5%), orticaria (15,2%) e caduta della pressione arteriosa (8,9%) erano meno frequenti. Inoltre, ben il 70% dei soggetti riferiva che l'allergia alimentare era iniziata successivamente alla pollinosi ed il 44% aveva un peggioramento dei sintomi cibo-indotti durante il periodo di pollinazione della betulla. Tra gli alimenti trigger, la mela e la nocciola erano quelli più frequentemente riferiti, rispettivamente nell'80 e nel 59% dei casi. Inoltre, l'evidenza di allergia alimentare correlava prevalentemente con la reattività IgE verso Bet v 1, piuttosto che verso Bet v 2, e nei soggetti che

tolleravano gli alimenti vi era un riscontro di un più elevato rapporto IgG4/IgE specifiche per Mal d 1 e Cor a 1, rBet v 1 omologhi, a supporto della funzione bloccante delle IgG4 specifiche nei confronti delle IgE specifiche leganti gli allergeni alimentari¹⁴.

Nei pazienti con allergia al kiwi la SOA è l'aspetto clinico più comune nei pazienti pollinosici con sensibilizzazione a Bet v 1 e nei quali, oltre alla rinite allergica, nel 60% dei casi è presente asma stagionale, a conferma che entrambi gli allergeni (omologhi delle Bet v 1 e Profilina) sono importanti nell'allergia al kiwi correlata ai pollini, mentre la sensibilizzazione nei confronti di Act d 1 (Actinidina) risulta importante nei soggetti monoallergici al kiwi, nei quali i sintomi sono spesso più severi³². La recente descrizione dell'allergene Act d 11 del kiwi, come primo membro della famiglia di proteine MLP/RRP (ripening-related protein family), conferma che un meccanismo di co-riconoscimento IgE con gli allergeni appartenenti alla famiglia PR-10 comprendente la Bet v 1 è alla base della CR tra queste proteine ed ha un ruolo determinante per la comparsa delle manifestazioni cliniche nei pazienti con sensibilizzazione verso più sorgenti che condividono molecole allergeniche³³. Asero et al. in un ampio studio retrospettivo hanno riportato che la presenza di SOA, nel 15% dei pazienti allergici alla betulla, è significativamente associata con le manifestazioni asmatiche e respiratorie più severe e a un più elevato livello di sensibilizzazione (più elevati livelli di IgE specifiche per betulla) rispetto ai pazienti allergici senza SOA; inoltre, nei pazienti con SOA i sintomi iniziano e si mantengono durante la pollinazione della betulla³⁴.

Come già detto, la rino-congiuntivite costituisce uno degli aspetti clinici più caratteristici della sensibilizzazione a Bet v 1, anche se è necessario considerare che nei pollinosici il pattern di sensibilizzazione può risentire di variazioni geografiche. In tal senso, i dati di Vereda et al. evidenziano che, sul totale di 28 pazienti con IgE per entrambe rBet v 1 e rAra h 8, la maggior parte (23) erano Svedesi, 5 Americani e 1 Spagnolo, così come il coefficiente di correlazione tra IgE verso rBet v 1 e rAra h 8 era di 0,91 (P <,0001) nei pazienti svedesi in confronto con un valore di 0,76 (P <,0001) nell'intero gruppo in studio (115 pazienti)³⁵. Molto recentemente, oltre alle variazioni geografiche, i risultati dello studio di Sekerková et al. nei soggetti pollinosici mostrano che l'età può rappresentare un fattore condizionante la diversa specificità degli anticorpi IgE indotti dagli allergeni della betulla. Il riscontro di una maggiore frequenza di positività a Bet

La rino-congiuntivite costituisce uno degli aspetti clinici più caratteristici della sensibilizzazione a Bet v 1, anche se è necessario considerare che nei pollinosici il pattern di sensibilizzazione può risentire di variazioni geografiche.

v 2 nei bambini rispetto agli adulti sottolinea che nei primi vi è un maggior numero di soggetti allergici che non reagisce esclusivamente all'allergene maggiore e ipotizza un andamento età dipendente delle IgE allergene specifiche ³⁶. Il profilo della sensibilizzazione età dipendente è stato da poco descritto in un gruppo di bambini con sintomi da allergia alla nocciola, evidenziando che in quelli di età prescolare e scolare con riferita reazione sistemica vi era sensibilizzazione a Bet v 1 rispettivamente nel 29% e nel 67% dei casi, mentre i pazienti con SOA, indipendentemente dal gruppo di età, erano tutti sensibilizzati a Bet v 1 ³⁷.

La diagnosi

La Betulla appartiene alla famiglia delle Betulaceae dell'ordine delle Fagales. Questo comprende 8 famiglie, alcune delle quali sono suddivise ulteriormente in sottofamiglie (Tab. IV). Poiché la pollinosi da Betulla è una delle più diffuse nel nord europa, essa è stata molto studiata e in passato si è ritenuto che l'allergene della betulla costituisse il sensibilizzante primario, e che le sensibilizzazioni per le altre Fagales potessero costituire delle sensibilizzazioni secondarie. In realtà, come già detto nel capitolo sulla cross-reattività, anche altre Fagales possono costituire i sensibilizzanti primari, in specie in alcune zone dell'Italia centro meridionale, dove vi sono poche betulle e invece predomina la diffusione del Nocciolo e della Quercia. In queste zone circa il 15% dei soggetti possono essere sensibilizzati alle Fagales, in particolare al nocciolo, senza esserlo alla betulla. Nello studio da cui provengono questi dati, la sindrome allergica orale alla assunzione della mela e della nocciola era presente nel 19% di soggetti con multipla sensibilizzazione alle

Fagales, mentre nessuno la presentava nei confronti della carota o del sedano. In particolare nessuno dei soggetti monosensibilizzati al Nocciolo presentava una sindrome allergica orale alla ingestione della nocciola, suggerendo la assenza di una relazione tra la allergia alla pianta e quella alla noce ²⁴.

La diagnosi di allergia alle Fagales deve essere sospettata nelle pollinosi invernali e primaverili, dato che il periodo di impollinazione delle Betuloideae va da metà gennaio a giugno, con picchi nel periodo febbraio-aprile al nord, e da metà gennaio a maggio al centro sud, con picchi a febbraio-marzo. Le corylaceae hanno un periodo di impollinazione simile con picco nel mese di aprile ³⁸.

La allergia alla betulla deve essere ricercata soprattutto nei bambini più grandi e negli adolescenti, oltre che ovviamente negli adulti, in quanto segue alla sensibilizzazione nei confronti dell'allergene maggiore dei pollini della betulla, il Bet v 1 (l'età media di sensibilizzazione ex novo in una zona a nord di Milano è di 38 anni ³⁹). La Bet v 1 e le proteine omologhe sono espresse in particolare in alcuni tessuti, quali i pollini maturi (ad es. betulla), i frutti maturi (mela, pera, ciliegia e altri membri delle rosacee), radici e bulbi (carota e sedano) e vecchie foglie ⁴. La diagnosi di allergia alle Bet v 1 deve essere ricercata in tutti coloro che presentino sintomi alla assunzione di alcune frutta verdura o noci, in specie se manifestano sintomi di una rinite primaverile, ma anche in sua assenza: è infatti possibile essere sensibilizzati alla betulla, avere sintomi orali/gastrointestinali, ma non avere rinite primaverile ⁴⁰. La sintomatologia, come già detto, è di solito costituita dalla sindrome allergica orale, ovvero la comparsa di prurito della lingua, della bocca e del palato, talora accompagnata da edema della lingua e del palato, ma più di rado, e solo con alcuni alimenti (la soia ³⁰), è stata segnalata la possibilità di sviluppare anche reazioni più importanti, quali orticaria, asma o anafilassi.

In generale nei soggetti allergici alla betulla è più comune riscontrare la SOA nei confronti della mela e della nocciola. Meno frequente, e quasi sempre associata a quella della mela e della nocciola, è la allergia per le apiaceae (sedano, carota e prezzemolo) ²⁰. Descritta, anche, la SOA da kiwi legata ad allergia nei confronti delle Bet v 1-like del frutto ³³.

Una sindrome allergica orale in seguito alla assunzione di frutta o verdura o noci non è tuttavia attribuibile solo alle Bet v 1: altre molecole come le profiline o le Thaumatin like protein possono determinare lo stesso quadro clinico ⁴¹.

La soia è il solo alimento verso cui è descritta la possibilità di manifestare la allergia alle Bet v 1 con sintomi più gravi della sindrome allergica orale. La allergia alla soia di solito si manifesta nei primi anni di vita, e in quel caso le molecole sensibilizzanti sono la Gly m 5 e la Gly m 6. tuttavia può insorgere anche in seguito alla sensibilizzazione alla betulla, e in questo caso la molecola responsabile è il Gly m 4. Allora il quadro clinico può essere non solo quello della sindrome allergica orale, ma anche disturbi cronici o recidivanti come diarrea o dolori addominali o orticaria recidivante o prurito cronico. Alcuni autori hanno dimostrato che eliminare in questi casi la soia porta alla scomparsa dei sintomi, ma alla reintroduzione può seguire una reazione acuta, talora anche con anafilassi. La possibilità di avere sintomi cronici è stata attribuita alla attivazione dei recettori a bassa attività delle IgE sugli eosinofili o alla attivazione

In generale nei soggetti allergici alla betulla è più comune riscontrare la SOA nei confronti della mela e della nocciola. La soia è il solo alimento verso cui è descritta la possibilità di manifestare la allergia alle Bet v 1 con sintomi più gravi della sindrome allergica orale.

SCHEDA CONCLUSIVA: COSA È UTILE SAPERE SULLE BET V 1 NELLA PRATICA CLINICA

1) Why: perché è importante conoscere le Bet v 1?

L'allergene maggiore del polline della betulla (Bet v 1) e/o di altri alberi dell'ordine delle *Fagales* induce sintomi respiratori nasali e/o bronchiali nel periodo invernale e primaverile. I suoi omologhi negli alimenti vegetali possono essere causa di allergia alimentare.

2) Who: in chi posso riscontrare allergia alle PR-10?

- Soggetti con sintomi respiratori da Gennaio a Giugno,
- Soggetti con Sindrome Orale Allergica conseguente all'ingestione di alimenti vegetali (soprattutto mela e altre *Rosaceae*), nocciola, *Apiaceae* (sedano, carota) e *Fabaceae* (soia, arachide, fagiolo).

3) When: quando ricercare l'allergia alle PR-10?

Nei pazienti che presentino le caratteristiche cliniche suddette, con lievi sintomi alimentari locali (Sindrome Orale Allergica), con l'unica eccezione della soia (Gly m 4) che può essere causa di sintomi sistemici.

4) What: che cosa cercare? L'importanza della cross-reattività.

In ambito respiratorio, cercare la sensibilizzazione a PR-10 se la sintomatologia respiratoria si prolunga per diversi mesi (da Gennaio a Giugno). La ricerca di IgE specifiche per Bet v 1 e i suoi omologhi è utile anche dove la betulla non sia presente per ragioni climatiche, per la possibile presenza di altri membri della stessa famiglia botanica (nocciolo, faggio, castagno, quercia, carpino).

In ambito alimentare, nei soggetti con Sindrome Orale Allergica da frutta e/o verdura, è utile la ricerca delle IgE sia verso Bet v 1 omologhe dell'alimento per la conferma diagnostica, che verso gli alimenti contenenti molecole cross-reattive, al fine di programmare altri interventi diagnostici (Test di Provocazione Orale) e di fornire consigli dietetici.

5) Which: quali sono i mezzi diagnostici in uso.

Su circa venti alimenti contenenti molecole allergeniche Bet v 1-simili, è attualmente possibile dosare le IgE specifiche solo nei confronti delle PR-10 di sedano (*Api g 1*), kiwi (*Act d 8*), arachide (*Ara h 8*), soia (*Gly m 4*), nocciola (*Cor a 1*) e pesca (*Pru p 1*) mediante CAP system, e della mela (*Mal d 1*) mediante l'ISAC microarray.

Su 9 fonti allergeniche respiratorie contenenti PR-10, la ricerca della IgE specifiche è attualmente possibile solo nei confronti degli omologhi di betulla (Bet v 1) con CAP e ISAC, ontano (*Aln g 1*) e nocciolo (*Cor a 1*) mediante ISAC.

linfocitaria e la mancanza di sintomi acuti alla cronica ingestione che porterebbe alla deplezione di mediatori delle mast cellule. In questi casi gli SPT con estratti commerciali sono spesso molto positivi per la betulla ma spesso negativi per la soia, mentre risulta positivo il PbP con la farina di soia o con bevande di soia ⁴².

L'elenco degli alimenti che contengono Bet v 1 like e le rispettive molecole è illustrato nella Tabella III. Dei circa venti alimenti a oggi conosciuti contenenti molecole allergeniche Bet v 1 simili, è possibile la determinazione di IgE specifiche solo nei confronti delle Bet v 1 del sedano, del kiwi, delle arachidi, della soia, della nocciola e della pesca mediante il CAP system e oltre a queste anche verso le Bet v 1 della mela mediante il test di microarray proteomico (ISAC). Per quanto riguarda gli inalanti, molecole allergeniche di tipo Bet v 1 sono presenti in 9 fonti allergeniche, e di queste è possibile la ricerca delle IgE specifiche verso le singole molecole allergeniche Bet v 1 solo nei confronti della betulla (con CAP e ISAC) e verso le Bet v 1 dell'ontano e del nocciolo (con ISAC).

Bibliografia

- Allergen nomenclature : <http://www.allergen.org/viewallergen.php?aid=129>
- Hauser M, Egger M, Welner M et al. *Molecular properties of plant food allergens: a current classification into protein families*. Open Immunol J 2008;1:1-12.
- Edreva A. *Pathogenesis-related proteins: research progress in the last 15 years*. Gen Appl Plant Physiology 2005;31:105-24.
- Hoffmann-Sommergruber K, Mills ENC. *Food allergen protein families and their structural characteristics and application in component-resolved diagnosis: new data from the EuroPrevall project*. Anal Bioanal Chem 2009;395:25-35.
- Schweimer K., Sticht H, Nerkamp J, et al. *NMR spectroscopy reveals common structural features of the birch pollen allergen Bet v 1 and the cherry allergen Pru a 1*. Appl Magn Reson 1999;17:449-64.
- Marković-Housley Z, Degano M, Lamba D, et al. *Crystal structure of a hypoallergenic isoform of the mayor birch pollen allergen Bet v 1 and its likely biological function as a plant steroid carrier*. J Mol Biol 2003;325:123-33.
- Park CJ, Kim KJ, Shin R, et al. *Pathogenesis-related protein 10 isolated from ot pepper functions as a ribonuclease in an antiviral pathway*. Plant J 2004;37:186-98.
- Gaier S, Marsh J, Oberhuber C, et al. *Purification and structural stability of the peach allergens Pru p 1 and Pru p 3*. Mol Nutr Food Res 2008;52(Supp 2):S220-S229.
- Garcia BE, Lisazo MT. *Cross-reactivity syndromes in food allergy*. J Invest Allergol Clin Immunol 2011;21:162-70.
- Alessandri C, Zennaro D, Zaffiro A, et al. *Molecular allergology approach to allergic diseases in the paediatric age*. Ital J Pediatr 2009;35:29-41.
- WHO. Codex and Hoc Intergovernmental Task Force on Foods Derived from Biotechnology. *Joint FAO/WHO food standards program*. Yokohama: World Health Organization, 2003. <http://www.codexalimentarius.net/>.
- Hauser M, Egger M, Wallner M, et al. *Molecular properties of plant food allergens: a current classification into protein families*. The Open Immunology Journal 2008;1:1-12.
- Aalberse RC, Akkerdeas JH, van Ree R. *Cross-reactivity of IgE antibodies to allergens*. Allergy 2001;56:478-90.
- Geroldinger Simic M, Zelniker T, Aberer W, et al. *Birch pollen-related food allergy: Clinical aspects and the role of allergen-specific IgE and IgG₄ antibodies*. J Allergy Clin Immunol 2011;127:616-22.
- www.allergome.org (sito web di diagnostica molecolare).
- Hauser M, Roulias A, Ferreira F, et al. *Panallergens and their impact on the allergic patient*. Allergy Asthma Clin Immunol 2010;6:1-14.
- Bohle B. *The impact of pollen-related food allergens on pollen allergy*. Allergy 2007;62:3-10.
- Wensing M, Akkerdaas JH, van Leeuwen WA, et al. *IgE to Bet v 1 and profilin: Cross-reactivity patterns and clinical relevance*. J Allergy Clin Immunol 2002;110: 435-42.
- Asero R, Massironi F, Velati C. *Detection of prognostic factors for oral allergy syndrome in patients with birch pollen hypersensitivity*. J Allergy Clin Immunol 1996;97:611-6.
- Asero R. *Relevance of pollen-specific IgE levels to the development of Apiaceae hypersensitivity in patients with birch pollen allergy*. Allergy 1997;52:560-4.
- Hoffmann-Sommergruber K, O'Riordain G, Ahorn H, et al. *Molecular characterization of Dau c 1, the Bet v 1 homologous protein from carrot and its cross-reactivity with Bet v 1 and Api g 1*. Clin Exp Allergy 1999;29:840-7.

- ²² Mittag D, Batori V, Neudecker P, et al. A novel approach for investigation of specific and cross-reactive IgE epitopes on Bet v 1 and homologous food allergens in individual patients. *Molecular Immunology* 2006;43:268-78.
- ²³ Bohle B, Zwölfer B, Heratizadeh A, et al. Cooking birch pollen-related food: Divergent consequences for IgE- and T cell-mediated reactivity in vitro and in vivo. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:242-9.
- ²⁴ Mari A, Wallner M, Ferreira F. Fagales pollen sensitization in a birch-free area: a respiratory cohort survey using Fagales pollen extracts and birch recombinant allergens (rBet v 1, rBet v 2, r Bet v 4). *Clin Exp Allergy* 2003;33:1419-28.
- ²⁵ Mari A. Multiple pollen sensitization: a molecular approach to the diagnosis. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;125:57-65.
- ²⁶ Niederberger V, Pauli G, Grönlund H, et al. Recombinant birch pollen allergens (rBet v 1 and rBet v 2) contain most of the IgE epitopes present in birch, alder, hornbeam, hazel, and oak pollen: a quantitative IgE inhibition study with sera from different populations. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:579-91.
- ²⁷ Hauser M, Asam C, Himly M, et al. Bet v 1-like pollen allergens of multiple Fagales species can sensitize atopic individuals. *Clin Exp Allergy* 2011;41:1804-14.
- ²⁸ Kazemi-Shirazi L, Pauli G, Purohit A, et al. Quantitative IgE inhibition experiments with purified recombinant allergens indicate pollen-derived allergens as the sensitizing agents responsible for many forms of plant food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1999;105:116-25.
- ²⁹ Fernández-Rivas M, Bolhaar S, González-Mancebo E, et al. Apple allergy across Europe: How allergen sensitization profiles determine the clinical expression of allergies to plant foods. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:481-8.
- ³⁰ Kleine-Tebbe J, Vogel L, Crowell DN, et al. Severe oral allergy syndrome and anaphylactic reactions caused by a Bet v 1-related PR-10 protein in soybean, SAM22. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:797-804.
- ³¹ Ballmer-Weber BK, Holzhauser T, Scibilia J, et al. Clinical characteristics of soybean allergy in Europe: a double-blind, placebo-controlled food challenge study. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1489-96.
- ³² Bublin M, Pfister M, Radauer C, et al. Component-resolved diagnosis of kiwifruit allergy with purified natural and recombinant kiwifruit allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:687-94.
- ³³ D'Avino R, Bernardi ML, Wallner M, et al. Kiwifruit Act d 11 is the first member of the ripening-related protein family identified as an allergen. *Allergy* 2011;66:870-7.
- ³⁴ Asero R, Massironi F, Velati C. Detection of prognostic factors for oral allergy syndrome in patients with birch pollen hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:611-6.
- ³⁵ Vereda A, van Hage M, Ahlstedt S, et al. Peanut allergy: Clinical and immunologic differences among patients from 3 different geographic regions. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:603-7.
- ³⁶ Sekercová A, Poláčková M. Detection of Bet v1, Bet v2 and Bet v4 specific IgE antibodies in the sera of children and adult patients allergic to birch pollen: evaluation of different IgE reactivity profiles depending on age and local sensitization. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;154:278-85.
- ³⁷ De Knop KJ, Verweij MM, Grimmelikhuijsen M, et al. Age-related sensitization profiles for hazelnut (*Corylus avellana*) in a birch-endemic region. *Pediatr Allergy Immunol* 2011;22(1 Pt 2):e139-49.
- ³⁸ Associazione Italiana di Aerobiologia. Calendario pollinico da: www.ilpolline.it, Accesso del 29 gennaio 2012.
- ³⁹ Asero R. Birch and ragweed pollinosis north of Milan: a model to investigate the effects of exposure to "new" airborne allergens. *Allergy* 2002;57:1063-6.
- ⁴⁰ Rashid RS, Smith KA, Nambiar KZ, et al. Pollen-food syndrome is related to Bet v 1/PR-10 protein sensitization, but not all patients have spring rhinitis. *Allergy* 2011;66:1391-6.
- ⁴¹ Webber CM, Enland RW. Oral allergy syndrome: a clinical, diagnostic and therapeutic challenge. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2010;104:101-8.
- ⁴² De Swert LFA, Gadisseur R, Siolander S, et al. Secondary soy allergy in children with birch pollen allergy may cause both chronic and acute symptoms. *Pediatr Allergy Immunol* 2012;23:117-23.