

ARTICOLO ORIGINALE

ORIGINAL ARTICLE

Allergia alle Cupressaceae: nuove osservazioni epidemiologiche e diagnostiche

Allergy to Cupressaceae: novel epidemiological and diagnostic observations

C. D'ANDRIA ¹, V. INGORDO ², G. D'ANDRIA ³, G. CELLAMMARE ², G. NUZZI ⁴

¹Fondazione Centro Italiano Studi e Ricerche, C.M.R., Divisione di Pneumologia, Ginosa Marina (Taranto); ²Ospedale Principale Marina Militare «M.O. Giulio Venticinque», Reparto Dermatologia e Centro Trasfusionale, Taranto; ³Azienda Ospedaliera «SS. Annunziata», Servizio Immunotrasfusionale, Taranto; ⁴Ospedale Civile, Divisione di Medicina, Castellaneta (Taranto)

Parole chiave

Pollinosi • Cupressaceae • Cross-reattività •
Epidemiologia • Juniperus

Key words

Pollinosis • Cupressaceae • Cross-reactions •
Epidemiology • Juniperus

Riassunto

Obiettivi. La pollinosi da Cupressaceae dimostra un trend epidemiologico in crescita nelle aree del Mediterraneo. Sono state inoltre documentate la patogenicità dei Ginepri (*Juniperus* spp.) e la relativa cross-reattività con le Cupressaceae-Taxodiaceae. Si è investigato sull'impatto allergologico di questi pollini.

Metodi. In questo studio sono stati valutati consecutivamente 100 pazienti maschi affetti da allergopatie respiratorie ed affetti presso l'Ospedale Principale della Marina Militare di Taranto. Essi sono stati sottoposti a skin prick test con estratti di *Cupressus sempervirens* (Cs) e *Juniperus sabinoides* (Js), ed eventualmente al dosaggio delle IgE specifiche per Cs.

Risultati. Un gruppo di 18 soggetti era sensibilizzato alle Cupressaceae, con 17 positività per Js e 12 per Cs, con 3 casi di monoallergia. L'area dei pomfi ottenuta utilizzando l'estratto di Js è risultata maggiore di quella osservata con quello di Cs in misura statisticamente significativa ($p < 0,001$). Riguardo alla sensibilità dei test diagnostici, il prick test con Js è risultato migliore (94%) rispetto alla determinazione delle IgE specifiche per Cs (87%) ed al prick test con Cs (67%). Comparando la percentuale di positività con quella da noi rilevata 10 anni prima in un campione di soggetti con le stesse caratteristiche, si è registrato un incremento (dall'8,8 al 18%; $p < 0,015$) di cutipositività alle Cupressaceae.

Conclusioni. Esiste una crescita significativa delle sensibilizzazioni alle Cupressaceae ed è auspicabile un maggiore uso degli estratti di *Juniperus* spp. per una diagnosi più accurata ed una migliore immunoterapia della relativa Pollinosi.

Summary

Objectives. Pollinosis by Cupressaceae shows an increasing epidemiological trend in Mediterranean countries. The pathogenicity of Junipers (*Juniperus* spp.) and their cross-reactivity with Cupressaceae-Taxodiaceae have also been reported.

Methods. 100 consecutive male patients with allergic respiratory disease, observed at the Italian Navy Main Hospital in Taranto, were evaluated in this study. They underwent skin prick tests with extracts of *Cupressus sempervirens* (Cs) and *Juniperus sabinoides* (Js). The assay of serum specific anti-Cs IgE was also performed.

Results. 18 cases of sensitization to Cupressaceae, 17 to Js and 12 to Cs, were pointed out; three subjects had monosensitization. The area of wheals obtained by using extract of Js was significantly larger than that obtained by extract of Cs ($p < 0.001$). With regard to the sensitivity of diagnostic tests, prick test with Js (94%) was more reliable than detection of specific anti-Cs IgE (87%) and prick test with Cs (67%). When comparing the rate of positivity with that detected in a sample of subjects with the same characteristics, examined 10 years before, we observed an increase (from 8.8 to 18%; $p < 0.015$) of skin positivity to Cupressaceae.

Conclusions. In this study, a significant increase of skin positivity to Cupressaceae was observed at a 10-years follow-up. A more frequent use of extracts of *Juniperus* spp. is therefore suggested in order to obtain a more accurate diagnosis and improve immunotherapy of pollinosis by Cupressaceae.

Obiettivi

Attualmente è presente tra gli Allergologi una maggiore percezione relativamente a dimensioni e problematiche della pollinosi da Cupressaceae, nota peraltro dagli inizi del secolo scorso ¹.

Il rinnovato interesse per l'argomento viene alimentato anche dal riconoscimento dell'ampia possibilità di sensibilizzazione crociata tra pollini di specie botaniche correlate (dei generi *Cupressus*, *Juniperus*, *Chamaecyparis*, *Thuja*, *Cryptomeria*, *Taxodium*). Tra queste piante i Ginepri (*Juniperus* spp.), ubiqui-

tari e molto comuni nell'area Mediterranea ², acclimatati dal livello del mare sino a quote superiori a 3000 metri, sono in possesso di spore particolarmente allergeniche, capaci anche di prolungare il periodo sintomatico ³ nei pazienti sensibilizzati alle Cupressaceae.

L'epidemiologia e la diagnostica allergologica sono due aspetti molto discussi di questa pollinosi.

Studi condotti in Italia ed in altri Paesi del bacino del Mediterraneo ^{3,4} hanno segnalato non solo la variabile rilevanza della pollinosi da Cupressaceae, ma anche un trend di crescita ⁵, influenzato dall'uomo con una maggiore introduzione delle relative specie botaniche sul territorio.

Inoltre, dai primi anni '90, le principali perplessità degli Specialisti nel campo dell'allergia da Cupressaceae hanno riguardato le caratteristiche degli estratti utilizzati per la diagnosi e, soprattutto, per l'immunoterapia specifica ⁶. In una recente analisi la qualità dei diagnostici disponibili risultava del tutto insoddisfacente ⁷, tanto da non consentire una definizione eziologica anche in casi clinicamente tipici.

Sulla scorta di queste premesse, gli scopi del presente studio sono stati quelli di:

- rideterminare, dopo opportuno intervallo di tempo, la frequenza di sensibilizzazione alle Cupressaceae in una popolazione del Sud d'Italia già

esaminata per l'epidemiologia delle allergopatie respiratorie ⁸,

- valutare un nuovo estratto di *Juniperus sabinoi-des* (sinonimi: *Juniperus ashei*, mountain cedar), pianta presente in Europa solo su alcune aree dei Balcani ma caratterizzata da notevoli affinità polliniche con le specie autoctone.

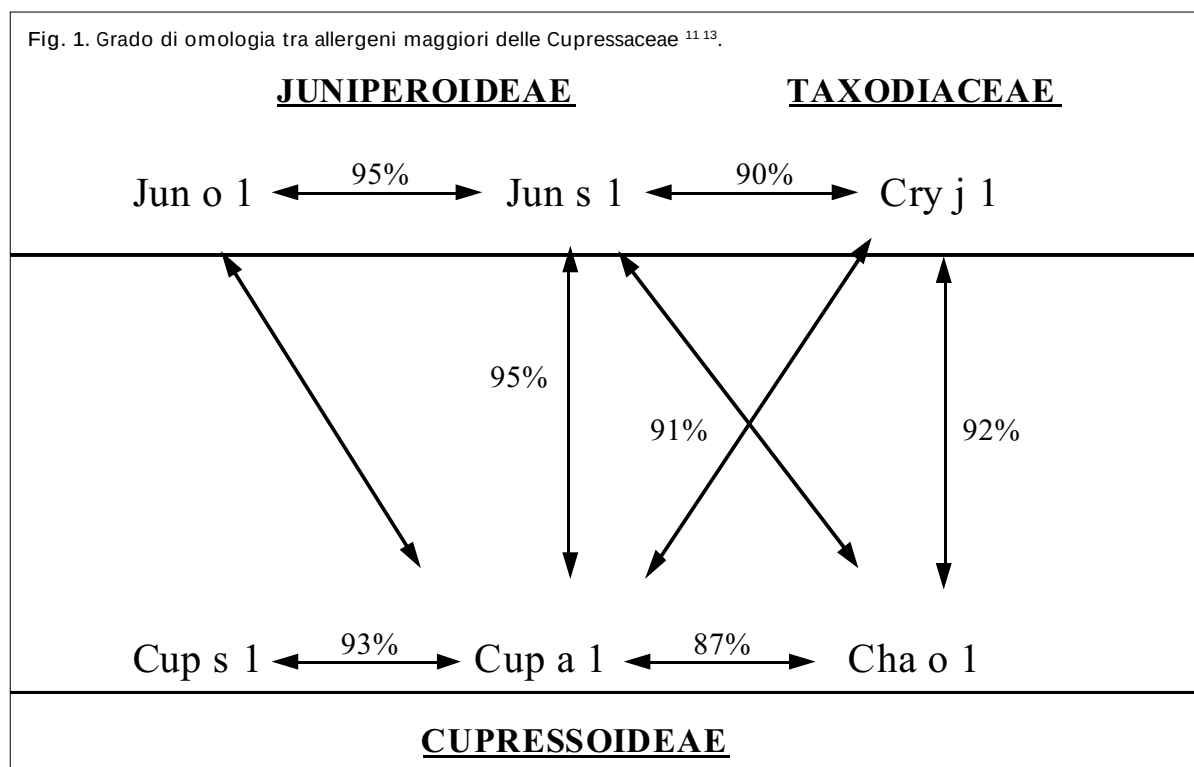
Metodi

Nel periodo aprile-giugno del 2001, cento pazienti consecutivi, giunti presso il Reparto di Dermatologia dell'Ospedale Principale della Marina Militare di Taranto per una sospetta allergopatia respiratoria, sono stati sottoposti ad una valutazione clinico-anamnestica ed allergometrica mediante prick test condotta secondo i criteri codificati dalla SIAIC. I soggetti esaminati, tutti di sesso maschile e con età media di 23,26 anni (range 18-33), sono stati screenati specificatamente per quanto riguarda l'allergia alle Cupressaceae con gli estratti diagnostici per prick test di *Cupressus sempervirens* (Cs - Bayer/Stallergènes) e di *Juniperus sabinoi-des* (Js - Merck spa-Milano / Allergopharma-Reinbeck, Germania). Quest'ultimo prodotto, in soluzione idroglicerica, è stato caratterizzato, in termini di contenuto proteico totale e profilo al-

Tab. I. Caratteristiche dei soggetti positivi al prick test con estratti di *Cupressus sempervirens* (Cs) e *Juniperus sabinoi-des* (Js).

Paziente	Età (anni)	Clinica*	Pomfi in mm ²		IgE specifiche		Altre sensibilizzazioni (n = 41) [†]
			Cs	Js	U.I./mL	classe	
GM	26	OR/AB	5	42	0,73	1	GR-PAR-OL
PP	20	OR	8	46	10,68	3	PAR-OL-DF-DP
BL	21	AB	9	36	3,30	2	GR-DF-DP
CG	19	OR	11	29	< 0,5	0	DF-DP
SS	26	OR	6	5	< 0,5	0	PAR
AP	18	OR	28	73	6,57	3	‡
MF	20	OR	19	47	10,34	3	PAR
MD	19	OR	23	131	non dosate		GR-PAR-DF-DP
RC	24	OR/AB	14	30	8,96	3	PAR-OL-DF-DP
VN	21	OR/AB	5	24	2,90	2	GR-PAR-DF-DP-ALT
SN	20	AB	18	34	23,66	3	GR-PAR-OL-COM-CH
PA	28	OR	5	55	0,87	1	GR-PAR-DP-CH
LD	20	OR	33	113	1,13	2	PAR-ALT
DL	33	OR	16	91	1,77	2	‡
DS	26	AB	3	36	non dosate		DF-DP
RG	28	AB	11	54	non dosate		GR-PAR-OL-COM-DF-DP-ALT
AV	18	OR	0	19	0,69	1	‡
RG	23	OR	3	35	0,81	1	OL-DF-DP

* OR = Oculorinite; AB = asma bronchiale; † DP = Dermatophagoides pteronyssinus; DF = Dermatophagoides farinae; GR= Graminaeae; PAR = Parietaria; OL = Olivo; COM= Composite; CH = Chenopodiaceae; ALT= Alternaria; ‡ Monosensibile per Cupressaceae.

Fig. 1. Grado di omologia tra allergeni maggiori delle Cupressaceae ^{11 13}.

lergenico, mediante SDS-Page immunoblot impiegando sieri di soggetti monosensibilizzati. Nei cuti-positivi, inoltre, sono state dosate le IgE specifiche per *Cupressus Sempervirens* con metodica ELISA (C.A.R.L.A. System® - Radim). Per i calcoli statistici è stato utilizzato il programma EPISTAT.

Risultati

Nella popolazione studiata, considerando l'insieme dei risultati dei test praticati, sono stati diagnosticati 18 casi di sensibilizzazione alle Cupressaceae, con limiti di confidenza dall'11 al 25%.

La Tabella I, riassuntiva delle caratteristiche clinico-allergologiche di questi pazienti, illustra che sono state riscontrate 17 positività all'estratto diagnostico di Js e 12 a quello di Cs, mentre la ricerca delle IgE specifiche per Cs, effettuata su 15 soggetti, è stata positiva in 13 individui.

I 3 pazienti monosensibili riferivano una tipica oculorinite invernale, mentre la co-sensibilizzazione ad acari in altri 10 soggetti non consentiva una correlazione clinica certa; nei rimanenti 5 casi veniva lamentata una sintomatologia respiratoria invernale.

L'entità della risposta cutanea, come area del pomfo provocata nei prick-test dai due prodotti impiegati, era maggiore per Js (media: 50 mm² vs. 12.05 mm²);

la differenza, valutata con un Test *t* di Student per dati appaiati, è risultata altamente significativa ($T = 6,023$, $P < 0,001$).

Inoltre il confronto fra i risultati dei test cutanei ed il dosaggio delle IgE specifiche, operato con il Coefficiente di Pearson, ha dimostrato che, pur non raggiungendo la significatività statistica, esiste un discreto grado di correlazione tra gli esiti della diagnostica *in vivo* ed *in vitro*, superiore comunque sempre per Js rispetto a Cs ($R = 0,44$ vs. $R = 0,38$).

Nel paragone reciproco, il test diagnostico a migliore sensibilità si è dimostrato il prick-test Js (94%) seguito dal dosaggio delle IgE specifiche per Cs (87%) mentre il prick-test Cs ha discriminato solo il 67% dei soggetti positivi.

Conclusioni

L'isolamento, la caratterizzazione e, talora, il clonaggio molecolare ^{9 10} di alcuni allergeni maggiori e minori dei pollini del gruppo delle Cupressaceae hanno confermato in maniera esauriente ¹¹ la presenza, tra i primi, di un elevato grado di omologia e, conseguentemente, l'esistenza di ampi fenomeni di cross-reattività (Fig. 1). Questi pollini sono caratterizzati dal possedere allergeni maggiori, in media del peso di 40 KD, particolarmente ricchi nella componente carboi-

dratica. Recenti ricerche ¹² hanno portato nuova luce sul significato di quest'ultima porzione nella composizione degli epitopi, nella sensibilizzazione, nel legame con le relative IgE e nel fenomeno della reattività crociata. L'importanza degli antigeni carboidratici in molte specie botaniche non tassonomicamente correlate (*Cupressaceae*, *Taxodiaceae*, *Compositae*, *Leguminosae*, *Myrtaceae*, *Plantaginaceae*) è dovuta alla loro documentata capacità di legare le IgE umane. Inoltre vi è anche la recente scoperta di componenti allergeniche di *Juniperus oxycedrus* ¹³ dal comportamento biologico di panallergene. Ulteriori ricerche sulla ricognizione CD1-ristretta dell'antigene del Cipresso ¹⁴ spiegherebbero, infine, la preferenziale espressione clinica di tipo oculorinico.

Tali acquisizioni hanno condizionato il disegno della presente indagine da cui risulta che, per quanto rilevato rispetto ad una nostra ricerca di circa 10 anni fa, la pollinosi da *Cupressaceae* è decisamente in incremento. Confrontando infatti i dati ottenuti con quelli dello studio precedente, riguardante 1000 soggetti

con caratteristiche sovrapponibili a quelle del campione in esame e testati con l'estratto Cs, emerge un aumento delle sensibilizzazioni alle *Cupressaceae* (8,8 vs. 18%) che è significativo anche da un punto vista statistico (Test χ^2 , P = 0,015).

La crescita delle positività agli skin prick tests, presente e rilevante anche per il solo estratto Cs (8,8 vs. 12%), è stata più ampia grazie all'impiego dell'estratto di *Juniperus sabinoide*s. Da un punto di vista pratico, i fenomeni sopra citati di cross-reattività tra gli allergeni delle *Cupressaceae* ci hanno consentito di utilizzare quest'ultimo prodotto che, a conferma ¹⁵ di altre analoghe segnalazioni, ha dimostrato una superiore sensibilità rispetto all'estratto di Cs e migliorato l'accuratezza dell'iter diagnostico.

Con tutta probabilità, sulla scorta di quanto già sperimentato nell'allergia da *Cupressus sempervirens* ¹⁶, si potrà sfruttare la maggiore qualità e potenza degli estratti delle *Juniperoideae* anche nella pratica della relativa immunoterapia specifica, confidando ragionevolmente nell'ottenimento di risultati clinici migliori.

Bibliografia

- ¹ Black JH. *Cedar Hayfever*. J Allergy 1929;1: 71.
- ² Caiaffa MF, Macchia L, Strada S, Bariletto G, Scarpelli F, Tursi A. *Airborne Cupressaceae pollen in Southern Italy*. Ann Allergy 1993;71:45-50.
- ³ Iacovacci P, Afferni C, Barletta B. *Juniperus oxycedrus: a new allergenic pollen from the Cupressaceae family*. Allergy Clin Immunol 1998;101:755-61.
- ⁴ Troise C. *Epidemiologia della pollinosi nell'area del Mediterraneo*. Giorn It Allergol Immunol Clin 2001;11:63-7.
- ⁵ Charpin D. *Epidemiology of Cypress Allergy*. Allerg Immunol 2000;31:15-8.
- ⁶ Spinozzi F, Cimignoli E, Grignani F. *Immunotherapy: what are we administering to the allergic patient?* Lancet 1993;341:386.
- ⁷ Mari A, Di Felice G, Afferni C, Barletta B, Tinghino R, Salusto F, et al. *Assessment of skin prick test and serum specific IgE detection in the diagnosis of Cupressaceae pollinosis*. J All Clin Immunol 1996;98:21-31.
- ⁸ D'Andria C, D'Andria G, Ferrannini A, Ingordo V, Licci N, Arsieni A, et al. *Studio epidemiologico delle malattie allergiche respiratorie in una popolazione maschile proveniente da un territorio costiero meridionale a forte omogeneità*. Giorn It Allergol Immunol Clin 1993;3:355-64.
- ⁹ Midoro-Horiuti T. *Isolation and characterization of the mountain cedar (Juniperus ashei) pollen major allergen, Jun a 1*. J All Clin Immunol 1999;104:608-12.
- ¹⁰ Iacovacci P, Butteroni C, Pironi L, Puggioni E.M.R., Tinghino R., Barletta B., et al. *Molecular cloning of the Cupressus arizonica major allergen*. Allergy 2001, suppl. 68 vol. 56, 277.
- ¹¹ Schwietz LA, Goetz DW, Whisman BA, Reid MS. *Cross-reactivity among conifer pollens*. Ann All Ast Imm 2000;84:87-93.
- ¹² Di Felice G, Barletta B, Tinghino R, Pini C. *Cupressaceae pollinosis: identification, purification and cloning of relevant allergens*. Int Arch All Immunol 2001;125:280-9.
- ¹³ Tinghino R, Barletta B, Palumbo S, Afferni C, Iacovacci P, Mari A, et al. *Molecular characterization of a cross-reactive Juniperus oxycedrus pollen allergen, Jun o 2: a novel calcium-binding allergen*. J All Clin Immunol 1998;101:772-7.
- ¹⁴ Spinozzi F, Agea E, Bistoni O, Russano A, Minelli L. *CD1-restricted cypress pollen recognition: a possible explanation for the clinical epidemiology of cypress-related rhinitis*. Allergy 2000; 55(Suppl.63):136.
- ¹⁵ André C, Dumur JP, Hrabina M, Lefebvre E, Sicard H. *Juniperus ashei: the gold standard for Cupressaceae*. Allergy 2000;55(Suppl.63):136.
- ¹⁶ Ariano R, Panzani RC, Soraga J. *New clinical data and therapeutic prospects in Cupressaceae pollen allergy*. Allerg Immunol 2000;32:135-8.