

CRD nell'immunoterapia: algoritmi applicabili nella pratica clinica (Rassegna)

Lorenzo Cecchi

Sezione di Allergologia ed Immunologia Clinica, Azienda Sanitaria 4, Prato

INTRODUZIONE

L'introduzione della CRD ha rapidamente rivoluzionato la diagnostica dell'allergia alimentare e il concetto di crossreattività fra pollini ed alimenti come illustrato nei precedenti capitoli di questa rassegna. Nelle malattie allergiche respiratorie, l'utilizzo delle singole componenti allergeniche è forse meno immediato ma promette straordinari sviluppi soprattutto nel senso di una maggiore appropriatezza prescrittiva dell'immunoterapia specifica (ITS). L'ITS consiste nel somministrare al soggetto allergico quantità progressivamente crescenti di un estratto contenente l'allergene con lo scopo di ridurre la sintomatologia provocata dalla esposizione all'allergene utilizzato. La selezione del paziente rappresenta un momento fondamentale di questa terapia. Infatti, trattandosi di un trattamento lungo e costoso è assolutamente necessario che si stabilisca con la maggior precisione possibile l'allergene responsabile della sintomatologia. Se ciò è relativamente semplice nel caso di un paziente monosensibile, cioè sensibile ad un solo allergene, l'esperienza clinica e i più recenti studi epidemiologici¹ mostrano che è molto frequente confrontarsi con polisensibilizzazioni in particolare nei paesi mediterranei, dove le piante che producono pollini allergenici sono particolarmente numerose². In questi casi, l'avvento della CRD ha permesso di diagnosticare con maggior accuratezza i pazienti da sottoporre ad ITS, soprattutto per mezzo dell'individuazione di coloro che sono allergici ai panallergeni e delle cross-reattività fra specie botanicamente correlate.

Come vedremo, l'approccio diagnostico molecolare necessita di un cambiamento della tradizionale classificazione degli allergeni.

In una visione più generale, l'utilizzo delle molecole nella diagnostica allergologica va parallelamente all'evoluzione della preparazione degli estratti per l'ITS e dell'aerobiologia. Infatti, è ormai consuetudine fornire informazioni sul contenuto espresso in µg di alcuni allergeni nei preparati per ITS, come per l'esempio del Phl p 5 nell'ITS per graminacee. Dall'altra parte, i progressi nel campo dell'aerobiologia, cioè della scienza che si occupa dello studio, fra l'altro, degli aeroallergeni aerodispersi, hanno permesso di mettere a punto tecniche di misurazione delle singole componenti allergeniche nell'aria.

LA CLASSIFICAZIONE IN BASE ALL'OMOLOGIA

Come accennato nell'introduzione, l'utilizzo della diagnostica molecolare ha permesso di vedere sotto una luce diversa la classificazione degli allergeni coinvolti nelle patologie allergiche respiratorie. Lorenz et al³ hanno recentemente proposto una classificazione che si basa sostanzialmente su due criteri: caratteristiche fisico-chimi-

che e biologiche comparabili; la crossreattività tra le fonti allergeniche dimostrate dalla crossreattività dei singoli allergeni. Partendo da questi presupposti, sono stati individuati i seguenti gruppi di allergeni derivati da: piante arboree, graminacee, erbe, acari e vertebrati. Gli allergeni che caratterizzano i pollini di alberi, sono essenzialmente del gruppo della betulla (ontano, carpino, nocciolo, olmo e quercia), delle *Oleaceae* (olivo, ligustro e frassino) e delle *Cupressaceae* (cipresso e ginepro). In questi casi questa classificazione è identica a quella di tipo botanico, usata correntemente; tuttavia, l'uso delle molecole permette di sostanziarla tramite l'omologia tra gli allergeni. Per esempio, nel caso del gruppo della betulla, esiste un'elevata omologia tra gli allergeni maggiori Bet v 1 della betulla, Aln g 1 dell'ontano, Cor a 1 del nocciolo e Car b 1 del carpino; tuttavia del gruppo fa parte anche la quercia che, nonostante sia da ascrivere alla famiglia delle *Fagaceae*, ha come allergene maggiore il Que a 1, omologo del Bet v 1 (Tab. 1)

La famiglia delle *Poaceae* nelle zone temperate consta di oltre 2000 specie ma soltanto 20 di queste sono implicate nell'allergia ai pollini di graminacee. Fino ad oggi sono stati identificati 11 gruppi di allergeni capaci di indurre una risposta IgE specifica; la maggior parte dei pazienti ha IgE specifiche rivolte verso i gruppi 1 e 5⁴. Un ampio studio epidemiologico eseguito in Italia, conferma l'importanza degli allergeni dei gruppi 1 e 5 del *Phleum pratense*, e che gli altri gruppi, nel caso specifico Phl p 2, p 3, p 4, p 6, p 7, p 11 rivestono un ruolo secondario⁵. Da un punto di vista pratico, è importante sottolineare l'elevata omologia tra gli allergeni maggiori del *Phleum pratense* e quelli di gran parte delle specie presenti nel nostro paese. A titolo di esempio, il Phl p 1 del *Phleum pratense* è un omologo al Lol p 1 del *Lolium perenne*, al Poa p 1 della *Poa pratensis*, al Dac g 1 del *Dactylis glomerata*, al Hol l 1 dell'*Holcus lanatus*.

Applicando il criterio classificativo dell'omologia è possibile anche raggruppare gli allergeni dei pollini delle cosiddette erbe infestanti (*weed*), ambrosia, artemisia e

Tabella 1

Gruppi omologhi di pollini provenienti da piante arboree

ALBERI		
"gruppo betulla"	<i>oleaceae</i>	<i>cupressaceae</i>
betulla	olivo	cipresso
ontano	frassino	ginepro
carpino	ligustro	
nocciolo		
quercia		

Da Rif. 3 (modificata)

parietaria, in particolare per la presenza di omologia tra alcuni allergeni, come Amb a 6, Art v 3 e Par j 1, molecole facenti parte della famiglia delle *Lipid Transfer Protein* (LTP)⁶.

L'UTILIZZO NELLA PRATICA CLINICA

Diagnostica

Eterogeneità degli estratti

La dimostrazione di una sensibilizzazione IgE mediata si avvale in prima istanza dei *prick test* ed è per questo fondamentale che gli estratti utilizzati per questa procedura contengano tutti gli allergeni rilevanti.

L'eterogeneità degli estratti utilizzati per i *prick test* è un problema ben conosciuto da tutti coloro che praticano la diagnostica allergologica. Solo l'esperienza clinica permette di selezionare gli estratti in modo da poterli utilizzare per confermare una sensibilizzazione. Tale osservazione assume ancor più importanza se consideriamo che spesso gli estratti utilizzati per la diagnostica vengono poi utilizzati anche per costituire i preparati per l'ITS. L'approccio molecolare ha permesso anche in questo caso di gettare nuova luce su questo problema. Negli ultimi anni vari studi hanno analizzato gli estratti per *prick test* mostrando differenze talvolta molto significative. Considerata l'elevata importanza dell'allergene Bet v 1 nella sensibilizzazione ai pollini di betulla⁷, in particolare nel centro-nord Europa, è di grande interesse l'osservazione pubblicata da Focke et al.⁸ sugli estratti di betulla. Nel suo studio, il contenuto di Bet v 1 nell'estratto commerciale di 5 diverse aziende varia di 13 volte, passando da 1,62 a 19,61 µg. E' probabile che questa differenza siano comunque in grado di identificare tutti i soggetti con allergia ai pollini di betulla, ma la diagnostica potrebbe non essere sufficientemente affidabile per le deboli sensibilizzazioni. Anche gli estratti utilizzati per la diagnostica della sensibilizzazione alle graminacee presentano un'elevata eterogeneità. In uno studio sugli estratti per *prick test* di 4 aziende, lo stesso gruppo ha evidenziato una differenza fino a 10 volte nel contenuto totale di proteine, una significativa differenza nel contenuto di allergeni maggiori e, infine, l'assenza di alcuni importanti allergeni in alcuni estratti, probabilmente a causa della degradazione durante il processo di estrazione. Interessante notare che, negli estratti testati, la maggior variabilità è stata riscontrata per il Phl p 5⁹. Risultati simili sono stati recentemente ottenuti in uno studio su 8 estratti per *prick test* per acari della polvere, *D. pteronyssinus* e *D. farinae*, nei quali è stata osservata un'elevata variabilità del contenuto proteico e degli allergeni maggiori, Der p 1 e Der f 1¹⁰. In questo caso queste differenze sembrano in grado di inficiare la capacità di diagnosticare la sensibilizzazione agli acari, generando risultati falsamente negativi. Come accennato precedentemente, ciò può determinare una scarsa efficacia dell'immunoterapia, sia per un problema di selezione dei pazienti sia per il contenuto degli estratti, mancanti degli allergeni maggiori⁹. E' importante sottolineare che le differenze osservate in questi studi sono in buona parte determinate dalla naturale variabilità della concentrazione di allergeni e di proteine in generale nei pollini. Esistono infatti numerose evidenze di come il contenuto allergenico dei pollini

possa variare al variare di cultivar delle piante¹¹, condizioni climatiche¹², anni di raccolta¹³ e stadi di maturazione¹⁴.

Allo stato attuale è estremamente improbabile che si giunga in breve tempo ad una produzione di estratti allergenici dei quali si conosca la composizione in termini di allergeni maggiori e minori e del loro contenuto espresso in µg/ml. Tuttavia, la strada intrapresa da alcune aziende sembra promettente in vista di una futura standardizzazione degli estratti, quantomeno in termini di comparabilità. E' infatti probabile che l'efficacia diagnostica degli estratti sia diversa in diverse aree geografiche, poiché è ormai chiaro che i profili di sensibilizzazione variano in modo significativo¹⁵.

Una possibile soluzione sembra l'aggiunta di allergeni ricombinanti all'estratto naturale, in parte già adottata nel caso del lattice¹⁶.

Panallergeni

I panallergeni sono proteine con sequenza aminoacidica altamente conservate, distribuite diffusamente anche in piante non botanicamente correlate. Quelli di maggior interesse per la diagnostica delle allergie respiratorie perché responsabili di ampie crossreattività tra pollini sono la Profilina, le *Calcium Binding Protein* (CBP) e i *Crossreactive Carbohydrate Determinants* (CCD).

Le CBP sono state identificate come importanti proteine allergeniche nella maggior parte delle piante sia erbacee che arboree di interesse allergologico¹⁷ e sono spesso associate ad asma più severo rispetto alle profiline¹⁸. Possono essere considerate come i "marcatori della polisensibilizzazione" a pollini e non sono implicate nella cosiddetta *plant-food allergy*. Fanno parte di questa famiglia, Bet v 4 della betulla e Phl p 7 del *Phleum pratense*, attualmente i più facilmente utilizzabili per la diagnostica *in vitro* di sensibilizzazione alle CBP nelle malattie allergiche respiratorie.

La profilina è un panallergene che mostra un'elevata omologia e cross-reattività anche tra specie botanicamente non correlate. Nell'ambito della diagnostica delle malattie allergiche respiratorie, è importante sospettare una sensibilizzazione alla profilina quando ci si trovi di fronte a numerose positività, talvolta con scarsa relazione con la sintomatologia e presenza di sindrome orale allergica¹⁹. In questi casi sono disponibili alcune profiline per la diagnostica *in vitro*, in particolare quella della betulla, il Bet v 2 e quella del *Phleum pratense*, il Phl p 12. Recentemente è diventato disponibile anche l'estratto per la diagnostica *in vivo* mediante *prick test*, ottenuto dalla profilina della palma da dattero (Pho d 2).

I CCD sono ampiamente distribuiti in piante ed animali invertebrati e possono originare positività *in vitro* legando molti allergeni differenti²⁰. In un gruppo di oltre 1800 pazienti Mari ha evidenziato che il 23% di essi aveva anticorpi anti bromelina, dimostrando che gli anticorpi anti-CCD possono condurre a falsi positivi se si usano estratti per la diagnostica *in vitro*²¹. Anche se è in atto un'accesa discussione sull'importanza clinica dei CCD²², al momento, almeno nelle patologie allergiche respiratorie, la ricerca delle IgE anti-CCD è utile quando si presentino estese polisensibilizzazioni *in vitro*, con clinica modesta o assente.

L'utilità pratica della CRD è particolarmente evidente

nei casi di polisensibilizzazione, che con l'utilizzo degli estratti può essere erroneamente attribuita ad una co-sensibilizzazione piuttosto che ad una crossreattività determinata da panallergeni. Infatti, la possibilità di dosare le IgE specifiche nei confronti dei panallergeni e degli allergeni marcatori delle principali fonti allergeniche permette di identificare un'indicazione per l'ITS, anche nei soggetti con sensibilizzazioni cutanee multiple a pollini con periodi di fioritura sovrapposti²³.

AEROBIOLOGIA MOLECOLARE

Come per la diagnostica, anche per l'aerobiologia si sta assistendo, negli ultimi anni, ad una "rivoluzione" in senso molecolare. Infatti anche nell'aerobiologia è iniziato il percorso che porta dalla conta dei pollini alla misurazione del contenuto allergenico dei pollini e, probabilmente, di particelle submicroniche o paucimicroniche; in altre parole al "carico allergenico" (*allergenic load*) dell'aria al quale la popolazione allergica è esposta. Ciò assume una particolare importanza alla luce delle recenti osservazioni che evidenziano come il contenuto di allergene non segua la conta dei pollini²⁴, come la variazione della concentrazione di allergeni nei pollini vari in base a differenti cultivar della stessa specie, come nel caso dell'olivo²⁵ o in diverse aree ed in diversi anni, come nel caso della betulla¹³. Infatti sia la letteratura scientifica che l'esperienza clinica suggeriscono che non sempre è dimostrabile una relazione tra conta dei pollini e insorgenza o intensità dei sintomi ed in questo l'aerobiologia molecolare potrà dare senz'altro un contributo determinante. Una possibile applicazione in campo terapeutico dell'aerobiologia molecolare emerge da un interessante studio di Barber et al.¹⁵, che mostra la variabilità del profilo molecolare dei pazienti in diverse aree della Spagna, per esempio in termini di prevalenza della sensibilizzazione al Phl p 1 e Phl p 5. E' possibile che tali variazioni siano in parte dovute alle differenze nel contenuto allergenico dei pollini, come suggerito dagli studi citati all'inizio di questo capitolo. Se confermata da studi appositamente disegnati, questa ipotesi potrebbe portare ad una produzione di ITS con miscele o concentrazioni di allergeni selezionate in base al profilo molecolare allergologico e aerobiologico specifici dell'area.

ALCUNI ALGORITMI PER LA SCELTA DELL'IMMUNOTERAPIA

Al momento, l'ITS, sia iniettiva che sublinguale, rappresenta l'unica terapia allergene-specifica, causale ed in grado di modificare la storia naturale della malattia. Tuttavia, nel caso della ITS per le allergie respiratorie, l'efficacia non è sempre soddisfacente, in particolare per quanto riguarda alcuni estratti come quelli di cane e gatto e le muffe²⁶. In generale possiamo dire che alcuni fattori limitano l'efficacia dell'ITS. Probabilmente la massima efficacia non è raggiungibile per l'impossibilità di aumentare le dosi senza incorrere in effetti collaterali che, in questo caso, sono rappresentati dall'anafilassi. In secondo luogo è probabile che gli estratti utilizzati per l'ITS (e, come sappiamo anche per gli estratti) non contengono tutte le molecole allergeniche⁹. Infine, alcuni studi dimostrano che la somministrazione di estratti allergenici naturali è in grado

di indurre una nuova sensibilizzazione nei confronti degli allergeni presenti nell'estratto che non erano presenti prima dell'ITS²⁷. Tuttavia, la selezione del paziente da sottoporre a ITS, rappresenta forse il momento più importante della diagnostica allergologica ed è su questo aspetto che la CRD può fornire un contributo importante. E' chiaro che fintanto che il contenuto degli allergeni, almeno di quelli maggiori, negli estratti per l'ITS non sarà espresso in $\mu\text{g/ml}$ non sarà possibile sfruttare tutte le potenzialità della CRD. Sicuramente, al momento essa permette già, come ricordato nei precedenti paragrafi, di recuperare per l'ITS parte dei soggetti polisensibili.

Un passo importante in questa direzione è rappresentato dal *Position Paper* della *World Allergy Organization* (WAO) nel quale, nel capitolo riguardante la metodologia da applicare negli studi clinici con l'ITS sublinguale, si raccomanda di utilizzare estratti per i quali sia espressa la concentrazione in $\mu\text{g/ml}$ degli allergeni maggiori più importanti²⁸.

Di seguito abbiamo riportato alcune indicazioni pratiche, ove utile corredate da un algoritmo, per l'utilizzo della CRD per la prescrizione dell'ITS per i pollini di maggiore importanza nel nostro paese e per gli acari.

Graminacee

Come accennato precedentemente anche nel caso degli estratti per immunoterapia si ripresenta il problema dell'eterogeneità. La ragione di ciò è che gli estratti per *prick test* sono usualmente usati per produrre i preparati per l'immunoterapia. Alcuni studi hanno recentemente dimostrato differenze significative nel contenuto allergenico di estratti per immunoterapia presenti sul mercato; di particolare interesse appaiono i risultati che riguardano il contenuto di Phl p 5²⁹.

Numerosi studi in vivo ed in vitro dimostrano che gli allergeni Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5 e Phl p 6 del *Phleum pratense* (codolina) rappresentano la maggior parte dell'attività allergenica delle graminacee a causa dell'elevata crossreattività³. In particolare Phl p 1, Phl p 5 e, in grado appena inferiore Phl p 4, sembrano rappresentare i più importanti allergeni in termini di prevalenza nella popolazione sensibilizzata ai pollini di graminacee, anche in una casistica italiana³⁰. La loro importanza è confermata anche da uno studio clinico nel quale è dimostrata l'efficacia di un'immunoterapia con una miscela di Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5 e Phl p 6 ricombinanti in pazienti con allergia alle graminacee³¹. Tuttavia, il dibattito sulla scelta degli estratti per l'ITS per graminacee è ancora aperto, fra la tendenza ad utilizzare una selezione di allergeni maggiori di una singola specie e quella di scegliere una miscela per riprodurre la naturale eterogeneità degli allergeni maggiori^{32,33}.

Quindi, per una corretta individuazione del paziente da sottoporre a ITS, occorre che, oltre ai classici criteri clinici, cioè sintomi presenti nel periodo di fioritura delle graminacee, sia presente anche una sensibilizzazione ad almeno uno degli allergeni maggiori, cioè Phl p 1 e 5^{34,35} (Fig.1). Per il momento tale affermazione è basata sull'esperienza clinica e su criteri speculativi poiché non esistono al momento studi che abbiano valutato l'efficacia dell'ITS in soggetti con negatività per uno o tutti gli allergeni maggiori.

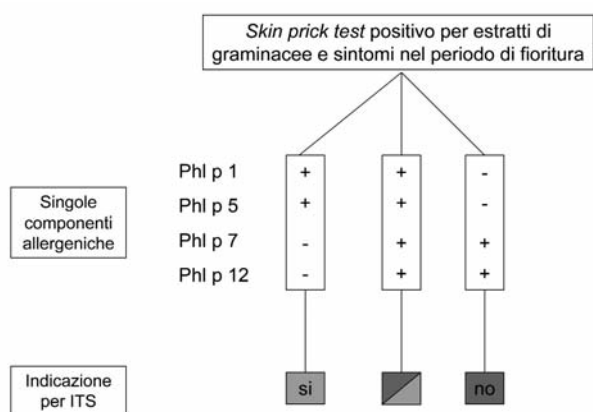


Figura 1
Proposta per algoritmo per l'identificazione del paziente da sottoporre ad ITS per graminacee

Parietaria

L'allergia alla Parietaria è una delle più rilevanti nel bacino del Mediterraneo². Lo studio e l'analisi degli estratti di *Parietaria judaica* hanno portato all'isolamento ed alla caratterizzazione dei due allergeni maggiori, Par j 1 e Par j 2³⁶ che appartengono alla famiglia delle LTP non specifiche e che rappresentano i marcatori di sensibilizzazione ai pollini di parietaria. Successivamente sono stati caratterizzate anche una profilina, Par j 3³⁷ ed una CBP, Par j 4³⁸. La possibilità di identificare i soggetti realmente sensibili agli allergeni maggiori della parietaria è di fondamentale importanza per una corretta prescrizione dell'ITS. Infatti, come dimostrato da Rossi et al.³⁹, in una zona con bassa presenza di *Parietaria*, solo il 33,2% dei soggetti risultati positivi allo *skin prick test* era sensibilizzato al Par j 2, mentre la restante parte era in realtà positiva per profiline e/o CBP.

Ai fini di una corretta prescrizione dell'ITS per parietaria è quindi necessaria la conferma della positività delle IgE specifiche per i due allergeni maggiori Par j 1 e Par j 2; in considerazione dell'elevata omologia tra i due allergeni, sembra al momento sufficiente la positività ad uno dei due per formulare la diagnosi di sensibilizzazione a parietaria⁶. Ai fini pratici è bene sottolineare che al momento è disponibile soltanto il Par j 2 per la diagnostica *in vitro*.

La CRD è di particolare utilità nei frequenti casi di test cutanei positivi con estratti di parietaria e graminacee, che presentano periodi di fioritura in parte sovrapposti in molte aree del nostro paese. In questi casi l'uso delle singole componenti allergeniche permette di evidenziare le vere sensibilizzazioni da quelle determinate da panallergeni, in questo caso dalle CBP. Uno schema esemplificativo è riportato in Figura 2.

Corilacee/Betulacee

Gli alberi facenti parte delle famiglie delle *Corilacee* e delle *Betulacee* sono ampiamente distribuiti in tutto il nostro paese e, in considerazione dell'elevata omologia degli allergeni maggiori, possono essere raccolti nel "gruppo omologo della betulla", secondo la classificazione proposta da Lorenz et al.³. La altissima crossreattività fra gli estratti per *prick test* di betulla, nocciolo, ontano e carpino è bagaglio comune di ogni allergologo, tanto che ormai gli estratti vengono utilizzati indifferenteemente per diagnosticare la sensibilizzazione a queste piante arboree. In questo caso la CRD ha permesso di scoprire che i pattern di sensibilizzazione alla betulla sono diversi nel nord e nel sud Europa. In pratica, se nella popolazione di allergici alla betulla dei paesi settentrionali la prevalenza di positività per l'allergene maggiore Bet v 1 è quasi del 100%, nel sud Europa hanno grande importanza la profilina (Bet v 2) e la CBP (Bet v 4)⁷. In Italia la prevalenza della sensibilizzazione nei confronti del Bet v 1 fra i soggetti positivi all'estratto di betulla, è circa del 56%⁴⁰. Ai fini pratici questa osservazione riveste un'importanza straordinaria poiché la CRD è in grado di individuare la vera sensibilizzazione alla betulla dalla sensibilizzazione ai due panallergeni profilina e CBP. Se è vero che la diagnosi di sensibilizzazione può essere anche ipotizzata con l'utilizzo dei *prick test*, la diagnosi di certezza è possibile solo con la diagnostica *in vitro*. Infatti, con i test cutanei è possibile diagnosticare una sensibilizzazione a profilina ed un'estesa positività per i pollini permette di sospettare una sensibilizzazione alla CBP; tuttavia la ricerca delle IgE specifiche per Bet v 1 rende possibile identificare il paziente da sottoporre ad ITS. Detto questo appare come l'utilizzo della CRD per l'identificazione dei soggetti candidati ad ITS per betulla sia relativamente semplice nelle aree dove questa pianta è ben rappresentata; la presenza di IgE specifiche per Bet v 1 e

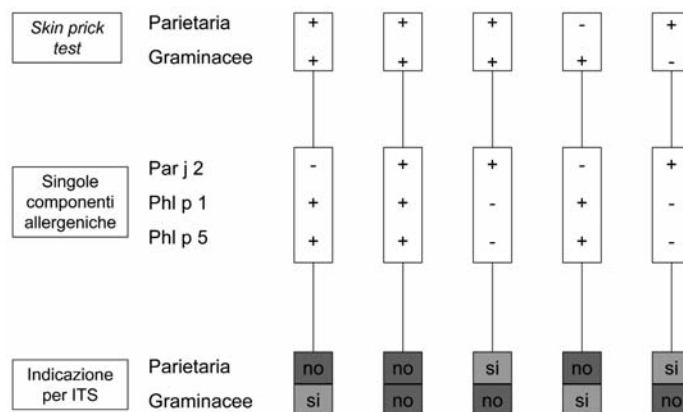


Figura 2
Proposta per algoritmo per una scelta appropriata dell'ITS per graminacee e parietaria

la periodicità dei sintomi sono infatti sufficienti per prescrivere la terapia. Al contrario, nelle aree dove prevalgono nocciolo, carpino e/o ontano l'utilizzo della ITS per betulla è meno ovvio. Se teniamo in considerazione l'elevatissima omologia tra gli allergeni maggiori di questo gruppo di alberi, Bet v 1, Aln g 1, Car b 1 e Cor a 1^{41,42} dimostrata anche in studi clinici eseguiti in aree dove la betulla non è presente⁴³ potremmo prescrivere l'ITS per betulla anche per i pazienti con sintomi riconducibili ai periodi di pollinazione di queste piante. Al momento non sono tuttavia disponibili studi clinici che dimostrino l'efficacia dell'ITS per betulla in questi soggetti; è auspicabile che tale lacuna venga colmata nei prossimi anni.

Anche da quest'ultima osservazione emerge come l'approccio diagnostico molecolare permetta di semplificare e chiarire alcuni aspetti diagnostici e soprattutto prospettare nuove soluzioni terapeutiche. Un esempio di possibile percorso diagnostico per la prescrizione di ITS per *betulacee/corilacee* è riportato in Figura 3.

Acari della polvere

Per numero e complessità gli allergeni degli acari della polvere domestica dovrebbero rappresentare un problema diagnostico e terapeutico. Infatti, nelle due specie più comuni *D. pteronyssinus* e *D. farinae*, sono stati identificati oltre 20 allergeni⁴⁴, 15 dei quali presentano un elevato grado di omologia nelle due specie. Quest'ultimo aspetto permette però di semplificare la pratica clinica tanto che è possibile considerare le due fonti allergeniche sostanzialmente equivalenti. Al momento, anche in considerazione della disponibilità di test *in vitro*, una sensibilizzazione nei confronti degli allergeni maggiori degli acari della polvere, cioè Der p 1 e Der p 2, permettono di diagnosticare una vera allergia agli acari⁴⁵. In uno studio multicentrico europeo questi due allergeni sono stati in grado di individuare oltre il 97% dei pazienti⁴⁶. Alcuni autori suggeriscono che una positività ad un altro allergene maggiore, il Der p 10, una tropomiosina responsabile tra l'altro della crossreattività fra acari e crostacei, sia predittiva per una minore efficacia dell'ITS⁴⁷. Quindi nel caso dell'allergia agli acari della polvere, la CRD può contribuire ad una migliore selezione dei pazienti, soprattutto se teniamo in considerazione la già citata eterogeneità degli estratti. Al momento rimane ancora difficile, sia con la diagnostica convenzionale che con la CRD, eseguire una diagnosi differenziale tra i pazienti con rinite e/o asma persistente non allergica ed allergica agli acari.

Ambrosia

I pollini di ambrosia rappresentano un'importante causa di allergia respiratoria nell'Europa Centrale e Orientale e, nel nostro paese, soprattutto nelle regioni settentrionali e nord-orientali²; in Italia centrale e meridionale la pianta è virtualmente assente e spesso i pollini provengono da altre aree attraverso il trasporto a lunga distanza⁴⁸. L'identificazione del paziente da sottoporre ad ITS per ambrosia presenta qualche difficoltà in quei soggetti con sensibilizzazione ad artemisia. Infatti, anche se l'artemisia ha un'importanza allergologica notevolmente inferiore, ha un periodo di fioritura sostanzialmente sovrapposto

a quello dell'ambrosia; inoltre, la contemporanea sensibilizzazione ai due pollini è piuttosto frequente, essendo entrambe le piante della famiglia delle *Compositae*. Tuttavia, le ragioni di tale osservazione non sono ancora chiare, non essendo ancora stata dimostrata una crossreattività elevata tra gli allergeni maggiori delle due fonti allergeniche⁴⁹. Al momento in caso di un soggetto con sintomi tardo estivi e test cutanei positivi per estratti di artemisia e ambrosia, la ricerca delle IgE specifiche per Amb a 1 e Art v 1 potrebbe essere sufficiente per orientare la scelta dell'ITS.

Cipresso

Il gruppo delle *Cupressaceae* è rappresentato soprattutto dal cipresso, di grandissima importanza allergologica in molte aree dell'Italia centrale. L'allergene maggiore sono Cup a 1 del *Cupressus arizonica*, presente solo come pianta ornamentale e il Cup s 1 del *Cupressus sempervirens*, naturalizzato e molto diffuso soprattutto in alcune regioni come la Toscana e l'Umbria. Cup a 1 e Cup s 1 presentano un elevato grado di omologia³ ed il primo è disponibile per la CRD. Gli allergeni del cipresso non sono stati estesamente caratterizzati ed al momento non sono stati individuati panallergeni; attualmente sembra ragionevole prescrivere una ITS per pollini di cipresso nei soggetti con stagionalità dei sintomi compatibile con il periodo di fioritura (generalmente tardo-invernale) e positività per Cup a 1. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi per supportare questa indicazione pratica.

Olivo

Come precedentemente accennato le *Oleaceae* presentano un elevato grado di cross-reattività. Tuttavia, da un punto di vista allergologico, l'olivo rappresenta la fonte allergenica più importante, soprattutto nel centro-sud Italia⁵⁰. La sensibilizzazione ad Ole e 1, l'allergene maggiore del polline di olivo, può essere considerata la conferma di una allergia ai pollini di olivo nell'area mediterranea⁵¹ e di allergia ai pollini di frassino nelle altre aree. La selezione del paziente da sottoporre ad ITS per olivo è resa particolarmente complessa sia per la sovrapposizione dei periodi di fioritura con quelli di graminacee e parie-

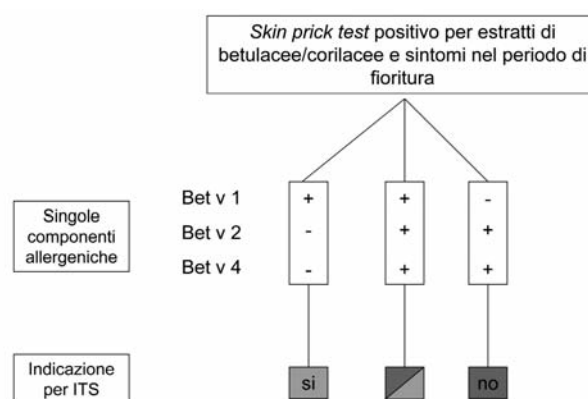


Figura 3
Proposta per algoritmo per una scelta appropriata dell'ITS per betulacee/corilacee

taria in molte aree italiane, sia per la presenza di allergeni cross reattivi e panallergeni che rendono abbastanza inusuale il riscontro di monosensibilizzazioni. Infatti, nell'ambito degli allergeni del polline di olivo sono stati individuati una profilina (Ole e 2) ed una CBP (Ole e 3). Tuttavia, l'omologia tra l'Ole e 1 e gli allergeni del gruppo 11 delle graminacee (Phl p 11, disponibile per la diagnostica *in vitro*)⁵² è la causa principale della frequentissima concomitante positività di olivo e graminacee nella diagnostica con estratti per *prick test*. In questi casi, la positività per Ole e 1 e la negatività degli allergeni maggiori delle graminacee potrebbe identificare un soggetto con un'alta probabilità di ottenere benefici clinici dalla ITS per olivo.

BIBLIOGRAFIA

1. **Burbach GJ, Heinzerling LM, Edenharter G, et al.** GA(2)LEN skin test study II: clinical relevance of inhalant allergen sensitizations in Europe. *Allergy*. 2009;64:1507-15
2. **D'Amato G, Cecchi L, Bonini S, et al.** Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy*;2007;62, 976-90
3. **Lorenz AR, Lüttkopf D, May S, et al.** The Principle of Homologous Groups in regulatory affairs of allergen products. *Int Arch Allergy Immunol* 2009;148:1-17
4. **Andersson K, Lidholm J.** Characteristics and immunobiology of grass pollen allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2003;130:87-107
5. **Mari A.** Skin test with a timothy grass (*Phleum pratense*) pollen extract vs IgE to a Timothy extract vs IgE to rPhl p 1, rPhl p 2, nPhl p 4, rPhl p 5, rPhl p 6, rPhl p 7, rPhl p 11, and rPhl p 12: epidemiological and diagnostic data. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 43-51
6. **Stumvoll S, Westritschnig K, Lidholm J, et al.** Identification of crossreactive and genuine *Parietaria judaica* pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111:974-9
7. **Moverare R, Westritschnig K, Svensson M et al.** Different IgE reactivity profiles in birch pollen-sensitive patients from six European populations: An imprint of local sensitization. *Int. Arch. Allergy Immunol*. 2002;128:325-35
8. **Focke M, Marth K, Valenta R.** Molecular composition and biological activity of commercial birch pollen allergen extracts. *Eur J Clin Invest*, 2009;39:429-36
9. **Focke M, Marth K, Flicker S, Valenta R.** Heterogeneity of commercial timothy grass pollen extracts. *Clin Exp Allergy*, 2008; 38: 1400-8
10. **Brunetto B, Tinghino R, Braschi M.C, et al.** Characterization and comparison of commercially available mite extracts for *in vivo* diagnosis. *Allergy*, 2010;65:184-90
11. **Castro AJ, de Dios Alche J, Cuevas J, et al.** Pollen from different olive tree cultivars contains varying amounts of the major allergen Ole e 1. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 131:164-73
12. **Hjelmroos M, Schumacher MJ, Van Hage-Hamsten M.** Heterogeneity of pollen proteins within individual *Betula pendula* trees. *Int Arch Allergy Immunol* 1995; 108:368-76
13. **Buters JT, Kasche A, Weichenmeier I, et al.** Year-to-year variation in release of Bet v 1 allergen from birch pollen: evidence for geographical differences between West and South Germany. *Int Arch Allergy Immunol*. 2008;145:122-30
14. **Mittermann I, Swoboda I, Pierson E et al.** Molecular cloning and characterization of profilin from tobacco (*Nicotina tabacum*): increased profilin expression during pollen maturation. *Plant Mol Biol* 1995; 27:137-46
15. **Barber D, de la Torre F, Feo F, et al.** Understanding patient sensitization profiles in complex pollen areas: a molecular epidemiological study. *Allergy*. 2008;63(15):50-8.
16. **Lundberg M, Chen Z, Rihs HP, et al.** Recombinant spiked allergen extract. *Allergy* 2001; 56:794-5
17. **Wopfner N, Dissertori O, Ferreira F, Lackner P.** Calcium-binding proteins and their role in allergic diseases. *Immunol. Allergy Clin. N. Am.* 2007;27: 29-44
18. **Mari A.** Multiple pollen sensitization: a molecular approach to the diagnosis. *Int. Arch. Allergy Immunol* 2001;125: 57-65
19. **Kazemi-Shirazi L, Niederberger V, Linhart B, et al.** Recombinant marker allergens: diagnostic gatekeepers for the treatment of allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;127:259-68
20. **Aalberse RC, Van Ree R.** Crossreactive carbohydrate determinants. *Clin Rev Allergy Immunol*, 1997; 15:375-87
21. **Mari A.** IgE to cross-reactive carbohydrate determinants: analysis and appraisal of the *in vivo* and *in vitro* reactivity. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;129:286-95
22. **Commins SP, Platts-Mills TA.** Anaphylaxis syndromes related to a new mammalian cross-reactive carbohydrate determinant. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124:652-7
23. **Valenta R, Twaroch T, Swoboda I.** Component-Resolved Diagnosis to Optimize Allergen-Specific Immunotherapy in the Mediterranean Area *J Investig Allergol Clin Immunol* 2007; 17: S1 88-92
24. **Buters JT, Weichenmeier I, Ochs S, et al.** The allergen Bet v 1 in fractions of ambient air deviates from birch pollen counts *Allergy* 2010; in stampa
25. **Barber D, Moreno C, Ledesma A, et al.** Degree of olive pollen exposure and sensitization patterns. Clinical implications. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2007;17 Suppl 1:11-6
26. **Bousquet J, Lockey R, Malling HJ.** Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. A WHO position paper. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102:558-62.
27. **van Hage-Hamsten M, Valenta R.** Specific immunotherapy – the induction of new IgE-specificities? *Allergy* 2002; 57:375-8

28. World Allergy Organization Position Paper 2009. Sub-Lingual Immunotherapy. *Allergy*, 2009;64: s91:1-59
29. **I Sander, C Fleischer, U Meurer, et al.** Allergen content of grass pollen preparations for skin prick testing and sublingual immunotherapy. *Allergy*. 2009;64:1486-92
30. **Rossi R, Monasterolo G, Prina P, et al.** IgE profiles of Bermuda grass pollen sensitized patients evacuate by *Phleum pratense* allergens Phl p 1,2,4,5,6,7,11,12. *Allergology International*, 2008;57:157-64
31. **Jutel M, Jaeger L, Suck R, et al.** Allergen-specific immunotherapy with recombinant grass pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:608-13
32. **Moingeon P, Hrabina M, Bergmann KC, et al.** Specific immunotherapy for common grass pollen allergies: pertinence of a five grass pollen vaccine. *Int Arch Allergy Immunol*. 2008;146:338-42
33. **Chabre H, Gouyon B, Huet A et al.** Molecular variability of group 1 and 5 grass pollen allergens between Pooideae species: implications for immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 2010; 40: 505-19
34. **M. Hrabina M, Peltre G, Van Ree R, et al.** Grass pollen allergens. *Clin Exp Allergy Reviews*, 2008; 8: 7-11
35. **Mothes N, Valenta R, Spitzauer S.** Allergy testing: the role of recombinant allergens. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:125-32
36. **Colombo P, Bonura A, Costa M, et al.** The allergens of *Parietaria*. *Int. Arch. Allergy Immunol*, 2003;130, 173-79
37. **Asturias JA, Ibarrola I, Eseverri JL, et al.** PCR-based cloning and immunological characterization of *Parietaria judaica* pollen profilin. *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.*2004;14, 43-8
38. **Bonura A, Gulino L, Trapani A, et al.** Isolation, expression and immunological characterization of a calcium-binding protein from *Parietaria* pollen. *Molecular Immunology*, 2008;45:2465-73
39. **Rossi RE, Monasterolo G, Coco G, et al.** Possible relationship between systemic side effects and sensitization to rPar j 2 in allergic patients submitted to an ultra-rush (20 min) sublingual immunotherapy and selected by component resolved diagnosis. *Int. Arch. Allergy Immunol*. 2005;138: 105-10
40. **Rossi RE, Monasterolo G, Monasterolo S.** Detection of specific IgE antibodies in the sera of patients allergic to birch pollen using recombinant allergens Bet v 1, Bet v 2, Bet v 4: evaluation of different IgE reactivity profiles. *Allergy*, 2003;58:929-32
41. **Ipsen H, Hansen OC.** The NH 2-terminal amino acid sequence of the immunochemically partial identical major allergens of alder (*Alnus glutinosa*) Aln g 1, birch (*Betula verrucosa*) Bet v 1, hornbeam (*Carpinus betulus*) Car b 1 and oak (*Quercus alba*) Que a 1 pollens. *Mol Immunol* 1991; 28: 1279-88
42. **Rohac M, Birkner T, Reimitzer I, et al.** The immunological relationship of epitopes on major tree pollen allergens. *Mol Immunol* 1991; 28: 897-906
43. **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, rBet v 4). *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 1419-28
44. **Thomas WR, Smith WA, Hales BJ, et al.** Characterization and immunobiology of house dust mite allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;129:1-18
45. **Pittner G, Vrtala S, Thomas WR, et al.** Component-resolved diagnosis of house dust mite allergy with purified natural and recombinant mite allergens. *Clin Exp Allergy* 2004;34:597-603
46. **Weghofer M, Thomas WR, Kronqvist M, et al.** Variability of IgE reactivity profiles among European mite allergic patients *Eur J Clin Invest*. 2008;38:959-65
47. **Vrtala S.** From allergen genes to new forms of allergy diagnosis and treatment. *Allergy* 2008; 63: 299-309
48. **Cecchi L, Morabito M, Domeneghetti M.P, et al.** Long-distance transport of ragweed pollen as a potential cause of allergy in central Italy. *Annals Allergy Asthma Immunol* 2006; 96: 86-91
49. **Asero R, Wopfner N, Gruber P, et al.** Artemisia and Ambrosia hypersensitivity: co-sensitization or co-recognition? *Clin Exp Allergy*. 2006;36:658-65
50. **D'Amato G, Lobefalo G.** Allergenic pollens in the Mediterranean area. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 83: 116-22
51. **Palomares O, Swoboda I, Villalba M, et al.** The major allergen of olive pollen Ole e 1 is a diagnostic marker for sensitization to Oleaceae. *Int Arch Allergy Immunol*. 2006;141:110-8
52. **van Ree R, Hoffman DR, van Dijk W, et al.** Lol p XI, a new major grass pollen allergen, is a member of a family of soybean trypsin inhibitor-related proteins. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95: 970-8

Per corrispondenza:

Dott. Lorenzo Cecchi
Sezione di Allergologia ed Immunologia Clinica
Azienda Sanitaria 4
Piazza Ospedale 1 - 59100 Prato
Tel.: 0574434040 - Fax: 0574434084
e-mail: lorenzo.cecchi@asf.toscana.it