

ARTICOLO ORIGINALE
ORIGINAL ARTICLE

Studio retrospettivo della sensibilizzazione al polline di *Juniperus sabinooides* in una zona a nord-ovest di Roma

A retrospective study of Juniperus sabinooides pollen sensitization in a zone located in North-West of Rome

S. CADONI, F. GRECO, M. CROBEDDU, O. DE PITÀ
Laboratorio di Immunologia ed Allergologia, Dipartimento di Patologia Clinica e Molecolare,
Istituto Dermatopatico dell’Immacolata, Roma

Parole chiave
Pollinosi • *Juniperus sabinooides* • Aerobiologia

Key words
Pollenosis • *Juniperus sabinooides* • Aerobiology

Riassunto

Introduzione

Juniperus sabinooides (JS), arbusto appartenente alla famiglia delle Cupressacee, è largamente diffuso in area mediterranea, ed è causa di gravi allergie del tratto respiratorio.

Obiettivo

Nel nostro istituto abbiamo effettuato uno studio retrospettivo per valutare la sensibilizzazione al polline di questa pianta, in relazione alla concentrazione del polline della stessa misurata in una regione di circa 20 km di diametro a nord-ovest di Roma (zona Aurelia), nel periodo compreso tra gennaio 2001 e dicembre 2003.

Metodi

Sono stati osservati in toto 72 pazienti con richiesta di dosaggio delle IgE specifiche sieriche per JS e per *Cupressus sempervirens* (CS).

Risultati

I dati aerobiologici hanno messo in evidenza il picco di concentrazione pollinica delle Cupressacee nei mesi di febbraio-marzo. Nel 2002 si è anche osservato un aumento di concentrazione nei mesi autunnali, periodo di pollinazione del ginepro. A marzo del 2003 si è verificato uno spiccato aumento di concentrazione pollinica delle Cupressacee rispetto agli altri anni. Il grado di sensibilizzazione al JS nei pazienti da noi presi in esame è risultato del 59,7% (43/72) e soprattutto nel 2003 si è verificato un netto aumento di richieste di dosaggio delle IgE specifiche per JS. A causa della cross-reattività tra allergeni delle varie specie di Cupressacee, i pazienti sensibilizzati al JS lo sono anche per CS, tranne in due casi, ma con classe di positività più bassa, ad eccezione di 5 soggetti i cui la classe risulta uguale. Il periodo con maggior numero di pazienti sensibilizzati è ottobre-novembre (32,5%) e coincide con la pollinazione del ginepro.

Summary

Background

Juniperus sabinooides (JS), belonging to Cupressaceae family and especially spread in the mediterranean area, causes severe respiratory tract allergies.

Objective

From January 2001 to December 2003 we performed a retrospective study on JS sensitization together with an aerobiological remark on its pollen concentration, in a zone located in North-West of Rome.

Methods

We tested 72 patients which were given a specific serum IgE assay to JS and *Cupressus sempervirens* (CS).

Results

Aerobiological data show a JS pollen concentration peak during February and March, and only in 2002 an increased concentration in October and November in which JS pollination takes place.

Moreover in March 2003 we observed a far higher JS pollen peak than other studied year. Sensitization JS degree was 59.7% (43/72), with a clear increased of IgE specific assay request in 2003.

Because of cross-reaction between JS and CS pollens, our patients, except in 2 cases, were sensitized to both, showing in 36 subjects a higher positivity class for JS than to CS. Greatest number of sensitized patients was pointed out in October-November (32.5%), JS pollination months.

Conclusions

In conclusion JS pollen seems to be a rising allergen in the examined zone and we suggest to clinicians, when observing specific symptoms and for a complete diagnostic follow-up, to request a CS IgE specific assay always in combination with a JS one.

Conclusioni

Il polline del JS sembra essere un allergene emergente almeno nella zona considerata ed il fatto che determini sensibilizzazioni di grado più elevato rispetto al CS suggerisce di orientare il clinico, in presenza della specifica sintomatologia e per una completezza diagnostica, a richiedere sempre il dosaggio delle IgE specifiche per il ginepro unitamente a quelle per il cipresso.

Introduzione

La famiglia delle Cupressacee, una delle cinque comprese nell'ordine delle Pinales, che raggruppa la maggior parte delle conifere, è molto diffusa in tutto il mondo ed è rappresentata da una ventina di generi, con circa 140 specie. Il genere più importante per gli italiani allergici, data la notevole presenza nel territorio, è stato sempre considerato Cupressus, al quale appartiene *Cupressus sempervirens* (CS), il comune cipresso presente in Italia e in tutto il bacino del Mediterraneo fin dall'antichità.

Nell'ambito della famiglia delle Cupressacee vi sono però altri generi importanti, come Juniperus, con varie specie, alcune delle quali a larga diffusione in area mediterranea, come il *Juniperus sabinoide*s (JS), arbusto di clima continentale con pollinazione a ottobre-novembre, diffuso classicamente nel Parco nazionale della Majella ma presente anche in buona misura nel Lazio, soprattutto negli ambienti aridi del mare.

La sensibilizzazione al JS ultimamente è stata descritta in diversi lavori, soprattutto a livello internazionale. Durante i mesi invernali il suo polline causa gravi allergie del tratto respiratorio nel territorio texano centrale e meridionale^{1,2}, come anche sembra essere il maggior responsabile delle rinoconjuntiviti e delle sintomatologie asmatiche nell'area mediterranea³. In Italia sono stati effettuati diversi studi sulla pollinosi da Cupressacee *in toto*, corredati da dati di laboratorio, ma mancano, per quanto a noi noto, osservazioni specifiche solo su tale arbusto, soprattutto in relazione alla concentrazione pollinica dello stesso confrontata con il dato analitico della concentrazione di IgE specifiche. Abbiamo pertanto svolto uno studio retrospettivo su tutti i pazienti afferiti presso il nostro Istituto negli anni 2001-2003, con richiesta di dosaggio delle IgE specifiche sieriche contro il *Juniperus sabinoide*s (JS) e contemporaneamente contro il *Cupressus sempervirens* (CS), allo scopo di valutare sia l'entità dell'allergia al JS sia, qualora presenti, eventuali differenze nel grado di sensibilizzazione verso le due specie affini. Allo stesso tempo abbiamo effettuato uno studio aerobiologico, esteso ad un'area di circa 20 km di diametro a nord-ovest di Roma, relativo alla concentrazione dei pollini delle Cupressacee, che notoriamente non possono essere distinti tra le varie specie della famiglia data l'estrema omologia morfologica. I dati aerobiologici ottenuti, suddivisi nei diversi mesi dell'anno,

sono stati quindi confrontati con le concentrazioni di IgE specifiche dei pazienti della casistica, per monitorare eventuali analogie o differenze di entità.

Pazienti e metodi

PAZIENTI

Abbiamo effettuato uno studio retrospettivo allergologico considerando tutti i pazienti afferiti presso il nostro laboratorio, sia ambulatorialmente sia in regime di ricovero, con richiesta di IgE specifiche per JS e CS, tra gennaio 2001 e dicembre 2003. In totale sono stati considerati 72 pazienti, di cui 33 maschi e 39 femmine. Abbiamo considerato i pazienti nei vari mesi dell'anno, confrontando il numero di soggetti positivi in relazione alla quantità di polline presente nell'aria. In tutti i pazienti è stato eseguito il dosaggio quantitativo delle IgE specifiche con il metodo fluorimunoenzimatico (Sistema UniCAP *Pharmacia*, Svezia), sistema completamente automatizzato e calibrato secondo gli standard per le IgE della *World Health Organization*. I risultati sono espressi come KU_A/L, secondo classi di valori (Tab. I).

Sono stati messi poi a confronto i dosaggi delle IgE specifiche per i due allergeni considerando le concentrazioni osservate in ciascun paziente.

CAMPIONAMENTO AEROBIOLOGICO

Il campionamento è stato effettuato senza interruzione tra gennaio 2001 e dicembre 2003, utilizzando un campionatore VPPS 2000 Lanzoni di tipo Hirst, localizzato nel nostro Istituto (nord-ovest di Roma, zo-

Tab. I. Classi di positività delle IgE specifiche (i valori sono espressi in KU_A/l).

classe	valore (KU _A /l)
0	< 0,35
1	0,35 - 0,7
2	0,71 - 3,5
3	3,51 - 17,5
4	17,51 - 50
5	51 - 100
6	> 100

na Aurelia). Lo strumento è stato collocato a circa 20 m dal suolo. L'aria aspirata è convogliata su di un tamburo, che ruota alla velocità di 2 mm/h, sulla cui superficie viene adagiato un nastro trasparente di Melinex sul quale è stata precedentemente spennellata un fluido siliconico in CaCl_2 , che permette l'adesione delle particelle. VPPS è programmato per catturare particelle da 2 a 200 e il suo raggio di azione medio è di 10-15 km. Alla fine di ogni settimana, il nastro è stato rimosso dal tamburo e sezionato in segmenti corrispondenti ciascuno al campionamento giornaliero. I segmenti sono stati poi montati su vetrino, colorati con fucsina basica e fissati con glicerina, e la loro analisi microscopica è stata effettuata mediante un oculare 10X e un obiettivo 25X. Ogni conta delle particelle è stata espressa come numero di granuli/ m^3 di aria, utilizzando un fattore di conversione che comprende il diametro del campo microscopico, il numero e la lunghezza delle bande lette, l'area di campionamento e i metri cubi di aria campionata giornalmente, secondo le linee guida fornite dall'Associazione Italiana di Aerobiologia (A.I.A.).

Risultati

ANALISI AEROBIOLOGICA

Anno 2001

Il picco di concentrazione mensile massimo (13.641 granuli/ m^3) del polline di Cupressacee e Taxacee, delle quali non è possibile distinguere morfologicamente i granuli pollinici delle singole specie, si è osservato a febbraio (Tab. II). A marzo abbiamo riscontrato una concentrazione di 9.084 granuli/ m^3 ; in particolare il massimo di concentrazione giornaliera annuale si è osservato il 3 marzo con 1.717 granuli/ m^3 . A gennaio, come anche nei mesi successivi a marzo, i valori di concentrazione cadono bruscamente fino a raggiungere il minimo a luglio e stabilizzarsi a livelli molto bassi fino a dicembre.

Anno 2002

La concentrazione mensile massima si è osservata a febbraio (9.880 granuli/ m^3), precisamente con il picco annuale nel giorno 28 (1.077 granuli/ m^3); a marzo la concentrazione scendeva a 3548 granuli/ m^3 . Il minimo è stato rilevato ad agosto, con 5 granuli/ m^3 . Nei mesi di ottobre e novembre si è notato un lieve rialzo di concentrazione (161, 158 granuli/ m^3), per tornare a dicembre ad un livello molto basso (15 granuli/ m^3).

Anno 2003

Marzo è risultato il mese con la massima concentrazione pollinica annuale (21.419 granuli/ m^3), seguito da febbraio con 4.135 granuli/ m^3 . Dopo aprile, i va-

Tab. II. Concentrazioni mensili dei pollini delle Cupressaceae/Taxaceae (granuli/ m^3) registrate durante gli anni 2001-2003.

	2001	2002	2003
Gennaio	654	843	473
Febbraio	13.641	9.880	4.135
Marzo	9.084	3.548	21.419
Aprile	363	558	775
Maggio	117	92	108
Giugno	58	46	19
Luglio	1	8	17
Agosto	6	5	5
Settembre	7	21	7
Ottobre	10	161	48
Novembre	12	158	9
Dicembre	15	15	11

lori si sono mantenuti bassi (con un minimo, similmente all'anno 2002, osservato ad agosto), per rimanere al di sotto del centinaio fino a dicembre.

DOSAGGIO IGE SPECIFICHE

Dei 72 pazienti con richiesta di IgE specifiche per JS 43 (59,7%) sono risultati sensibilizzati verso tale allergene, e precisamente 4/6 (66%) nel 2001, 6/16 nel 2002 (37,5%) e 33/50 (66,0%) nel 2003 (Tab. III). Negli anni 2001 e 2002 i pazienti raggiungevano al massimo la classe terza di positività, mentre nel 2003 abbiamo osservato in 8 soggetti (16,0%, n. 13, 17, 21, 24, 30, 31, 41, 43) la classe quarta e in 3 (6,0%, n. 15, 19, 36) la classe quinta. Per il resto nel 2003 la classe terza è risultata essere la più rappresentata (18/50, 36%). I pazienti sensibilizzati al JS lo sono contemporaneamente per il CS, tranne 2 soggetti, il numero 5 e il numero 14, che peraltro presentano positività bi basso grado al ginepro (classe 1). Tutti i pazienti con IgE specifiche per JS hanno mostrato una concentrazione delle stesse più bassa, o al limite di pari livello (n. 1, 9, 10, 25, 42), per CS. Abbiamo osservato, nel totale dei tre anni, 12/43 soggetti (27,9%) positivi per JS soltanto nel mese di marzo, 14/43 solo in ottobre-novembre (32,5%); le rimanenti sensibilizzazioni si distribuivano negli altri mesi dell'anno.

Discussione

La pollinosi verso le Cupressacee, segnalata fin dal 1962 per il bacino del Mediterraneo, ha acquisito in Italia negli ultimi anni una crescente importanza: non si è più di fronte ad una pollinosi "emergente", ma ad una realtà accertata. Secondo uno studio epidemiologico condotto nel 2002 il grado di sensibilizzazione al

Tab. III. IgE specifiche per *Juniperus sabinoides* (JS) e *Cupressus sempervirens* (CS) e relative classi di positività nei 43 soggetti studiati.

Pazienti	Anno	IgE sp. JS (ku _a /l)	Classe	IgE sp. CS (ku _a /l)	Classe
1	2001	7,99	3	5,28	3
2	2001	5,09	3	1,37	2
3	2001	2,52	2	0,69	1
4	2001	1,59	2	0,68	1
5	2002	0,45	1	< 0,35	0
6	2002	4,47	3	1,30	2
7	2002	13,8	3	2,76	2
8	2002	3,18	2	0,60	1
9	2002	2,93	2	1,58	2
10	2002	10,6	3	5,59	3
11	2003	3,18	2	0,38	1
12	2003	6,36	3	0,88	2
13	2003	36,4	4	2,56	2
14	2003	0,62	1	< 0,35	0
15	2003	52,2	5	5,40	3
16	2003	4,28	3	1,47	2
17	2003	17,8	4	3,05	2
18	2003	16,8	3	2,00	2
19	2003	61,9	5	9,19	3
20	2003	16,7	3	2,83	2
21	2003	41,8	4	2,60	2
22	2003	7,45	3	2,81	2
23	2003	8,82	3	1,63	2
24	2003	19,6	4	1,56	2
25	2003	16,9	3	5,61	3
26	2003	7,95	3	2,01	2
27	2003	5,05	3	1,75	2
28	2003	11,7	3	1,12	2
29	2003	10,6	3	1,36	2
30	2003	19,6	4	1,56	2
31	2003	20,2	4	14,1	3
32	2003	2,77	2	0,47	1
33	2003	16,4	3	1,84	2
34	2003	5,42	3	2,11	2
35	2003	6,23	3	1,20	2
36	2003	62,8	5	2,83	2
37	2003	3,07	2	0,65	1
38	2003	7,76	3	2,79	2
39	2003	3,81	3	0,75	2
40	2003	12,3	3	1,93	2
41	2003	20,1	4	1,31	2
42	2003	16,9	3	5,61	3
43	2003	31,9	4	28,8	4

polline delle Cupressacee sembra essere differente nelle varie regioni della Penisola, con una positività ai test cutanei pari al 9,2% nel Nord, al 28,2% nella zona centrale e al 20,1% al Sud, e con una media generale di positività del 18,4%⁴. Questa pollinosi è inoltre una delle più lunghe che si conoscano, iniziando a ot-

tobre e protrahendosi oltre la fine di marzo, attraverso la successiva fioritura di una lunga serie di specie vegetali, appartenenti alla stessa famiglia o a famiglie imparentate, come quella delle Taxodiacee. Nello studio in questione viene inoltre riportato che i mesi che individuano la maggior percentuale di pazienti positi-

vi sono febbraio e marzo. I nostri dati confermano, almeno in parte, quanto riportato. Abbiamo infatti osservato proprio a marzo un'alta percentuale di pazienti sensibilizzati al polline di Cupressacee (27,9%); ciò è dovuto probabilmente alla pollinazione del cipresso, che avviene in tali mesi. Tale dato è inoltre confermato dall'analisi aerobiologica, che mette in evidenza il picco di concentrazione pollinico, o comunque una concentrazione di gran lunga superiore rispetto agli altri periodi dell'anno, negli stessi mesi (febbraio-marzo) per i tre anni considerati.

Prendendo in considerazione solo il 2003, in cui si è osservato un netto aumento di richieste di dosaggio delle IgE specifiche per JS rispetto al 2001-2002, e quindi anno per cui è possibile fornire dati più completi, il periodo con maggior numero di sensibilizzazioni è quello autunnale (ottobre-novembre), notoriamente lo stesso periodo di pollinazione del ginepro. Questi risultati sono però corredati solo da un lieve coincidente aumento di concentrazione pollinica per JS negli stessi mesi (48 granuli/m³), rispetto agli altri mesi in cui la concentrazione è molto bassa, e questa discrepanza può essere spiegata con un clima particolarmente ventoso in quel periodo, che può aver determinato la dispersione del polline dall'area di studio. Non è stato però possibile reperire i dati relativi alle condizioni meteorologiche per mancanza di strumentazione adeguata.

Il picco di concentrazione pollinica primaverile per i tre anni considerati coincide invece esattamente con la pollinazione del CS, e a marzo 2003 il valore di concentrazione è più del doppio rispetto al 2001 e più di 6 volte maggiore rispetto al 2002, anno in cui peraltro il picco di concentrazione è stato rilevato a febbraio.

I pollini delle varie specie appartenenti ai due taxa (Cupressacee – Taxacee) hanno un contenuto allergenico molto affine: il soggetto, una volta sensibilizzato al cipresso, può reagire con gli stessi disturbi al polline, ad esempio, del ginepro o della taxacea *Cryptomeria japonica*. Ciò è principalmente dovuto al fatto che il maggior allergene del ginepro, il Jun a 1, cross-reagisce con quelli delle altre specie correlate e, fra la to-

talità degli allergeni delle Cupressacee, mostra di possedere il più alto grado di potenzialità allergenica⁵. Studi recenti hanno inoltre evidenziato nel JS un altro antigene, il Jun a 2⁶, proteina di 43 kDa, omologo alla famiglia di molecole denominate Calmoduline, altamente conservate, a cui si può attribuire la definizione di “panallergene”, e che può essere considerato uno dei responsabili della cross-sensibilizzazione tra le specie affini. Pazienti monosensibili a una delle diverse specie, pertanto, non sono particolarmente numerosi, essendo rappresentati dal 14,7% di tutti i soggetti positivi⁴. Tra i nostri pazienti solo 2/43 (4,6%) sono risultati monosensibili al JS, peraltro con classe 1 di positività, mentre gli altri soggetti mostravano una positività per JS anche molto maggiore rispetto a quella di CS, a conferma del superiore potenziale allergenico degli epitopi del ginepro classicamente studiati.

Nel periodo ottobre-novembre 2002, rispetti agli stessi mesi negli altri due anni, la concentrazione pollinica delle Cupressacee è in netto aumento rispetto agli altri mesi con concentrazione bassa, coincidendo quindi con la pollinazione del ginepro, e tale aumento si osserva soprattutto a marzo del 2003, dove si può ipotizzare quindi il precipuo contributo del ginepro stesso. Possiamo quindi concludere che la pollinazione del JS, almeno per quanto da noi osservato, sembra essere in aumento e ciò riflette anche non solo l'aumento di richieste di dosaggio per IgE specifiche per tale arbusto ma anche l'aumento di concentrazione del polline di Cupressacee nel 2003. Il ginepro può quindi essere considerato un allergene emergente nel panorama delle classi arboree, almeno nel nostro territorio. Le classi di positività molto più elevate per JS nei pazienti con coincidente allergia al CS, suggeriscono inoltre uno spostamento clinico di interesse nell'ambito di una diagnosi di sensibilizzazione alle Cupressacee, in quanto la richiesta di dosaggio di IgE specifiche per lo stesso è in grado di individuare la presenza di un'allergia che altrimenti, con la sola richiesta per CS, può essere sottostimata o addirittura considerata come assente.

Bibliografia

- ¹ Ramirez DA. *The natural history of mountain cedar pollinosis*. Allerg Immunol (Paris) 2000;32:86-91.
- ² Schwietz LA, Goetz DW, Whisman BA, Reid MJ. *Cross-reactivity among conifer pollens*. Ann Allergy Asthma Immunol 2000;84:87-93.
- ³ Hrabina M, Dumur JP, Sicard H, Viatte A, Andre C. *Diagnosis of cypress pollen allergy: in vivo and in vitro standardization of a Juniperus ashei pollen extract*. Allergy 2003;58:808-13.

⁴ Italian Association of Aerobiology. *An epidemiological survey of Cupressaceae pollenosis in Italy*. J Investig Allergol Clin Immunol 2002;12:287-92.

⁵ Andre C, Dumur JP, Hrabina M, Lefebvre E, Sicard H. *Juniperus ashei: the gold standard of the Cupressaceae*. Allerg Immunol (Paris) 2000;32:104-6.

⁶ Yokoyama M, Miyahara M, Shimizu K, Kino K, Tsunoo H. *Purification, identification, and cDNA cloning of Jun a 2, the second major allergen of mountain cedar pollen*. Biochem Biophys Res Commun 2000;275:195-202.