

Pyłek roślin i alergenów sezonowe w Polsce

Plant pollen and seasonal allergens in Poland

BARBARA MAJKOWSKA-WOJCIECHOWSKA

Klinika Immunologii, Reumatologii i Alergii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Ośrodek Monitorowania Aeroalergenów AMoC

Streszczenie

Najczęstszą przyczynę objawów sezonowego alergicznego nieżyty nosa w Polsce stanowi alergia wobec pyłku roślin, szczególnie wyraźna w populacjach mieszkańców dużych miast. Na podstawie dostępnej literatury, przedstawiono stopień ekspozycji wobec dwudziestu taksonów roślin, monitorowanych w siedmiu miastach Polski: w Szczecinie, Łodzi, Wrocławiu, Krakowie, Sosnowcu, Lublinie i Rzeszowie. Stwierdzono, że najwyższa roczna ekspozycja była związana z pyłkiem brzozy (przy czym największe średnie sumy roczne zaobserwowano w Łodzi); następnie z pyłkiem traw (najwyższe średnie odnotowano w Rzeszowie), olszy i bylicy (najwięcej stwierdzono we Wrocławiu), leszczyny (najwięcej było w Sosnowcu) i ambrozji (najwięcej uzyskano Rzeszowie). Stwierdzono też, że w Polsce najdłużej utrzymuje się w powietrzu pyłek traw (średnio około 3,5 miesiąca), następnie pyłek bylicy, leszczyny, olszy, ambrozji. Stosunkowo krótko trwa pylenie brzozy – średnio jeden miesiąc. Duże zróżnicowanie przedstawionych wartości, nawet w odniesieniu do pobliskich miast, wskazuje, że korzystanie z wieloletnich kalendarzy pylenia np. podczas kwalifikacji do immunoterapii czy monitorowania leczenia powinno być zastąpione korzystaniem z danych regionalnych. W pracy przedstawiono także przegląd najnowszych badań z zakresu epidemiologii oraz cech alergenów pyłku istotnych w Polsce, w odniesieniu do ich immunogenności.

Słowa kluczowe: pyłek roślin w Polsce, alergenów pyłków, epidemiologia

Summary

The most common cause of seasonal allergic rhinitis in Poland is the allergy to pollen allergens, particularly pronounced in populations of large cities residents. Based on the available literature, the study shows the degree of exposure to the twenty pollen taxa, monitored in seven Polish cities: Szczecin, Łódź, Wrocław, Kraków, Sosnowiec, Lublin and Rzeszów. It was found that the highest annual exposure was associated with birch pollen taxon (the highest average annual totals were observed in Łódź); followed by grass pollen (the highest average recorded in Rzeszów), alder and mugwort (mostly founded in Wrocław), hazel (the highest was in Sosnowiec) and ambrosia (the highest achieved in Rzeszów). It was also found that grass pollen was present in the air for the longest time (an average of about 3.5 months), following mugwort pollen, hazel, alder and ragweed. The relatively shortest period was observed for birch pollen - an average of one month. The wide variation in the average values, even in relation to nearby towns, indicates that the use of long-term pollen calendar should be replaced by use of regional data, especially in qualifying patients for immunotherapy or treatment monitoring. The paper also presents an overview of the latest research in the field of epidemiology and characteristics of pollen allergens important in Poland, with respect to their immunogenicity.

Keywords: plant pollen in Poland, pollen allergens, pollen epidemiology

© *Alergia Astma Immunologia* 2016, 21 (1): 5-15

www.alergia-astma-immunologia.pl

Przyjęto do druku: marzec 2016

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Dr n. med. Barbara Majkowska-Wojciechowska
Klinika Immunologii, Reumatologii i Alergii UM w Łodzi
Ul. Pomorska 251,
92-213 Łódź

Wprowadzenie

Ekstremalnie szybki wzrost częstości alergii pyłkowej, obserwowany w ostatnim stuleciu, zobligował naukowców z wielu dziedzin do prowadzenia intensywnych badań o charakterze interdyscyplinarnym. Przyniosło to bogactwo danych empirycznych na temat stężeń pyłku roślin i alergenów, mechanizmów immunologicznych i informacji z dziedzin pokrewnych. Pyłek roślin jest strukturą niezwykle bogatą w składniki zarówno odżywcze, antyoksydacyjne, odtruwające, regeneracyjne, jak i lecznicze (ryc. 1) [1]. Spośród ogromnej liczby związków chemicznych obecnych w ziarnach pyłku, niektóre przyczyniają się do rozwoju alergii o charakterze IgE-zależnym.

Celem pracy jest przedstawienie wartości stężeń pyłku roślin w wybranych miastach Polski, w „panoramicznym”

kontekście danych epidemiologicznych i czynników ryzyka rozwoju alergii pyłkowej, a także doniesień na temat identyfikacji i charakterystyki alergenów sezonowych o istotnym znaczeniu klinicznym.

Uczulenia i alergia pyłkowa a stopień ekspozycji

Alergiczny nieżyt nosa (ANN) jest uznawany za najczęstszą alergiczną chorobę populacji świata, a jednak znacznie różni się w poszczególnych regionach. Międzynarodowe badania astmy i alergii w dzieciństwie (ISAAC) wykazały, że częstość występowania astmy i alergicznego nieżyty nosa i spojówek różni aż 20-40-krotnie w różnych krajach. W wielu doniesieniach stwierdzono dodatnie korelacje pomiędzy stopniem ekspozycji na pyłek roślin i częstością występowania alergii pyłkowej zarówno u dzieci, jak i dorosłych [2,3]. Np. bada-

nia z Nowego Jorku wskazały, że terminy najwyższych stężeń pyłku klinicznie istotnych taksonów drzew z tego regionu (wiału, topoli, klonu, brzozy, buka, jesionu, jawora/platana klonolistnego, dębu, orzecha amerykańskiego), monitorowanych w ciągu jedenastu lat badań, pokrywały się z nasileniem zaostrzeń objawów alergii i astmy, zwłaszcza u dzieci. W okresach najwyższych stężeń pyłku zaobserwowano też najwyższą dystrybucję leków przeciwalergiczych na terenie tej ponad ośmiomilionowej metropolii. Interesujące badania z tego zakresu przeprowadzono też wśród genetycznie jednorodnej populacji Inuitów, z trzech bardzo zróżnicowanych klimatycznie regionów: Danii oraz z miejscowości południowej i północnej Grenlandii. Stwierdzono, że częstości uczuleń Inuitów z tych regionów w dużym stopniu odzwierciedlały stopień ekspozycji na alergeny pyłku. Były one wielokrotnie wyższe w Danii, dużo niższe w południowej i najniższe w północnej części Grenlandii. Europejskie badania o akronimie G²alen wykazały, że profile uczuleniowe wobec różnych taksonów pyłku zmieniają się w zależności od położenia geograficznego badanej populacji i u ponad 50% pacjentów z całorocznym ANN stwierdzono uczulenia na alergeny pyłku roślin.

W niedawnej publikacji Florack i wsp. przedstawili perspektywne porównania nasilenia objawów alergicznego niezłytu nosa wobec ekspozycji na dzienne wahania lokalnych stężeń pyłku traw [5]. Uzyskane wyniki wskazały na konieczność zindywidualizowanego podejścia wobec poszczególnych pacjentów, z powodu różnych progów wrażliwości poszczególnych osób.

Komory ekspozycyjne stosowane w badaniach alergii pyłkowej

Do niedawna, tradycyjnie oceny stopnia wrażliwości i badania kliniczne leków, w tym preparatów do immunoterapii, opierały się na ocenie objawów występujących po

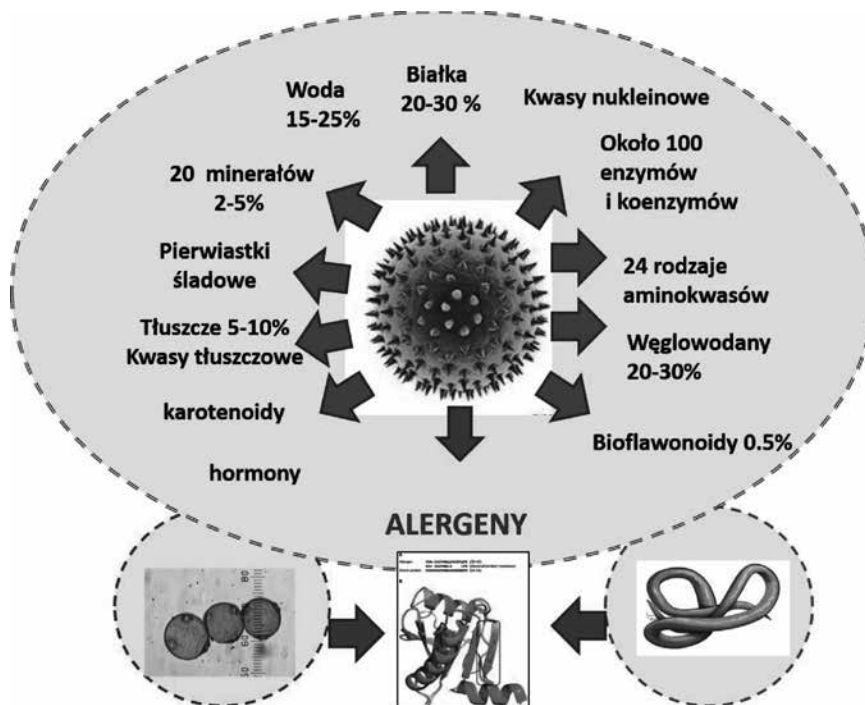
naturalnej, lecz zmiennej ekspozycji na pyłek roślin. Z tego powodu kwestionowano czułość i powtarzalność wyników badań. Nowe metody opracowane przez Horaka i Jeagera [6], polegają na korzystaniu ze specjalnych komór znanych jako *Vienna Challenge Chamber*, które umożliwiają prowadzenie badań farmakodynamicznych i klinicznych w ściśle standaryzowanych i powtarzalnych warunkach ekspozycji na alergeny pyłku [7,8].

Wyniki badań epidemiologicznych w Polsce

Badania epidemiologiczne prowadzone na terenie Polski wskazują, że dodatnie wyniki testów skórnych, w hierarchii częstości, zazwyczaj ustępują jedynie alergenom roztoczy. Według ogólnopolskich badań ECAP, alergeny pyłku traw to, klinicznie najistotniejsza grupa aeroalergenów w Polsce. Stwierdzono, że średnio 21% badanych miało dodatnie wyniki testów skórnych wobec ekstraktów traw, w tym 16% osób zgłaszało objawy w sezonie ich pylenia. Następane taksony pod względem częstości uczuleń to bylica, gdzie stwierdzono odpowiednio 16% uczulonych, a dla 5,5% był to takson istotny klinicznie, brzoza odpowiednio 15% / 8%, leszczyna 11% / 4,7%, olsza 11% / 4,6%, babka 8,6% / 1,7% [9].

Stwierdzono, że zdecydowana większość dzieci z ANN (około 30%) ma objawy sezonowe, co sugeruje, że alergeny pyłku roślin są wysoce istotne klinicznie [10].

W Polsce i w Europie najczęstszą przyczynę uczuleń i sezonowego ANN stanowi alergia wobec pyłku roślin, szczególnie wyraźna w populacjach mieszkańców dużych miast. Dorastanie w zanieczyszczonym środowisku miejskim lokuje wiele dzieci w grupie podwyższonego ryzyka wystąpienia alergii już we wczesnym dzieciństwie. Np. nasze badania prowadzone w grupie dzieci gimnazjalnych z dzielnicy Łódź-Śródmieście w wieku 12-16 lat wskazały na wysoką częstość uczuleń na alergeny pyłku roślin, u 31% wobec pyłku traw, u 25% wobec pyłku bylicy, u 21% wobec pyłku brzozy, na-



<http://journals.plos.org/ploscompbiol/article?id=10.1371/journal.pcbi.1004546>

Ryc. 1. Pyłek roślin jest strukturą niezwykle bogatą w składniki odżywcze, 40% jego zawartości to białka, które mogą być alergenami. Alergenne białka pyłku posiadają unikatowe epitopy, podobne w pyłku i pasożytach, które są powodem reakcji krzyżowych

tomiast u dzieci wiejskich województwa łódzkiego, wartości te były wielokrotnie niższe, i wynosiły odpowiednio 6% dla pyłku traw, 3% dla bylicy i 2,5% dla brzozy [11].

Różnice częstości uczuleń często dotyczą nawet różnych regionów pojedynczego miasta. Badania częstości uczuleń oceniane u dzieci w wieku 7-15 lat, były istotnie wyższe w dzielnicy Łódź-Śródmieście w porównaniu do oddalonej od centrum dzielnicy Łódź-Górna i wyniosły odpowiednio 19% wobec 8% dla ekstraktów pyłku traw, 16% wobec 5% dla chwastów, 12% wobec 4% dla pyłku drzew [12].

Z kolei w grupie dorosłych pacjentów Ośrodka Diagnostyki i Leczenia Astmy i Alergii CSK w Łodzi, którzy mieli wykonane testy skórne na alergenów drzew, najczęstsze było uczulenie na ekstrakty pyłku brzozy (81%). U 95% chorych, u których wykonano badania wobec traw, stwierdzono obecność uczuleń na każdy z badanych taksonów traw/zbóż, a wśród pacjentów, którym wykonano testy skórne wobec ekstraktów chwastów, najczęstsze było uczulenie na bylicę (80,1%) i komosę (75,1%). Co ciekawe, liczba osób, u których reakcje można było określić jako monowalentne, była bardzo ograniczona, bo stwierdzono je jedynie u 10,65% pacjentów uczulonych na alergenów pyłku drzew, u 0,8% uczulonych na trawy i u 3% uczulonych na chwasty [13]. Wy tłumaczeniem tego zjawiska jest koncepcja reaktywności krzyżowej przeciwciał IgE, gdzie pierwotna reakcja wywołana przeciw danemu alergenowi, może się z czasem rozszerzać się na podobne białka i sIgE mogą wiązać homologiczne cząsteczki pochodzące z innych źródeł. Np. alergenów z grupy podobnych do Bet v 1, można znaleźć w pyłku drzew z rzędu bukowców (który obejmuje około 800 gatunków na świecie). W Polsce występuje kilka taksonów, obok brzozy i jej głównego alergenu Bet v 1, chorzy ekspozycyjni są na pyłek i homologiczne alergenów: olszy Aln g 1, grabu Car b 1, leszczyny Cor a 1, buka Fag s 1, dębu Que a 1.

Czynniki ryzyka alergii pyłkowej

Ziarna pyłku i zarodniki grzybów mikroskopowych, w zależności od lokalizacji, stanowią 4-11% całkowitej masy cząstek zawieszonych w powietrzu atmosferycznym [14]. Raporty o aktualnych stężeniach pyłku roślin powinny być prezentowane w kontekście informacji na temat zanieczyszczeń atmosferycznych [15], gdyż zanieczyszczenia mogą mieć wpływ zarówno na wzrost alergogenności pyłku, jak i na wzajemne oddziaływanie pomiędzy alergenami i elementami układu odpornościowego ludzi i zwierząt [16,17]. Według Woodfolk i wsp. [18] wzrost częstości chorób alergicznych nastąpił w krajach rozwiniętych wraz ze znacznym postępowaniem higieny, gdyż obecnie można zauważyć, że w ubogich wsiach biednych krajów, np. w Kenii, Etiopii i Ekwadorze, a nawet w biednych dzielnicach dużych miast, alergologia nie stanowi problemu. Podobnie badania Stelmach i wsp. [19], prowadzone u dzieci mieszkających w sierocińcach w Łodzi, wskazały na istotnie niższą częstość atopii (12,5%) i chorób atopowych niż w populacji ogólnej (25,4-40,2%), np. sezonowy alergiczny nieżyt nosa stwierdzono u jedynie u 2,5% (3 z 120) dzieci.

Stężenia pyłku a objawy

W wielu pracach opisywano, że u pacjentów z alergicznym nieżytem nosa, objawy stają się coraz częstsze i bardziej dotkliwe, gdy wzrastają stężenia pyłku w powietrzu. Ponadto, wobec pacjentów z astmą częściej odnotowywano konieczność hospitalizacji, a nawet szukania pomocy na oddziałach ratunkowych, gdy stężenia pyłku wzrastały.

Jednak, procesy immunizacji wobec alergenów pyłku z pewnością są wypadkową wielu złożonych uwarunkowań i z pewnością są różne, w różnych środowiskach. Nasze badania (opisane już wcześniej) przeprowadzone wśród dzieci Łodzi i województwa łódzkiego nie wykazały związku między częstością dodatnich testów skórnych i liczbą ziaren pyłku w powietrzu atmosferycznym [11]. Ekspozycja wydaje się mieć szczególne znaczenie u osób już wcześniej uczulonych. Natomiast duże rozbieżności w częstościach uczuleń jakie zostały stwierdzone pomiędzy populacją dzieci miejskich i wiejskich mogą być wyjaśnione przez niejednorodność środowiskową, inny styl życia w dzieciństwie, a nawet już na etapie życia prenatalnego, ponadto różnice odżywiania, zanieczyszczeń powietrza, metod uprawy lokalnych roślin, a także wiele innych współistniejących czynników ryzyka, przedstawionych w pracy. Niedawne badania wskazują też, że do czynników sprzyjających alergii pyłkowej może należeć dysbioza przewodu pokarmowego (wywoływana np. przez przewlekłe stosowanie antybiotyków, leków antykoncepcyjnych i innych), przy czym najsilniej zaznaczona była w przypadkach uczuleń na alergenów orzechów i pokrewnych alergenów pyłku [21].

Alergogenność pyłku roślin a zanieczyszczenia powietrza

Wzrost częstości alergii pyłkowej w zurbanizowanych środowiskach miejskich, skłonił wielu badaczy do intensyfikacji badań i poszukiwań czynników mających bezpośredni wpływ na alergogenność potencjał pyłku roślin. Wśród wielu analizowanych zanieczyszczeń, największe znaczenie przypisuje się dwóm z nich NO₂ (obecnego w spalinach) i O₃. Ozon, który jest zanieczyszczeniem wtórnym (powstaje w wyniku reakcji fotochemicznych z tlenków azotu, a także z lotnych związków organicznych, np. VOC), jest uważany za związek mający bezpośredni wpływ na zdrowie człowieka, np. na procesy inicjacji zapalenia płuc. Wywiera też niekorzystny wpływ na rośliny, w tym pyłek roślin. Oba te związki mogą też wchodzić we wzajemne interakcje, co wpływa na wzmożoną syntezę alergenów i białek stresu roślin. Np. badania proteomu ziaren pyłku ambrozji, ekspozycyjni na nadmierne stężenia NO₂, wskazały na nitrozylację białek, będącą wynikiem wielu potranslacyjnych modyfikacji, co może powodować powstawanie nowych izoform alergenów. Zaobserwowano też zwiększenie syntezy izoform alergenów ambrozji Amb a 1, a także obecność nowych alergenów, w tym białka o swoistości enolazy, wykazującego silną homologię z alergenem lateksu Hev b 9 [22,23].

Z drugiej strony zanieczyszczenia, np. ozon, powodują wzrost wrażliwości na alergenów wziewne. Np. na modelach zwierzęcych wykazano, że do wywołania reakcji nadwrażliwości wystarcza ekspozycja na zanieczyszczenia i zmniejszone dawki alergenów. Synergistyczne działania alergenów i zanieczyszczeń zwiększa też częstość reakcji anafilaktycznych [24].

Niedawne badania Obersteiner i wsp. [25], zwracają uwagę, na fakt, że podwyższonym wskaźnikom urbanizacji (w tym wyższym stężeniom NO₂ i O₃) na obszarach miejskich, o dużym natężeniu ruchu komunikacyjnego, towarzyszą także zmiany w składzie szczepów bakteryjnych zasiedlających rośliny, które zdaniem badaczy, mogą wywierać istotny wpływ immunomodulacyjny. Np. stwierdzono, że większa różnorodność patogennych bakterii na ziarnach pyłku brzozy środowiska miejskiego, miała działanie stresogenne dla roślin, co wiązało się z wyższymi stężeniami alergenów Bet v 1.

W badaniach *in vitro* wykryto, że ekspresja genów kodujących izoformy Bet v 1 jest indukowana także w obecności mikroorganizmów patogennych. Co ciekawe, stwierdzono, że rośliny stale monitorują obecność drobnoustrojów poprzez receptory rozpoznające wzorce, w sposób analogiczny do komórek odpornościowych u człowieka i zwierząt. Roślinne cząsteczki PAMP są zdolne rozpoznawać zarówno składniki bakteryjne, w tym lipopolisacharydy, peptydoglikany, flagelinę, jak i chityny czy beta-glukany pochodzące z grzybów. Sprzyja to indukowaniu swoistych mechanizmów obronnych poprzez np. syntezę białek stresu, które są alergogenne.

Pyłek roślin a wrodzona i adaptacyjna odpowiedź odpornościowa

Białka pyłku to główne źródło alergenów wziewnych u osób predestynowanych do rozwoju alergii, gdyż mogą indukować syntezę swoistych przeciwciał IgE, zgodnie z klasycznym mechanizmem nadwrażliwości typu I wg Gella i Coombsa, a tym samym mogą odgrywać istotną rolę w patogenezie alergicznego nieżytu nosa, astmy oskrzelowej i atopowego zapalenia skóry [26].

Pyłek roślin a odporność wrodzona. Pyłek roślin zawiera liczne składniki, które stymulują wrodzoną odpowiedź immunologiczną, niezależnie od odporności adaptacyjnej. Liczne enzymy proteolityczne, obecne w ziarnach pyłku, mogą uszkadzać barierowość nabłonka układu oddechowego, zwiększać prezentację alergenów i działać immunizująco. Stwierdzono też, że ziarna pyłku emitują oksydazy NADPH i reaktywne formy tlenu (których poziom wzrasta po ekspozycji na zanieczyszczenia). U zdrowych osób zazwyczaj nie wywołuje to dolegliwości, natomiast przy dysfunkcjach mitochondriów (co, zdaniem badaczy, często ma miejsce u chorych na astmę), wolne rodniki pyłku nie są blokowane. Może to promować rozwój alergicznego zapalenia dróg oddechowych i wzmacniać nadreaktywność oskrzeli. Według Hosoki i wsp. [27] reaktywne formy tlenu, emitowane z pyłku, stanowią pierwszy sygnał rozwoju reakcji alergicznej. Sygnał drugi, czyli klasyczna prezentacja antygeny pyłku w kontekście cząsteczek MHC klasy II, jest konieczna do wywołania pełnoobjawowej reakcji alergicznej o charakterze IgE zależnym. Obserwacje te potwierdzają tezę, że mitochondria związane są z patogenezą alergii i astmy atopowej.

Pyłek zawiera też szeroką gamę węglowodanów i lipidów, które ułatwiają procesy kiełkowania i penetracji łagiewki pyłkowej. Niedawne badania pozwoliły zidentyfikować w pyłku ponad sto różnorodnych lipidów, kwasów tłuszczowych i steroli, które wywierają działania immunomodulujące i adiuwantowe. Istnieją sugestie, że efekty uczulające białek pyłku mogą zależeć od obecności lipidów, gdyż mogą one chronić białka pyłku przed proteolizą i zwiększyć ich wchłanianie przez komórki nabłonka. Ponadto mogą działać poprzez interakcje z elementami wrodzonego układu odpornościowego, łącząc się z cząsteczkami CD1d i/lub z receptorami TLR4 i TLR2. Frakcje lipidów mogą być też rozpoznawane bezpośrednio przez limfocyty T, co stymuluje odpowiedź odpornościową zależną od dominacji linii komórek Th2. Pod wpływem alergenów pyłku zaobserwowano też aktywację i chemotaksję wielu różnych typów komórek, co sprzyja procesom zapalenia alergicznego. Tego typu alternatywne drogi indukcji limfocytów linii Th2, poprzez związki niebiałkowe, wymagają dalszych badań [28].

Białkowe, czyli klasyczne alergeny pyłku roślin. Ziarna pyłku roślin syntetyzują bardzo szeroki wachlarz białek, które mogą aktywować odporność o charakterze adaptacyjnym.

Badania molekularne genomu modelowej, ruderalnej rośliny: rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*) wskazały na obecność około 27.000 genów, które umożliwiają roślinie syntezę około 35.000 białek. Liczba genów ulegających ekspresji w ziarnach pyłku jest o 30 do 60% niższa niż w tkankach roślinnych, a wartości te mogą się zmieniać pod wpływem różnych czynników środowiskowych [29,30]. Dowiedziano, że żadne inne znane komórki roślinne nie wykazują tak wysokiego stopnia specyficzności transkryptów jak ziarna pyłku, co ciekawe większość transkryptomów tworzą geny biorące udział w naprawie DNA, a także aktywacji cyklin i ubikwityn, co zabezpiecza rośliny przed powstaniem mutacji i innych patologii [31], natomiast synteza białek zachodzi na podstawie tylko około 50 tysięcy genów, które potencjalnie mogą być alergenami [32,33].

Dlaczego białka pyłku są alergenami?

Na to pytanie nie ma krótkiej i prostej odpowiedzi, gdyż średnio około 30% osób ma objawy alergii, a 70% nie wykazuje cech atopii, pomimo identycznej ekspozycji na alergeny. Jak już wspomniano wyżej, alergeny pyłku, tylko u osób z atopią, wywołują niepożądaną kaskadę zdarzeń, w tym stres oksydacyjny komórek dendrytycznych, aktywację czynników jądrowych np. NF KB, promujących syntezę cytokin chemotaktycznych i prozapalnych (np. IL-8, TNF- α , IL-6). W związku z tym, kaskadowo następują też procesy chemotaksji eozynofilów, neutrofilów, uwalniania elastaz, alfa-defensyn, TGF- β 1 i innych czynników, a także przełączania klas syntetyzowanych przeciwciał do sIgE i rozwoju kluczowych reakcji związanych z alergią, tzn. degranulacji komórek tucznych, wydzielania histaminy i innych mediatorów, które w skrajnych przypadkach mogą prowadzić do anafilaksji, a nawet śmierci.

Niedawno naukowcy z Londyńskiej *School of Hygiene & Tropical Medicine*, pracujący pod kierunkiem N. Furnhama, zebrali dostępne informacje na temat alergenów i ich specyfiki. Następnie określili sekwencje DNA, które kodują epitopy wiążące przeciwciała IgE, łącznie z ich strukturami przestrzennymi [34]. W wyniku tej pracy znaleziono unikatowe epitopy białek pyłku i pasożytów, które były na tyle podobne, że wiązały krzyżowo te same przeciwciała sIgE. Przykładem tego typu homologii były między innymi alergeny stresu roślin Bet v 1 i białka pasożytów *Schistosoma mansoni*. Reaktywność krzyżową potwierdzono *in vitro* w badaniach hodowli komórkowych, a także w badaniach wiązania obu komponentów przez IgE surowic osób ze schistosomatozą. Inne stwierdzone przykłady homologii, to podobieństwa między profiliną pyłku brzozy i białkiem *Ascaris lumbricoides*, oraz alergenem pyłku tymotki Phl p 1 i białkiem świerzbowca Pso o 2 (*Psoroptes ovis*). Badania te potwierdziły hipotezę badawczą, że reakcje alergiczne to błędne odpowiedzi odpornościowe generalnie ukierunkowane wobec pasożytów, a przy ich braku, realizowane wobec podobnych strukturalnie alergenów środowiskowych (ryc. 1). Odkrycia te zrodziły nowe fale pytań. Np. dlaczego układ odpornościowy większości osób bez alergii potrafi rozróżnić niewielkie różnice w budowie epitopów alergenów pyłku i białek pasożytów i nie dopuszcza do rozwoju alergii, podczas gdy u osób atopowych, układ HLA wydaje się być nadmiernie elastyczny i błędnie klasyfikuje niektóre białka pyłku, zaliczając je do grona niebezpiecznych białek pasożytniczych, a niekiedy podejmując z nimi walkę, która może okazać się walką samobójczą, bo zagrażającą zdrowiu i życiu.

Podstawowe rodzaje klasyfikacji alergenów

Międzynarodowy Subkomitet do Spraw Nomenklatury Alergenów WHO/IUIS prezentuje stale aktualizowaną listę alergenów. Obecnie zawiera ona 309 alergenów roślinnych (dane z dnia: 2016-03-05), w tym 109 alergenów pyłku z 39 gatunków roślin oraz 200 alergenów pokarmowych, które w dużej mierze reagują krzyżowo [35].

1. Podstawowy i najczęściej stosowany rodzaj klasyfikacji grup alergenów opiera się na przynależności taksonomicznej uczulających taksonów, z podziałem na pyłek drzew, traw i chwastów. Dokładna liczba gatunków roślin na ziemi jest trudna do oszacowania, a próby inwentaryzacji z 2010 roku wskazują na liczbę 300-315 tysięcy gatunków, przy czym zdecydowana większość opisanych, bo około 300 tysięcy, to rośliny nasienne, u których rozmnażanie odbywa się za pośrednictwem ziaren pyłku. Alergia jest związana prawie wyłącznie z ekspozycją na składniki pyłku roślin anemogamicznych, u których pyłek transportowany jest przez wiatr i ruchy konwekcyjne powietrza.
2. Drugi rodzaj klasyfikacji zajmuje się grupowaniem homologicznych grup alergenów. Klasyfikacja alergenów białkowych do rodzin i nadrodzin opiera się na określonych funkcjach białek, następnie na szczegółach ich struktur molekularnych i trójwymiarowych, a także na cechach chemicznych i fizycznych, np. sekwencjach aminokwasowych, ciężarach cząsteczkowych, współczynnikach sedymentacji, rozpuszczalności, itd. Wadą tego typu podziału może być fakt, że poszczególne białka często wymykają się zasadom naszych klasyfikacji, gdyż mogą działać na zasadzie „szczyryka szwajcarskiego” i pełnić wielowymiarowe funkcje fizjologiczne.

Alergogenne taksony pyłku roślin w Polsce

Stacje monitorujące stężenia pyłku roślin w Polsce koncentrują swoje badania na dwudziestu taksonach roślin. W tym dziewięciu taksonach drzew - leszczyna (*Corylus*), olsza (*Alnus*), grab (*Carpinus*), brzoza (*Betula*), topola (*Populus*), buk (*Fagus*), jesion (*Fraxinus*), dąb (*Quercus*), wierzba (*Salix*), klon (*Acer*), sosnowate (*Pinaceae*), cis/jałowiec (*Juniperus/Taxus*); siedmiu taksonach roślin zielnych, w tym: trawy/zboża (*Poaceae*) babka (*Plantago*), szczaw (*Rumex*), pokrzywa (*Urtica*), bylica (*Artemisia*), ambrozja (*Ambrosia*), komosowate (*Chenopodiaceae*). Dodatkowo oceniane są stężenia dwóch taksonów grzybów mikroskopowych: *Alternaria* i *Cladosporium*. Do najbardziej alergogennych, z powyższej grupy, zaliczamy sześć: pyłek brzozy, leszczyny, olszy, traw/zbóż, babki, bylicy i ambrozji, której pyłek najczęściej pochodzi z tzw. dalekiego transportu.

Aby stwierdzić, jaki jest stopień ekspozycji, oszacowano średnie roczne sumy pyłku, a także wartości liczby dni, w których pyłek był obecny w powietrzu w siedmiu miastach Polski: w Szczecinie, Łodzi, Wrocławiu, Krakowie, Sosnowcu, Lublinie i Rzeszowie [36-42]. O wyborze miast zdecydował fakt, że dane zostały opracowane i przedstawione zgodnie z jednorodnie przyjętą metodologią z lat 2001-2003 do 2013. Wyniki tych porównań przedstawiono na rycinie 2. Z danych tych wynika, że najwyższa ekspozycja była związana z pyłkiem brzozy. Średnie roczne sumy stężeń pyłku dla wszystkich siedmiu badanych ośrodków wyniosły: 8.250 ziaren pyłku brzozy (przy czym największe średnie stężenia zaobserwowano w Łodzi), następnego pyłku traw 3.560 (najwięcej odnotowano w Rzeszowie), olszy 2.760 i bylicy 820 (najwięcej stwierdzono we Wrocławiu), leszczyny 490 (naj-

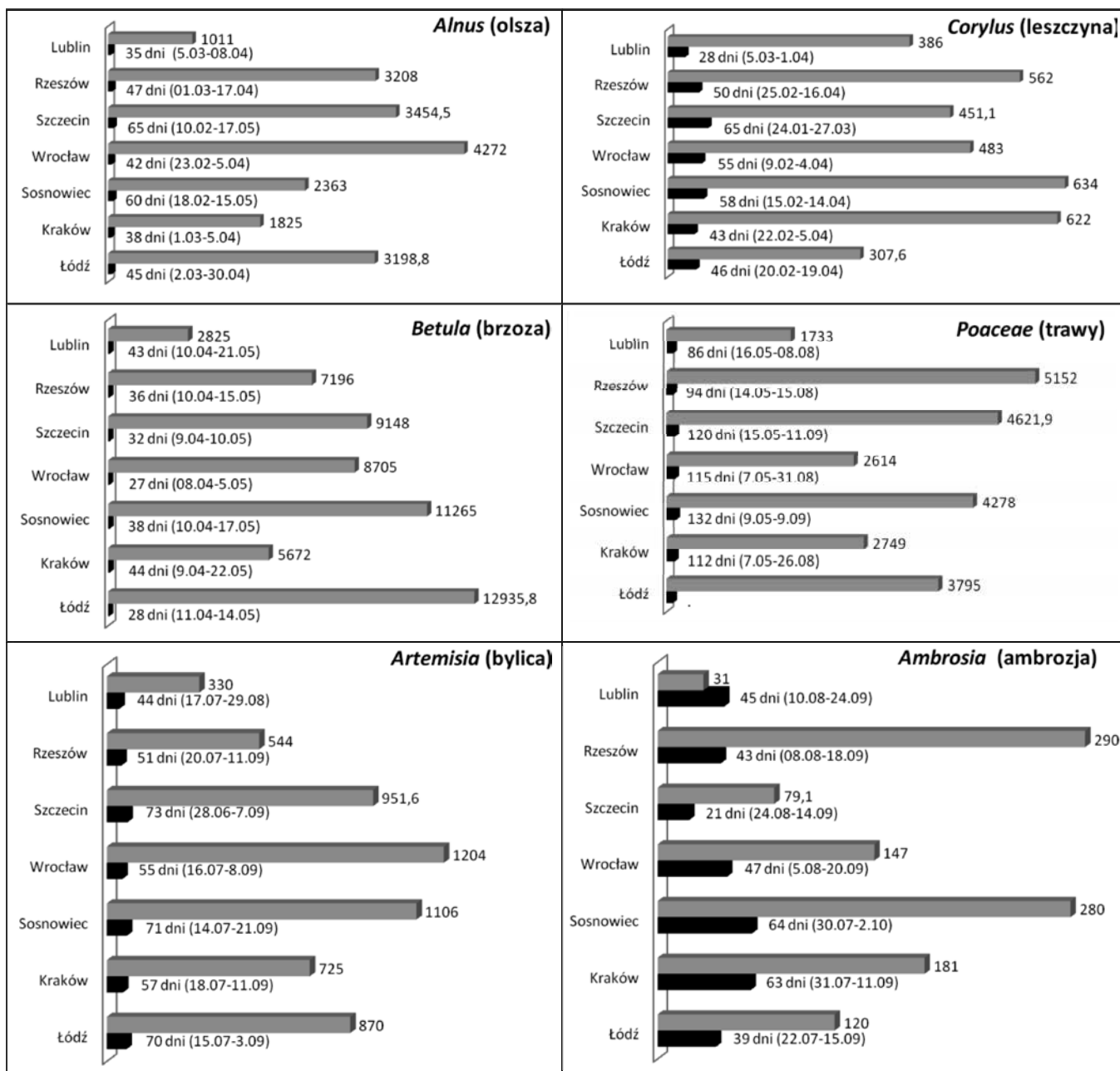
więcej było w Sosnowcu) i ambrozji 60 (najwięcej uzyskano w Rzeszowie). Na rycinie 3 podano też uśrednione liczby dni (wyliczane metodą 98%), w których pyłek utrzymywał się w powietrzu oraz średnie zakresy dat pylenia dla poszczególnych ośrodków. W Polsce najdłużej utrzymuje się w powietrzu pyłek traw, bo średnio 107 dni. Następnie pyłek bylicy (60 dni), leszczyny (49), olszy (47), ambrozji (46). Pyłek brzozy, pomimo osiągnięcia najwyższych stężeń, utrzymuje się krótko w powietrzu miast Polski średnio 35 dni (od 27 we Wrocławiu - do 44 w Krakowie). Stosunkowo duże zróżnicowanie przedstawionych wartości, nawet w odniesieniu do stosunkowo blisko położonych miast wskazuje, że korzystanie z wieloletnich kalendarzy pylenia np. podczas kwalifikacji do immunoterapii czy monitorowania leczenia wydaje się nieuzasadnione, tym bardziej, że coraz częściej obserwowane są anomalie pogodowe, co przekłada się na obecność pyłku w terminach innych, niż można się tego spodziewać. Np. w pracy Rapiętko i wsp. podano, że we wrześniu 2011 roku, w części punktów pomiarowych w Polsce odnotowano dodatkowy pik pylenia traw [43].

Homologiczne grupy alergenów, taksonów roślin dominujących w Polsce

Poszczególne grupy alergenów homologicznych, istotnych klinicznie w naszym kraju zestawiono w tabeli I i na rycinie 3. Można tu wyróżnić grupę białek strukturalnych oraz białek i enzymów mających udział w metabolizmie. Należą tu między innymi: profiliny, ekspansyny, polkalcyny. Druga grupa to białka zapasowe, w tym nadrodzina kupin i prolamin. Trzecia grupa obejmuje między innymi siedemnaście rodzin białek stresu roślin.

Białka strukturalne i metaboliczne obejmują szeroki wachlarz białek, które przyczyniają się do odpowiedniej struktury i funkcjonowania komórek. Należą tu strukturalne składniki ścian, błon, organelli komórkowych, enzymów i białek zaangażowanych w wytwarzanie i transport energii, umożliwiając wszystkie poznane procesy komórkowe, od transdukcji sygnałów i transkrypcji genów do syntezy białek, wzrostu łagiewki pyłkowej itd. Większość tych białek jest obecna także we wszystkich innych komórkach roślin, na stałe lub przejściowo. Należy tu też wspomnieć o grupie alergenów o akronimie RuBisCo, które obejmują enzymy i białka wykorzystywane w cyklu Calvina (czyli w niezależnym od światła etapie fotosyntezy). Alergogenność RuBisCo odkryto w odniesieniu do marihuany, następnie u innych roślin [44]. Istnieją dowody, że białka RuBisCo (strukturalne i metaboliczne), są odpowiedzialne za powszechne reakcje alergiczne [45]. Wysokie stężenie RuBisCo wskazuje na ważną rolę w metabolizmie roślin. Szacuje się, że w komórkach roślinnych, aż 4x10¹³g enzymów tej grupy jest syntetyzowane co sekundę [46].

Nadrodzina kupin i prolamin to najbardziej funkcjonalnie zróżnicowane grupy białek, występujących we wszystkich roślinach nasiennych. Do nadrodziny kupin należą białka zapasowe obecne w pyłku i nasionach, a także szeroka gama enzymów np. enzymy generujące nadtlenek wodoru, oksydazy, dysmutazy ponadtlenkowe. Łacińskie słowo „cupa” oznacza beczułkę, co jest kojarzone z zapasowym charakterem tych białek i ich strukturą 3D. Do grupy kupin dotąd zaklasyfikowano 57 białek istotnych w alergologii, szczególnie dotyczy to legumin i vicilin, czyli białek o współczynnikach sedymentacji odpowiednio 11S i 7S. Co ciekawe, gluten składa się z mieszanin prolamin: glutenin i gliadyn. Należą tu także



Ryc. 2. Średnie wartości sum rocznych pyłku o najwyższym potencjale alergogennym z siedmiu miast w Polsce. Wykorzystano dane z lat 2001/03-13





Średnie liczby dni pylenia i średnie zakresy dat obecności pyłku w powietrzu atmosferycznym obliczane według podobnej metodologii, w siedmiu miastach Polski





białka zwane germinami. Są to wszechobecne białka roślinne, aktywowane podczas kiełkowania łagiewki i nasion zbóż. Są one syntetyzowane także podczas reakcji roślin na stres biotyczny i abiotyczny [47]. Te struktury, złożone są z dwóch do pięciu podjednostek, co wpływa na ich nadzwyczajną odporność wobec temperatury, szerokiej gamy enzymów trawiennych, detergentów i ekstremalnych zakresów pH. Należy pamiętać, że preferowane w uprawie taksony zbóż są poliploidami, tetraploidami, heksaploidami, itd. Dzieje się tak z uwagi na ich wartości użytkowe i wzrost plonów z ha, a także z uwagi na podwyższoną odporność tych poliploidów na patogeny, szczególnie grzybowe. Sztuczna selekcja i tworzenie poliploidów (np. poprzez chemiczne blokowanie wrzecion podziałowych w komórkach), może istotnie wzma-

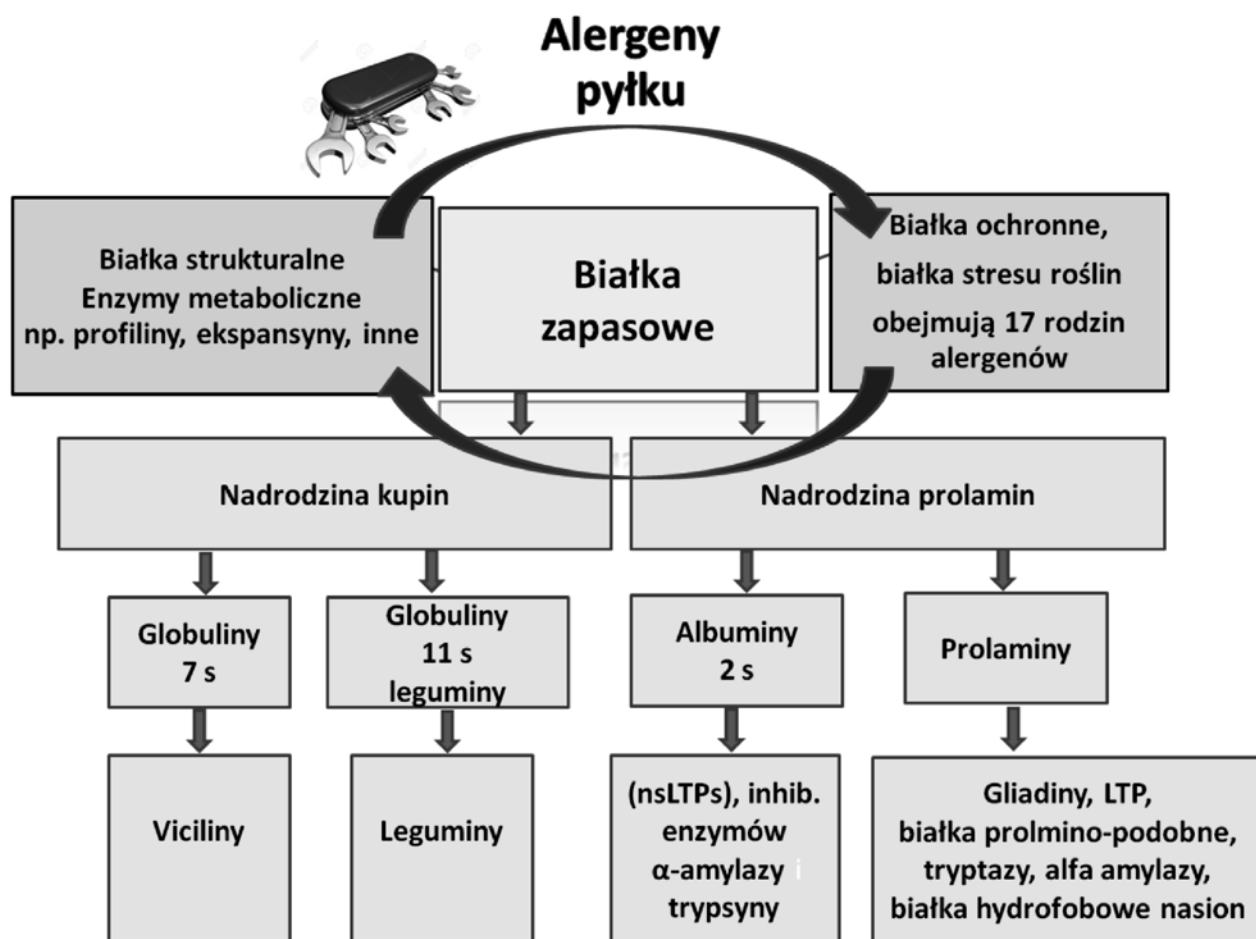
gać zawartość alergenów. Prolaminy tworzą najbardziej jasno zdefiniowaną grupę białek o charakterze zapasowym. Ich cechą charakterystyczną jest budowa o charakterze polimerów z dużą zawartością proliny i glutaminy (stąd nazwa prolamina), a także rozpuszczalność w alkoholach.

Białka stresu roślin PR (Pathogen Proteins). Białka stresu roślin odgrywają istotną rolę w odpowiedzi na stres biotyczny i abiotyczny, w tym zanieczyszczenia powietrza. Zawartość tych białek waha się w zależności od ekspozycji roślin na stres środowiskowy. Ich zawartość ocenia się na około 14% wszystkich białek, obecnych podczas kiełkowania ziaren pyłku. Mogą one aktywować komórki poprzez receptory PAMP. Ponadto, okazało się, że biorą też udział w procesach metabolicznych, w budowie cytoszkieletu i w transporcie energii.

Tabela 1. Zestawienie grup alergenów istotnych na terenie Polski

Nazwa rodziny	Przykładowe struktury alergenów	Cechy	Alergogenność	Reaktywność krzyżowa	Przykłady alergenów
Rodzina białek Bet v 1 białka stresu roślin PR-10	Bet v 1 www.ebi.ac.uk/  L	Aktywność RNAazy. Obecne w pyłku, w nasionach i owocach, ich stężenia rosną po ekspozycji na patogeny i środki chemiczne. Wiązanie wielu struktur w kieszonce molekularnej (bioflawonów, jonów metali) umożliwia obniżenie alergogenności.	Wysoka alergogenność białek. Są głównymi sprawcami uczuleń wobec alergenów pyłku drzew w Polsce, w Europie Półn. i Środkowej. Wywołują zespół alergii jamy ustnej. Wykazują reakcje krzyżowe np. z białkami z grupy Kupin. Objawy: ANNIS, astmy atopowej, zespołu alergii jamy ustnej.	Nietrawne i wrażliwe na trawienie w przewodzie pokarmowym.	Bet v 1 (brzoza) Cor a 1 (leszczyna) Aln g 1 (oliszy) Car b 1 (grab) Que a 1 (dąb)
Profiliny	Bet v 2 www.ebi.ac.uk  L	Białka cytoplazmatyczne, 12-15 kDa, biorą udział w modyfikacji włókien aktynowych, stanowią ochronę przed patogenami roślin.	Pan-alergeny, wywołują uczulenia zarówno drogą inhalacyjną jak i pokarmową.	+++ 75% podobieństwa strukturalne pomiędzy białkami tej grupy.	Bet v 2 (brzoza) Art v 4 (bylica) Fra e 2 (jesion) Cor a 2 (leszczyna) Amb a 8 (ambrozja) Phi p 12 (trawy) Ole e 2 (drzewo oliwne)
Ekspansyny	Phi p 1 www.ebi.ac.uk  L	Glikoproteiny ścian komórkowych mają wpływ na modyfikacje struktury ścian komórkowych. β-ekspansyny pyłku, umożliwiają wzrost łagiewki pyłkowej.	Opisano 22 alergeny pyłku o strukturze ekspansyn (www.meduniwien.ac.at/). Są uważane za alergeny główne, sIgE wiąże >90% surowic osób z alergią na pyłek traw.	+++ 60-70% podobieństwo sekwencji strukturalnej.	Phi p 1 (tymotka) Poa p 1 (wiechlina łąkowej) Tri a 1 (pszenica zwyczajna) Zea m 1 (kukurydza)
Prolaminy	Tri a gliadin fermi.utmb.edu 	Pełnią funkcje zapasowe pyłku i nasion. Uczestniczą w obronie przed patogenami. Zawierającą liczne cząsteczki proliny i glutaminy, stąd nazwa – prolamin. Gluten składa się z mieszanin prolamin. Nieswoiste białka LTP należą do prolamin.	Mogą być powodem istotnych reakcji alergicznych, ponadto gliadyny są niebezpieczne dla osób z celiakią.	+++ Duża reaktywność krzyżowa Niezwykle stabilne wobec temperatury, pH, enzymów proteolitycznych.	Cor a 8 i Cor a 14 (leszczyna) Tri a 14, (pszenica zwyczajna) Tri a 15 Tri a 21 Tri a 28 Tri a 29 Tri a 30

<p>Białka LTP Białka stresu PR-14</p>	<p>Amb a 6 fermi.utmb.edu/ </p>	<p>LTP – białka przenoszące lipidy przez błony komórkowe. Występują w pyłku, w tkankach i skórce owoców, pełnią funkcje ochronne wobec patogenów, czynników stresu. Zaliczane są do białek stresu roślin.</p>	<p>Obecne w pyłku, owocach, orzechach, algach. Pan-alergeny, istotne w rejonie Pd Europy. W Polsce mniejsze znaczenie kliniczne. Uczulenia manifestują się wstępnie alergią inhalacyjną na pyłek, nast. pokarmową (czasem odwrotnie). Wywołują zespół alergii jamy ustnej.</p>	<p>+++ Duża reaktywność krzyżowa.</p>	<p>Amb a 6 (ambrozja) Art v 3 (bylica) Pla a 3 (platan) Par j 1 (parietaria)</p>
<p>Kupiny Białka zapasowe Białka stresu PR</p>	<p>Cupina 5 pfam.xfam.org/family/PF06172 </p>	<p>Grupa białek zapasowych. Należą tu enzymy cyklu Krebsa i metabolizmu. Aktywne w procesach wzrostu flagiewki pyłkowej, w biosyntezie antybiotyków roślinnych.</p>	<p>Silne reakcje alergiczne, zarówno o charakterze pokarmowym jak i wziewnym. Wysoka stabilność termiczna i odporność na enzymy trawienne.</p>	<p>+++ Duża reaktywność krzyżowa.</p>	<p>leguminy Cor a 9 (leszczyna) Ara h 3 (orzechy ziemne) Ber e 2 (orzechy brazylijskie) wiciliny Ara h 1 (orzechy ziemne)</p>
<p>Polcalciny Białka wiążące Ca²⁺</p>	<p>Cor a 9 fermi.utmb </p>	<p>Umożliwiają przekazywanie informacji między komórkami roślin, uczestniczą w metabolizmie, recyklingu białek, ich aktywność zmienia się pod wpływem stresu; Zmiany konformacyjne po związaniu Ca²⁺, umożliwiają połączenia z innymi białkami.</p>	<p>Panalergeny - niezwykle stabilność termiczna właściwość, ta maleje po wyczerpaniu się jonów wapnia.</p>	<p>+++ Od łagodnych objawów alergii jamy ustnej do potencjalnie zagrażającej życiu anafilaksji.</p>	<p>Aln g 4 (olsza) Amb a 9 i Amb a 10 (ambrozja) Art v 5 (bylica) Bet v 3 i Bet v 4 (brzoza) Cup a 4 (cyprys) Phl p 7 (tymotka)</p>
<p>RuBisCO</p>	<p>chemwiki.ucdavis.edu/ </p>	<p>Jest najliczniej reprezentowanym enzymatycznym białkiem roślinnym, umożliwia asymilację CO₂ podczas fotosyntezy.</p>	<p>Enzymy podatne na szybką denaturację pod wpływem kwasów żołądkowych.</p>	<p>+++ Pokrzywka, obrzęk naczyń i naczyń ruchomych.</p>	



Ryc. 3. Ogólny podział alergogennych białek pyłku. Klasyfikacja oparta jest na funkcjonalnych i homologicznych cechach alergenów. Poszczególne białka mogą działać na zasadzie „szczyrzyka szwajcarskiego” i pełnić wielowymiarowe funkcje w ziarnach pyłku

Warto podkreślić, że około 25% silnych alergenów roślinnych to białka stresu roślin. Jednym z przykładów jest Bet v 1, główny alergen brzozy, który jest białkiem z grupy PR-10. Beck i wsp. [48] wykazali, że zawartość alergenu Bet v 1 jest pozytywnie skorelowana ze wzrostem stężenia ozonu. Badania prowadzone *in vivo* wskazują również na znacznie większą średnicę bąbla w testach skórnych, w przypadku korzystania z ekstraktów pyłku pozyskiwanych z drzew ekspozowanych na podwyższone stężenia ozonu. Innym przykładem białka stresu jest alergen z grupy taumatyn, który ma słodki smak, a jednocześnie poprawia wegetację roślin ekspozowanych na zanieczyszczenia i patogeny [49]. W związku z tym geny dla tego typu białek są chętnie introdukowane do genomu roślin użytkowych, co podwyższa ich potencjał alergogenny. Jak podano wyżej, ekspozycja na pyłek brzozy jest w Polsce wysoka.

Podsumowanie

W podsumowaniu należy stwierdzić, że alergia pyłkowa stanowi poważny problem kliniczny w Polsce i na świecie. Badania prowadzone na przestrzeni kilkunastu lat w siedmiu

miastach Polski wskazują, że najwyższa ekspozycja dotyczy pyłku brzozy, przy czym, spośród miast objętych analizą, największe średnie sumy roczne stwierdzono w Łodzi, chociaż pyłek brzozy – jest obecny w powietrzu stosunkowo krótko, średnio około jednego miesiąca. Ekspozycja na pyłek traw/zbóż (oceniata na podstawie średnich sum rocznych), ustępuje tylko brzozie, przy czym najwyższe stężenia odnotowano w Rzeszowie. Pyłek traw w naszym kraju utrzymuje się najdłużej, bo średnio około 3,5 miesiąca. Pyłek olszy i bylicy osiągał najwyższe wartości we Wrocławiu. Z kolei pylenie leszczyny było stosunkowo niskie, najwyższe stężenia stwierdzono w Sosnowcu. Ekspozycja na pyłek ambrozji nie osiąga wysokich poziomów. Z przedstawionego zestawienia wynika, że najwięcej ziaren pyłku tego taksonu stwierdzono w Rzeszowie. Ekspozycja wobec alergenów ambrozji wydaje się narastającym problemem w Polsce południowej.

Pomimo rosnącej liczby badań, które w znacznym stopniu poszerzyły naszą wiedzę na temat ekspozycji na pyłek roślin i ich alergeny, kluczowe pytania, o przyczyny alergenności niektórych białek pyłku, wymagają dalszych analiz.

Piśmiennictwo

1. Shi HB, Kong M, Chen G i wsp. Compound Pollen Protein Nutrient Increases Serum Albumin in Cirrhotic Rats. *Gastroenterol Res* 2010; 3: 253-61.
2. Yoshida K, Adachi Y, Akashi M i wsp. Cedar and cypress pollen counts are associated with the prevalence of allergic diseases in Japanese schoolchildren. *Allergy* 2013; 68: 757-63.
3. Charpin D, Hughes B, Mallea M i wsp. Seasonal allergic symptoms and their relation to pollen exposure in south-east France. *Clin Exp Allergy* 1993; 23: 435-9.
4. Ito K, Weinberger KR, Robinson GS i wsp. The associations between daily spring pollen counts, over-the-counter allergy medication sales, and asthma syndrome emergency department visits in New York City, 2002-2012. *Environ Health* 2015; 14: 71.
5. Florack J, Brighetti MA, Perna S i wsp. Comparison of six disease severity scores for allergic rhinitis against pollen counts a prospective analysis at population and individual level. *Pediatr Allergy Immunol* 2016; doi: 10.1111/pai.12562.
6. Horak F, Jager S. Die Wiener Provokations-Kammer (Vienna Challenge Chamber). Eine neue Methode des Allergenexpositionstests. *Wien Klin Wochenschr* 1987; 99: 509-10.
7. Rösner-Friese K, Kaul S, Vieths S i wsp. Environmental exposure chambers in allergen immunotherapy trials: Current status and clinical validation needs. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135: 636-43.
8. Badorrek P, Dick M, Hecker H i wsp. Anti-allergic drug testing in an environmental challenge chamber is suitable both in and out of the relevant pollen season. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2011; 106: 336-41.
9. ECAP Epidemiologia Chorób Alergicznych w Polsce. Raport z badań przeprowadzonych w latach 2006-2008 w oparciu o metodologię ECRHS II i ISAAC. Red. Bogdan Samoliński. Wydawnictwo Zakładu Profilaktyki Zagrożeń Środowiskowych i Alergologii WUM.
10. Rutkowski R, Koszytła-Hojna B, Rutkowska J. Alergiczny nieżyt nosa – problem epidemiologiczny, ekonomiczny i społeczny XXI wieku. *Pneumonol Alergol Pol* 2008; 76: 348-35.
11. Majkowska-Wojciechowska B, Pełka J i wsp. Prevalence of allergy, patterns of allergic sensitization and allergy risk factors in rural and urban children. *Allergy* 2007; 62: 1044-50.
12. Majkowska-Wojciechowska B, Laskowska B, Wojciechowski Z i wsp. Występowanie alergii wśród dzieci łódzkich szkół podstawowych: związek z warunkami środowiska domowego i szkolnego. *Alergia Astma Immunologia* 2000; 5: 115-22.
13. Kozłowska A, Majkowska-Wojciechowska B, Kowalski ML. Uczulenia poliwalentne i monowalentne na alergeny pyłku roślin u chorych z alergią. *Alergia Astma Immunologia* 2007; 12: 81-6.
14. Womiloju TO, Miller JD, Mayer PM i wsp. Methods to determine the biological composition of particulate matter collected from outdoor air. *Atmospheric Environment* 2003; 37: 4335-44.
15. Malayeri BE, Noori M, Jafari M. Using the pollen viability and morphology for fluoride pollution biomonitoring. *Biol Trace Elem Res* 2012; 147: 315-9.
16. Majkowska-Wojciechowska B, Kowalski ML. Allergens, Air Pollutants and Immune System Function in the Era of Global Warming. (w) *Air Pollution - Monitoring, Modelling, Health and Control*, 2012. Khare M (red.). InTech 2012, ISBN: 978-953-51-0381-3.
17. Sénéchal H, Visez N, Charpin D i wsp. A Review of the Effects of Major Atmospheric Pollutants on Pollen Grains, Pollen Content, and Allergenicity. *Scientific World Journal* 2015; 2015: 940243.
18. Woodfolk JA, Commins SP, Schuyler AJ i wsp. Allergens, sources, particles, and molecules: Why do we make IgE responses? *Allergol Int* 2015; 64: 295-303.
19. Stelmach I, Smejda K, Kaczmarek J. Prevalence of atopy and atopic diseases in children living in an orphanage in Lodz area - pilot study. *Pol Merk Lek* 2006; 20: 531-4.
20. Majkowska-Wojciechowska B, Zofia Balwier Z, Jolanta Pełka J i wsp. Porównanie dynamiki opadu pyłkowego w środowisku miejskim i wiejskim centralnej Polski. *Alergia Astma Immunologia* 2005; 10: 139-47.
21. Hua X, Goedert JJ, Pu A i wsp. Allergy associations with the adult fecal microbiota: Analysis of the American Gut Project. *EBioMedicine* 2016; 3: 172-9.
22. Zhao F, Elkesh A, Durner J i wsp. Common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.): allergenicity and molecular characterization of pollen after plant exposure to elevated NO₂. *Plant Cell Environ* 2016; 39: 147-64.
23. Ulrike Frank U, Ernst D. Effects of NO₂ and Ozone on Pollen Allergenicity. *Front Plant Sci* 2016; 7: 91.
24. Szaflik J. Ozon - wróg czy przyjaciel? <http://idn.org.pl/psrp/ozon.html>
25. Obersteiner A, Gilles S, Frank U i wsp. Pollen-Associated Microbiome Correlates with Pollution Parameters and the Allergenicity of Pollen. *PLoS One* 2016; 11: e0149545.
26. Asher MI, Stewart AW, Mallol J i wsp. Which population level environmental factors are associated with asthma, rhinoconjunctivitis and eczema? Review of the ecological analyses of ISAAC Phase One. *Respir Res* 2010; 11: 8.
27. Hosoki K, Boldogh I, Sur S. Innate responses to pollen allergens. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2015; 15: 79-88.
28. Bublin M, Eiwegger T, Breiteneder H i wsp. Do lipids influence the allergic sensitization process? *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134: 521-9.
29. Twell D, Oh SA, Honys D. Pollen development, a genetic and transcriptomic review. (w) Malhó R (red.). *The pollen tube. A cellular and molecular perspective*. Berlin, Springer-Verlag, Plant Cell Monographs 2006; 15-45.
30. Rutley N, Twell D. A decade of pollen transcriptomics. *Plant Reprod* 2015; 28: 73-89.
31. Okada T, Singh MB, Bhalla PL. Transcriptome profiling of *Lilium longiflorum* generative cells by cDNA microarray. *Plant Cell Rep* 2007; 26: 1045-52.
32. Rafińska K, Zienkiewicz K, Bednarska E. Pollen transcriptome and proteome: molecular and functional analysis. *Adv Cell Biol* 2010; 2: 29-58.
33. Arabidopsis Genome Initiative. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 2000; 408: 796-815.
34. Tyagi N, Farnell EJ, Fitzsimmons CM i wsp. Comparisons of Allergenic and Metazoan Parasite Proteins: Allergy the Price of Immunity. *PLoS Comput Biol* 2015; 11: e1004546.
35. <http://www.allergen.org/index.php>
36. Puc M. Pyłek wybranych roślin alergogennych w powietrzu Szczecina. (w) *Ziarna pyłku i zarodniki grzybów w powietrzu różnych regionów Polski*. Weryszko-Chmielewska E (red.). PTB, W-wa 2014; 103-20.
37. Majkowska-Wojciechowska B, Balwier Z, Kowalski M. Sezonowa dynamika stężeń pyłku najczęściej uczulających drzew, traw i chwastów, w latach 2003-2013. (w) *Ziarna pyłku i zarodniki grzybów w powietrzu różnych regionów Polski*. Weryszko-Chmielewska E (red.). PTB, W-wa 2014; 81-102.
38. Malkiewicz M. Dynamika sezonów pyłkowych drzew (*Alnus*, *Corylus*, *Betula*) i roślin zielnych (*Ambrosia*, *Artemisia*, *Poaceae*) w powietrzu Wrocławia w latach 2003-2013. (w) *Ziarna pyłku i zarodniki grzybów w powietrzu różnych regionów Polski*. Weryszko-Chmielewska E (red.). PTB, W-wa 2014; 63-80.

39. Myszkowska D, Ziemianin M, Piotrowicz K, i wsp. Analiza sezonów pyłkowych wybranych taksonów roślin w Krakowie w latach 2001-2013. (w) Ziarna pyłku i zarodniki grzybów w powietrzu różnych regionów Polski. Weryszko-Chmielewska E (red.). PTB, W-wa 2014; 27-46.
40. Dąbrowska-Zapart K, Chłopek K. Dynamika sezonów pyłkowych wybranych taksonów roślin w powietrzu Sosnowca w latach 2001-2013. (w) Ziarna pyłku i zarodniki grzybów w powietrzu różnych regionów Polski. Weryszko-Chmielewska E (red.). PTB, W-wa 2014; 47-62.
41. Weryszko-Chmielewska E, Piotrowska-Weryszko K. Charakterystyka sezonów pyłkowych wybranych taksonów roślin w Lublinie w latach 2001-2013. (w) Ziarna pyłku i zarodniki grzybów w powietrzu różnych regionów Polski. Weryszko-Chmielewska E (red.). PTB, W-wa 2014; 81-102.
42. Kasprzyk I, Borycka K, Dulcka-Jeż A. Dynamika sezonów pyłkowych wybranych taksonów roślin. W: Ziarna pyłku i zarodniki grzybów w powietrzu różnych regionów Polski. Red. Weryszko-Chmielewska E. PTB, W-wa 2014; 81-102.
43. Rapijko P, Lipiec A, Malkiewicz M i wsp. Analiza sezonu pylenia traw w 2011 roku w wybranych miastach Polski. *Allergoprofil* 2011; 7: 11-15.
44. Nayak AP, Green BJ, Sussman G i wsp. Characterization of Cannabis sativa allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2013; 111: 32-7.e4.
45. Foti C, Damiani E, Zamboni CG i wsp. Urticaria and angioedema to rubisco allergen in spinach and tomato. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2012; 108: 60-1.
46. Lundqvist T, Schneider G. Crystal Structure of Activated Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase Complexed with Its Substrate, Ribulose-1,5-Bisphosphate. *J Biol Chem* 1991; 266: 12604-11.
47. Dunwell J, Gibbings, JG; Mahmood T i wsp. Germin and Germin-like Proteins: Evolution, Structure, and Function. *Critical Reviews in Plant Sciences* 2008; 27342-375.
48. Beck I, Jochner S, Gilles S, I wsp. High environmental ozone levels lead to enhanced allergenicity of birch pollen. *PLoS One*. 2013;20(8):e80147.
49. Wojciechowska A. Alergeny, białka stresu roślin – klasyfikacja, charakterystyka, implikacje zdrowotne i środowiskowe. (w) Ziarna pyłku i zarodniki grzybów w powietrzu różnych regionów Polski. Weryszko-Chmielewska E (red.). PTB, W-wa 2014; 219-250.