

Biomarkeri alergije u djece preosjetljive na alergen *Dactylis glomerata* u sezoni cvjetanja rdobrade

Anica Džajić¹, Giorgije Petković¹, Mateja Šegović²

*Cilj je usporediti vrijednosti biomarkera alergije, ukupnog IgE-a (ulgE), specifičnog IgE-a (slgE), indeksa specifičnog IgE-a (IslgE) prema alergenu trave rdobrade *Dactylis glomerata* (Dac g) i eozinofilnih granulocita u sezoni cvatnje i izvan nje. Odabrana su djeca s dokazanom preosjetljivošću na alergene rdobrade (N=80). Svrstana su u dvije skupine. Skupina 1: djeca obrađena u sezoni peludacije (N=64). Skupina 2: djeca obrađena izvan sezone peludacije (N= 16). Koncentracija odabranih parametara određena je standardiziranim laboratorijskim postupcima. Vrijednosti svih ispitivanih biomarkera alergije, osobito slgE-a i IslgE-a, bile su statistički značajno veće u skupini djece testirane u sezoni cvjetanja rdobrade nego izvan nje (p<0,05). Posljedično tome je i korelacija između biomarkera bila bolja u sezoni izloženosti uzročnome alergenu. Dobiveni rezultati upućuju na to da bi biomarkere alergija, a osobito slgE-a i IslgE-a trebalo određivati u vrijeme izloženosti alergenu Dac g.*

Ključne riječi: ALERGOLOGIJA I IMUNOLOGIJA; BIOMARKERI; IMUNOGLOBULIN E

UVOD

Izloženost peludnim alergenima ovisi o sezoni cvjetanja biljaka i o klimatskim, odnosno meteorološkim prilikama (1). Većina alergičara može se smatrati meteoropatima, jer su simptomi bolesti izraženiji u nepovoljnim meteorološkim prilikama (2). Bolest je izraženija u vrijeme zahladnjenja, pada tlaka zraka zbog približavanja ciklone i hladnih fronta, u vrijeme toplinskih valova, prije grmljavinskih oluja, a ovisi i o brzini vjetra. Osobito toplinski stresovi, praćeni povećanjem vlage u zraku, mogu potaknuti jake astmatske napadaje, primjerice neposredno uoči grmljavinskih oluja.

Klimatske promjene, globalno zatopljenje te zagađenost zraka značajno su povećali rast alergenskih biljaka te posljedično broj peludnih zrnaca u zraku. U sezoni cvjetanja alergenskih biljaka, lebdeće čestice manje od 10 µm nastale izgaranjem dizelskih goriva, postaju dobri nosači peludnih zrnaca i prenose ih u dišne putove (3). Zbog raspadanja peludnih zrnaca za kišnog i olujnog vremena u zraku lebde i alergenske čestice veličine 0,5 - 2,5 µm, koje dospijevaju u manje dišne putove. Takvo raspadanje peludnih zrnaca zapaženo je osobito kod peluda trava (lat. *Poaceae*) na koji je alergično oko 90% osoba preosjetljivih na pelud biljaka. Dio

tih osoba ima simptome astme ili alergijskog rinitisa, a dio ih ima simptome i u gornjim i u donjim dišnim putovima, što upućuje na sličnost gornjih i donjih dišnih putova, odnosno na jedinstveni dišni put (4). Oštećenje epitela dišnih putova nastaje kao posljedica djelovanja lebdećih čestica iz zraka (npr. prizemni ozon, sumporni dioksid, ugljični dioksid), jer nespecifično povećavaju propusnost epitela i olakšavaju prodor peluda u sluznicu bronha (1). Alergenske čestice djeluju na dva načina: 1. specifičnim proteolitičkim djelovanjem povećavaju propusnost adhezijskih proteina - okcludina, kladina-1 i E-kadherina, smještenih u membrani (5), te 2. degradiraju bioaktivne peptide, što ih izravno čini sudionicima alergijske upale (6).

Osobe s izraženom preosjetljivošću razvit će simptome alergijske reakcije već pri vrlo maloj koncentraciji peluda u zraku. Umjerena koncentracija peluda izazvat će simptome

¹ Dječja bolnica Srebrnjak, Srebrnjak 100, Zagreb

² Dom zdravlja Varaždinske županije, Kolodvorska 20, Varaždin

Adresa za dopisivanje:

Anica Džajić, mag. med. lab. diagn., Dječja bolnica Srebrnjak, Srebrnjak 100, Zagreb, e-mail: dzajicanica@yahoo.com

Primljeno/Received: 01. 08. 2020.; Prihvaćeno/Accepted: 12. 10. 2020.

kod većine osjetljivih osoba, a izrazito povećana koncentracija peluda dovest će do očitovanja alergijske bolesti kod svih osoba s dokazanom preosjetljivošću (7).

Prema peludnom kalendaru za kontinentalnu Hrvatsku trave cvjetaju od početka svibnja do kraja srpnja (8). U tom je razdoblju koncentracija peluda veća od 6 zrnaca/m³ zraka. Najveća koncentracija postoji uglavnom od kraja svibnja do pretkraj lipnja - broj zrnaca tada je veći od 200 zrnaca/m³ zraka. Izvan tog razdoblja koncentracija peluda trava je mala (< 5 zrnaca/m³ zraka). U Hrvatskoj je 47% osoba s preosjetljivošću na alergene iz okoliša preosjetljivo na alergene trava (1).

Rdobrada (lat. *Dactylis glomerata*) je trava iz porodice *Poaceae*. Poznata je i pod nazivima oštrik, klupčata oštrica ili pasji zub (eng. *Cocksfoot*, njem. *Knäuelgrass*, franc. *Dactyle pelotonné*) (9). Rdobrada naraste do visine od jednog metra. Klupčasti cvatovi sadrže nekoliko skupljenih cvjetića. Raste na livadama, travnjacima, pustim zemljištima. Rasprostranjena je po cijeloj Europi, a cvjeta početkom i sredinom ljeta. Iz skupine alergena rdobrade izolirano je više glavnih alergena, primjerice *Dac g 1* (Mr = 21 - 31 kDa), *Dac g 2* (Mr = 29 - 30 kDa), *Dac g 3* (Mr = 14 kDa), *Dac g 4* (Mr = 59 kDa), i *Dac g 5* (Mr = 25 - 28 kDa). Molekularna masa varira od 14 kDa do 59 kDa (10). Alergenske molekule (komponente) vrlo su koncentrirane unutar peludnog zrnca. Osim u peludu, alergenske molekule mogu se dokazati u stabljici i listovima biljke (11).

U serumima osoba preosjetljivih na alergene rdobrade može se odrediti koncentracija specifičnog IgE-a (slgE-a) prema pojedinačnim alergenskim molekulama u različitim koncentracijama: u 95% bolesnika preosjetljivih na pelud rdobrade postoji slgE prema *Dac g1*. slgE prema *Dac g4* nalazi se u 88% preosjetljivih osoba, slgE prema *Dac g3* nalazi se u 60% preosjetljivih osoba, a slgE prema *Dac g2* nalazi se u 33% preosjetljivih osoba (12). *Dac g 4* je glavni alergen i pripada skupini alergenskih molekula koje su slične kod većine alergena trava, što znači da je riječ o križno reaktivnoj alergenskoj molekuli (13).

Laboratorijska dijagnostika alergija uključuje npr. određivanje koncentracije ukupnog IgE-a (ulgE) i slgE-a prema alergenskim ekstraktima i prema alergenskim molekulama, broj eozinofilnih granulocita (u krvi i nosnom obrisku), eozinofilnoga kationskog proteina (ECP) u serumu (14). Ti se parametri mogu smatrati biomarkerima alergijskih bolesti, jer ispunjavaju sve kriterije za odabir biomarkera: mogu objektivno i precizno odrediti preosjetljivost, omogućuju razlikovanje patoloških od normalnih biokemijskih procesa, u svakodnevnoj se praksi određuju radi otkrivanja bolesti, njenog stupnjevanja težine i aktivnosti, postavljanja prognoze bolesti te procjene i praćenja kliničkog odgovora na liječenje (15, 16).

Budući da koncentracija spomenutih biomarkera u djece s alergijom ovisi o izloženosti osobe uzročnome alergenu, cilj ovog istraživanja bio je odrediti vrijednosti 1) ulgE-a, 2) slgE-a prema alergenu trave *Dactylis glomerata* (*Dact g*), 3) udio slgE-a u odnosu na ulgE, izražen kao indeks specifičnog IgE-a (IslgE), te 4) broja eozinofilnih granulocita u krvi u sezoni cvjetanja rdobrade i izvan nje.

ISPITANICI I METODE

U ispitivanje su uključena djeca obrađena u alergološkoj ambulanti radi utvrđivanja etiologije respiratornih simptoma. Nakon dolaska u ambulantu svakom je djetetu obavljena alergološka i pulmološka obrada. Svi su postupci provedeni prema standardiziranom dijagnostičkom postupku i u skladu s etičkim načelima i Deklaracijom o ljudskim pravima iz Helsinkija 1975. i izmjenama iz Seula 2008. godine (17). Prije dijagnostičkog postupka roditelji su potpisali informirani pristanak, koji je priredilo bolničko Etičko povjerenstvo.

Odabrana su djeca s dijagnosticiranom alergijskom bolešću dišnog sustava (astma i/ili polenoza, odnosno alergijski rinitis), kod koje je dokazana preosjetljivost na alergene trave *Dac g* (N = 80). U istraživanje nisu isključena djeca s atopijskim dermatitisom. Djeca su svrstana u dvije skupine. U Skupinu 1 uključeno je 64-ero djece kod koje je krv uzorkovana u sezoni cvjetanja rdobrade, u razdoblju od svibnja do listopada, kad je, prema podacima *Nastavnog zavoda za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“* koncentracija peluda bila vrlo visoka (u rasponu od 6,0 do 11,9 zrnaca/m³). U Skupinu 2 uključeno je 16-ero djece kod koje je krv uzorkovana izvan sezone cvjetanja rdobrade, u razdoblju od siječnja do veljače kad je koncentracija peluda bila vrlo niska (manja od 2,0 zrnaca/m³).

METODE

Koncentracija ulgE-a i slgE-a određivana je kemiluminiscentnom imunokemijskom metodom, CLIA (eng. *Chemiluminiscent Immuno Assay*) na automatskom analizatoru Immulite 2000 XPI, (Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd, Lianberis, Gwynedd, Velika Britanija) s reagensima istog proizvođača (18). Uzorci s izrazito povećanim vrijednostima ulgE-a i slgE-a razrjeđivani su da bi se dobile egzaktnije vrijednosti. Indeks specifičnog IgE-a (IslgE) omjer je koncentracije specifičnog i ukupnog IgE-a, [slgE (kU_x/L) / ulgE (kIU/L)], a izražava se u jedinici (1). Broj eozinofilnih granulocita određen je na automatskom hematološkom brojaču Sysmex XT 1800i.

Statistička obrada obavljena je s pomoću programa MedCalc (Medisoftware, Mariakerke, Belgium). Kvantitativne varijable s normalnom raspodjelom (dob ispitanika) opisane

su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom ($\bar{x} \pm SD$), a varijable s nenormalnom raspodjelom raspona opisane su medijanom i interkvartilnim rasponom [M (IQR)]. Brojčani podatci uspoređeni su t-Student testom (podatci s normalnom raspodjelom) i Mann-Whitneyjevim testom (podatci s nenormalnom raspodjelom). Korelacija je izražena kao r.

ROC analiza (eng. *Receiver Operating Characteristic*) primijenjena je za određivanje dijagnostičke djelotvornosti. Izračunati su površina ispod ROC krivulje, tj. AUC (eng. *Area Under the Curve*), specifičnost i osjetljivost za optimalnu graničnu vrijednost pojedinog biomarkera. Vrijednosti $p < 0,05$ smatraju se statistički značajnima (19).

REZULTATI

Djeca uključena u istraživanje bila su u dobi od 1 - 17 godina ($\bar{x} \pm SD = 10 \pm 4$ godine). Djeca Skupine 1 (u sezoni cvjetanja) bila su u dobi od 10 ± 4 godine, a djeca Skupine 2 (izvan sezone cvjetanja) u dobi od 9 ± 3 godine. Nije postojala statistički značajna razlika u dobi između ispitivanih skupina djece ($p > 0,05$).

TABLICA 1. Koncentracija ukupnog IgE-a (ulgE), specifičnog IgE-a (slgE), indeksa specifičnog IgE-a (IslgE) u serumu i broja eozinofilnih granulocita (Eo) u krvi djece s preosjetljivošću na alergen *Dac g*; Skupina 1: djeca obrađena u sezoni cvjetanja trave *Dactylis glomerata*; Skupina 2: djeca obrađena izvan sezone cvjetanja trave *Dactylis glomerata*

	Skupina 1 (N = 64)	Skupina 2 (N = 16)	p
u IgE (kIU/L)			
raspon	42,2 - 7840,0	45,7 - 2380,0	
M (IQR)	309,0 (169,8-706,0)	129,0 (103,3-235,0)	0,012
slgE (kIU _A /L)			
raspon	2,52 - 5370,0	0,45 - 90,0	
M (IQR)	30,5 (11,6-73,2)	4,10 (2,60-13,28)	0,0001
IslgE (1)			
raspon	0,002 - 0,98	0,001 - 0,16	
M (IQR)	0,10 (0,03-0,41)	0,02 (0,01-0,09)	0,003
Eo (n x 10 ⁶ /L)			
raspon	80 - 8000	80 - 540	
M (IQR)	470 (268-708)	255 (230-350)	0,037

M – medijan; IQR – interkvartilni raspon; p - statistička značajnost

Razlika u koncentraciji ulgE-a između skupina bila je statistički značajna ($p = 0,012$) (Tablica 1). U Skupini 1 (u sezoni cvjetanja) raspon koncentracija je bio od 42,2 do 7840,0 kIU/L, [M(IQR) = 309,0 (169,8 - 706,0)] kIU/L, a u djece Skupine 2 (izvan sezone cvjetanja) raspon koncentracija je bio znatno manji, i to od 45,7 do 2380,0 kIU/L, [M(IQR) = 129,0 (103,3 - 235,0)] kIU/L. Vrijednost medijana (309,0 kIU/L) u djece Skupine 1 bila je 2,4 puta veća nego vrijednost medijana (129,0 kIU/L) u djece Skupine 2.

Koncentracija slgE-a bila je statistički značajno veća u Skupini 1 ($p = 0,0001$). U Skupini 1 (u sezoni cvjetanja) koncentracije slgE-a bile su od 2,52 do 5370,0 kIU_A/L, [M(IQR) = 30,5 (11,6 - 73,2)] kIU_A/L, a u djece obrađene izvan sezone cvjetanja (Skupina 2) koncentracija slgE-a bile su znatno niže i kretnale su se od 0,45 do 90,0 kIU_A/L, [M(IQR) = 4,10 (2,60 - 13,28)] kIU_A/L (Tablica 1). Vrijednost medijana (30,5 kIU_A/L) u djece Skupine 1 bila je 7,4 puta veća nego vrijednost medijana (4,1 kIU_A/L) u Skupini 2.

U Skupini 1 (sezona cvjetanja) raspon vrijednosti IslgE-a bio je od 0,002 - 0,98, [M(IQR) = 0,10 (0,03 - 0,41)], a u djece Skupine 2 (izvan sezone cvjetanja) 0,001 - 0,16, [M(IQR) = 0,02 (0,01 - 0,09)]. Razlika u koncentraciji između skupina bila je statistički značajna ($p = 0,003$). Vrijednost medijana (0,10) u djece Skupine 1 bila je 5 puta veća nego vrijednost medijana (0,02) u Skupini 2.

Djeca obrađena u sezoni cvjetanja (Skupina 1) imala su broj eozinofilnih granulocita u rasponu od 80 - 8000 x 10⁶/L, [M(IQR) = 470 (268 - 708)] x 10⁶/L, a djeca Skupine 2 (izvan sezone cvjetanja) od 80 - 540 x 10⁶/L, [M(IQR) = 255 (230 - 350)] x 10⁶/L. Razlika u koncentraciji između skupina bila je statistički značajna ($p = 0,037$). Vrijednost medijana (470 x 10⁶/L) u djece Skupine 1 bila je 1,8 puta veća nego vrijednost medijana (255 x 10⁶/L) u Skupini 2.

Dobivene vrijednosti koeficijenta korelacije, r (Tablica 2), u Skupini 1 pokazale su da je IslgE bio obrnuto razmjeran ($r = -0,667$) s koncentracijom slgE-a ($p < 0,0001$), što znači da je postojala umjerena do dobra povezanost. Neznatna povezanost postojala je između IslgE-a i ulgE-a ($r = -0,327$; $p =$

TABLICA 2. Korelacija između pojedinih biomarkera u djece s preosjetljivošću na alergen *Dac g*; Skupina 1: djeca obrađena u sezoni cvjetanja trave *Dactylis glomerata*; Skupina 2: djeca obrađena izvan sezone cvjetanja trave *Dactylis glomerata*

		Skupina 1 (N = 64)	Skupina 2 (N = 16)
IslgE : ulgE	r	-0,327	-0,435
	p	0,009	0,092
IslgE : slgE	r	-0,667	-0,415
	p	<0,0001	0,108
IslgE : Eo	r	0,004	-0,397
	p	0,969	0,125
ulgE : slgE	r	0,317	0,444
	p	0,005	0,085
ulgE : Eo	r	0,430	0,707
	p	0,0001	0,006
slgE : Eo	r	0,255	0,496
	p	0,023	0,055

ulgE - ukupni IgE; slgE - specifični IgE prema alergenu *Dac g*, IslgE - indeks specifičnog IgE-a, Eo - eozinofilni granulociti; r - koeficijent korelacije; p - statistička značajnost

TABLICA 3. ROC analiza za ukupni IgE (ulgE), specifični IgE (slgE), indeks specifičnoga IgE-a (IslgE) i broj eozinofilnih granulocita (eEo) u krvi djece s preosjetljivošću na alergen *Dac g*; usporedba između Skupine 1 (u sezoni cvjetanja) i Skupine 2: djeca (izvan sezone cvjetanja) trave *Dactylis glomerata*

ROC analiza	ulgE (kIU/L)	slgE (kIU _A /L)	IslgE (1)	Eo (n x 10 ⁶ /L)
Granična vrijednost	> 159	> 8,85	> 0,16	> 420
AUC	0,703	0,812	0,741	0,745
Osjetljivost (%)	78,5	80	40,6	61,5
Specifičnost (%)	62,5	75	100	93,7
p	0,002	< 0,001	0,001	< 0,001

0,009), između ulgE-a i slgE-a ($r = 0,317$; $p = 0,005$), između ulgE-a i broja eozinofilnih granulocita ($r = 0,430$; $p = 0,0001$), te između slgE-a i broja eozinofilnih granulocita ($r = 0,255$; $p = 0,023$). U Skupini 2 postojala je umjerena do dobra povezanost između ulgE-a i broja eozinofilnih granulocita ($r = 0,707$; $p = 0,006$).

Dijagnostička značajnost mjerenja biomarkera alergije određena je pomoću ROC analize. Rezultati su prikazani na Tablici 3. Najmanju dijagnostičku djelotvornost imala je granična vrijednost za ulgE (159 kIU/L; AUC = 0,703 - dovoljno dobra dijagnostička djelotvornost), a najbolju graničnu vrijednost za slgE (8,85 kIU_A/L; AUC = 0,812 - vrlo dobra dijagnostička djelotvornost). Granične vrijednosti za IslgE (0,6; AUC = 0,741) i broj eozinofilnih granulocita (420 x 10⁶/L) imali su dobru dijagnostičku djelotvornost. Kod oba biomarkera dijagnostička specifičnost bila je bolja od dijagnostičke osjetljivosti. Dijagnostička specifičnost od 100 % za IslgE upućuje na to da su svi ispitanici analizirani izvan sezone cvatnje rdobrade imali vrijednost IslgE-a manju od 0,16.

Dijagnostička osjetljivost za slgE (80%) pokazuje da je 80% djece praćeno u sezoni cvatnje rdobrade imalo graničnu koncentraciju slgE-a veću od granične vrijednosti 8,85 kIU_A/L. Istodobno dijagnostička specifičnost od 75% pokazuje da je 75 % djece praćene izvan sezone cvjetanja rdobrade imalo graničnu koncentraciju slgE-a manju od te granične vrijednosti.

RASPRAVA

Ovo je istraživanje pokazalo da vrijednosti biomarkera alergije - ulgE, slgE, IslgE i broj eozinofilnih granulocita - ovise o izloženosti peludnim zrcima iz zraka. U sezoni cvjetanja rdobrade vrijednosti svih biomarkera alergije značajno su bile veće nego izvan sezone cvjetanja, što upućuje na to da je za interpretaciju laboratorijskih nalaza važno znati u koje doba godine je krv uzorkovana s obzirom na prisutnost ispitivanog alergena u okolišu, osobito ako se pacijent bude pratio dulje vrijeme. Tome u prilog idu i podatci o boljoj ko-

relaciji između pojedinih biomarkera u sezoni cvjetanja rdobrade. Dobiveni rezultati upućuju na to da bi biomarkere, a osobito slgE i IslgE, trebalo određivati u vrijeme izloženosti alergenu *Dac g*.

Vrijednost ulgE-a i slgE-a u serumu kao ni broj eozinofilnih granulocita u krvi nije statična varijabla, jer ovisi o izloženosti uzročnome alergenu (20, 21). Činjenica da su vrijednosti slgE-a (7,4 puta) i IslgE-a (5 puta) značajno veće u sezoni izloženosti alergenima nego izvan nje, upozorava na to da se vrijednosti tih biomarkera moraju oprezno interpretirati ako se određuju izvan sezone izloženosti alergenu, neovisno o tome određuju li se u dijagnostičku ili prognostičku svrhu (21). Eozinofilni granulociti se nakupljaju u tkivu unutar 24 sata od izloženosti uzročnom alergenu. Tijekom desetak dana njihov broj u tkivima može biti veći i do 300 puta (22).

Malo je podataka u literaturi o kritičnim koncentracijama slgE-a koje bi uzrokovala simptome bolesti. Ta kritična vrijednost nije jednaka za sve alergene - cjelogodišnje i sezonske (23). Neovisno o vrsti alergena srednja koncentracija iznosi 11,7 kIU_A/L. Dok je za sezonske alergene srednja vrijednost 10,7 kIU_A/L, za cjelogodišnje alergene ona je manja te iznosi 8,4 kIU_A/L. Ta razlika postoji jer je cjelogodišnja izloženost manjim dozama uzrok veće indukcije sinteze slgE-a nego sezonska izloženost većem broju peludnih alergena (24). Prema nekim autorima granična vrijednost za slgE od 0,35 kIU_A/L u djece mlađe od dvije godine mogla bi imati značajnu predvidljivu vrijednost za kasnije očitovanje astme (25). U ovom istraživanju nije određivana srednja vrijednost slgE-a, a granična vrijednost sezonske razlike u njegovoj koncentraciji iznosila je 8,85 kIU_A/L.

Razrjeđivanje uzorka seruma za dobivanje egzaktnih vrijednosti ulgE-a i slgE-a omogućilo je i izračunavanje IslgE-a za sve ispitanike. Izračunata dijagnostička djelotvornost, osobito 100 %-tna specifičnost, za graničnu vrijednost od 0,16 potvrdila je opravdanost njegovog izračunavanja. Temeljem podatka o IslgE-u za svakog pojedinog bolesnika moglo bi se procijeniti je li riječ o monosenzibilizaciji ili o polisenzibilizaciji na uzročne alergene. Manji IslgE za neki alergen upućuje na polisenzibilizaciju, a indeks koji se približava vrijednosti 1,0 upućuje na monosenzibilizaciju. U istraživanjima preosjetljivosti na alergene mlijeka pokazalo se da se pomoću IslgE-a može razlikovati alergija na mlijeko od tolerancije/intolerancije na proteine mlijeka (26), a uočeno je i da korelira s provokacijskim pokusima prema proteinima mlijeka, jaja i brašna (27). Prema talijanskom istraživanju vrijednosti IslgE-a su različite ovisno o vrsti alergena. Tako je u djece preosjetljive na alergene kravljeg mlijeka iznosio je 0,79, na alergene jaja 0,86, a na alergene brašna 0,66. U našem prethodnom istraživanju kod preosjetljivosti na alergen breze određena je granična vrijednost od 0,15 (28). Osim toga,

pokazalo se da sIgE može pomoći u procjeni uspješnosti ASIT-a prema alergenu grinje iz kućne prašine (29). Autori su pokazali da je sIgE > 0,16 korelirao s uspješnim ishodom ASIT-a. Rezultati sličnog istraživanja turskih autora iz 2012. godine bili su sukladni s rezultatima talijanskih autora (23).

Iako u ovom istraživanju nije provedeno longitudinalno praćenje pojedinih biomarkera, osobito sIgE-a i sIgE-a u odbaženoj skupini bolesnika, dobiveni rezultati upućuju na to da je pouzdanost rezultata bolja ako se biomarkeri određuju u sezoni peludacije alergenske biljke. Dobiveni rezultati mogu biti polazište za buduća istraživanja u kojima bi se vrijednosti biomarkera alergije dobiveni u sezoni izloženosti uzročnim alergenima mogli korelirati s težinom bolesti, uspješnosti liječenja, uključujući i specifičnu imunoterapiju.

LITERATURA

- Peternel R, Toth I, Hercog P, Vojniković B, Čop R, Bradić-Hammoud M. Influence of aeroallergens on the incidence of conjunctivitis in Zagreb and Zagreb County. *Coll Antropol.* 2013;37 (Suppl 1):13-7. <https://hrcak.srce.hr/102770>
- D'Amato G, Holgate ST, Pawankar R i sur. Meteorological conditions, climate change, new emerging factors, and asthma and related allergic disorders. A statement of the World Allergy Organization. *World Allergy Org J.* 2015;8:25. doi: 10.1186/s40413-015-0073-0. eCollection 2015.
- Peternel R, Bokan I. Peludne alergije (Pollinic allergies). *Hrvatski časopis za javno zdravstvo.* 2006;2:3. <http://hcjz.hr/index.php/hcjz/article/view/1861>
- Gaga M, Vignola AM, Chanez P. Upper and lower airways: similarities and differences. *Eur Respir Mon.* 2001;18:1-15. Dostupno na: <https://www.yumpu.com/en/document/read/11348832/upper-and-lower-airways-similarities-and-differences-ers-education>. Preuzeto: 21. 6. 2020.
- Vinhas R, Cortes L, Cardoso I i sur. Pollen proteases compromise the airway epithelial barrier through degradation of transmembrane adhesion proteins and lung bioactive peptides. *Allergy.* 2011;66:1088-98. doi: 10.1111/j.1398-9995.2011.02598.x.
- Runswick S, Mitchell T, Davies P, Robinson C, Garrod DR. Pollen proteolytic enzymes degrade tight junctions. *Respirology.* 2007;12:834-42. doi: 10.1111/j.1440-1843.2007.01175.x.
- Peternel R, Čulig J, Srncić B, Mitić B, Vukušić I, Hrga I. Variation in ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) pollen concentration in central Croatia, 2002-2003. *Ann Agric Environ Med.* 2005;12:11-6.
- Hrga I, Stjepanović B. Alergijski semafor, peludna prognoza i peludni kalendar. <http://www.stampar.hr/hr/peludna-grad/1>. Preuzeto: 28. 6. 2020.
- Dodig S. *Astma.* Medicinska naklada, Zagreb 1997.
- Guerin-Marchand C, Senechal H, Bouin AP i sur. Cloning, sequencing and immunological characterization of Dac g 3, a major allergen from *Dactylis glomerata* pollen. *Mol Immunol.* 1996;33:797-806. doi: 10.1016/0161-5890(96)00015-6
- Finkina EI, Melnikova DN, Bogdanov IV, Ovchinnikova TV. Lipid transfer proteins as components of the plant innate immune system: structure, functions, and applications. *Acta Naturae.* 2016;8:47-61. PMID: PMC4947988
- Allergen nomenclature, WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee. <http://www.allergen.org/search.php?Species=Dactylis%20glomerata>. Preuzeto: 22. 6. 2020.
- Leduc-Brodard V, Inacio F, Jaquinod M, Forest E, David B, Peltre G. Characterization of Dac g 4, a major basic allergen from *Dactylis glomerata* pollen. *J Allergy Clin Immunol.* 1996;98(6 Pt 1):1065-72. doi: 10.1016/S0091-6749(96)80193-x
- Dodig S. Current laboratory diagnosis of allergy. *Rad HAZU. Medicinske znanosti.* 2008;499:117-28. UDK:616-022.8/9-07.
- Atkinson AJ, Colburn WA, DeGruttola VG i sur. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69:89-95. doi: 10.1067/mcp.2001.113989
- Lesko LJ, Atkinson AJ. Use of biomarkers and surrogate endpoints in drug development and regulatory decision making: criteria, validation, strategies. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2001;41:347-66. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.41.1.347.
- World Medical Association Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. <http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>. Preuzeto: 5. 7. 2020.
- Li T, Chuang T, Tse S, Hovanec-Burns D, El Shami A. Development and validation of a third generation allergen-specific IgE assay on the continuous random access IMMULITE 2000 analyzer. *Ann Clin Lab Sci.* 2004;34:67-74. PMID: 15038670.
- Marusteri M, Bacarea V. Comparing groups for statistical differences: how to choose the right statistical test? *Biochem Med.* 2010;20:15-32. doi: 10.11613/BM.2010.004
- Platts-Mills TAE. Local production of IgG, IgA and IgE antibodies in grass pollen hay fever. *J Immunol.* 1979;122:2218-22. PMID: 448124.
- Ahlstedt S. Understanding the usefulness of specific IgE tests in allergy. *Clin Exp Allergy.* 2002;32:11-6. doi: 10.1046/j.0022-047.2001.01289.x.
- Malm-Erfjält M, Greiff L, Ankerst J i sur. Circulating eosinophils in asthma, allergic rhinitis, and atopic dermatitis lack morphological signs of degranulation. *Clin Exp Allergy.* 2005;35:1334-40. doi: 10.1111/j.1365-2222.2005.02335.x.
- Pastorello EA, Incorvaia C, Ortolani C i sur. Studies on the relationship between the level of specific IgE antibodies and the clinical expression of allergy: I. Definition of levels distinguishing patients with symptomatic from patients with asymptomatic allergy to common aeroallergens. *J Allergy Clin Immunol.* 1995;96:580-7. doi: 10.1016/S0091-6749(95)70255-5.
- Nelde A, Teufel M, Hahn C, Duschl A, Sebald W, Broecker EB, Grunewald SM. The impact of the route and frequency of antigen exposure on the IgE response in allergy. *Allergy Immunol.* 2001;124:461-9. doi: 10.1159/000053781
- Kotaniemi-Syrjänen A, Reijonen TM, Romppanen J, Korhonen K, Savolainen K, Korppi M. Allergen-specific immunoglobulin E antibodies in wheezing infants: the risk for asthma in later childhood. *Pediatrics.* 2003;111:e255-e261. doi: 10.1542/peds.111.3.e255
- Machinena A, Alvaro M, Lozano J i sur. Usefulness of the ratio total IgE/specific IgE (sIgE) to predict tolerance in children allergic to cow's milk proteins (CMP). *Clin Transl Allergy.* 2013;3 (Suppl 3): P101. doi: 10.1186/2045-7022-3-S3-P101
- Mehl A, Verstege A, Staden U i sur. Utility of the ratio of food-specific IgE/total IgE in predicting symptomatic food allergy in children. *Allergy.* 2005;60:1034-9. doi: 10.1111/j.1398-9995.2005.00806.x
- Dodig S, Petković G, Kristić Kirin B. Određivanje izrazito povećanih koncentracija specifičnoga IgE i indeksa specifičnoga IgE prema alergenu *Ambrosia artemisiifolia*. *Paed Croat.* 2015;59:208-13. doi: 10.13112/PC.2015.31
- Di Lorenzo G, Mansueto P, Pacor ML i sur. Evaluation of serum s-IgE/total IgE ratio in predicting clinical response to allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123:1103-10. doi: 10.1016/j.jaci.2009.02.012

SUMMARY

Biomarkers of allergy in children hypersensitive to *Dactylis glomerata* allergen during cocksfoot pollination season

Anica Džajić, Giorgije Petković, Mateja Šegović

*The aim was to compare the values of allergy biomarkers, total IgE (ulgE), specific IgE (slgE) and specific IgE index (IslgE) against the cocksfoot (*Dactylis glomerata*, *Dac g*) grass allergen and eosinophilic granulocytes in and beyond the pollination season. Children with confirmed hypersensitivity to cocksfoot allergens (N=80) were selected and divided into two groups. Group 1 included children examined during the pollination season (n=64) and group 2 children examined out of the pollination season (n=16). The concentration of selected parameters was determined by standardized laboratory procedures. The values of all allergy biomarkers tested, especially slgE and IslgE, were statistically significantly higher in the group of children tested during the cocksfoot flowering season as compared with the group tested out of the season ($p < 0.05$). Consequently, correlation of the biomarkers was higher during the season of exposure to the causative allergen. In conclusion, the results obtained indicate that biomarkers of allergies, slgE and IslgE in particular, should be determined at the time of exposure to the *Dac g* allergen.*

Key words: ALLERGY AND IMMUNOLOGY; BIOMARKERS; IMMUNOGLOBULIN E