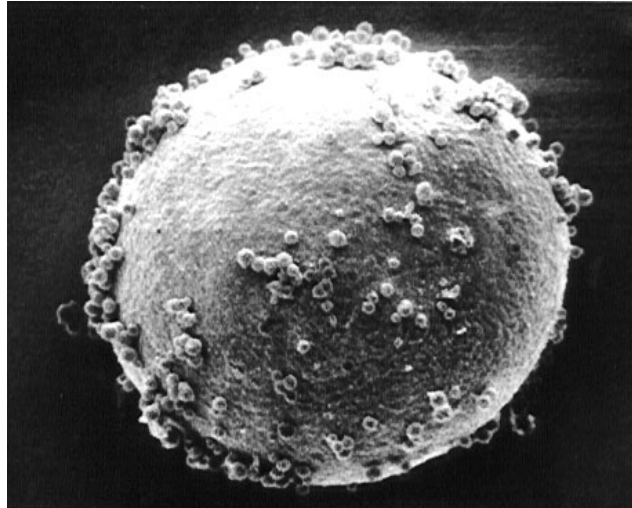


ALLERGIA AL CIPRESSO

Renato Ariano

PREVALENZA NEL MONDO DELL'ALLERGIA AL CIPRESSO (CUPRESSACEAE) E GENERI CORRELATI



Granulo pollinico di Cipresso visto al Microscopio Elettronico

I dati epidemiologici relativi alla pollinosi da Cupressaceae e generi correlati provengono solo da determinate aree geografiche del mondo ed in particolare da alcuni stati meridionali degli U.S.A., dal Giappone, dal Sud-Africa e dal bacino mediterraneo. Non abbiamo dati precisi sulla prevalenza di pollinosi da mountain cedar negli U.S.A. mentre i dati relativi al Giappone sulla *Cryptomeria japonica* riferiscono una prevalenza del 20%. In Francia esistono diverse fonti che riferiscono dati leggermente differenti tra loro e che vanno dal 15% di Bousquet nel 1984 , al 13,6% di Charpin , al 29% di Panzani sino ai più recenti dati di Vervloet che riferisce una prevalenza del 18,5%, nel 1993. In Spagna i dati sono abbastanza omogenei: 23% di Subiza (e 18% di Guerra. In Israele la prevalenza varia secondo i luoghi considerati e oscilla tra il 24% e il 32% . In Albania 5% , in Marocco 3,8% ; in Tunisia 8,6%.



PREVALENZA IN ITALIA

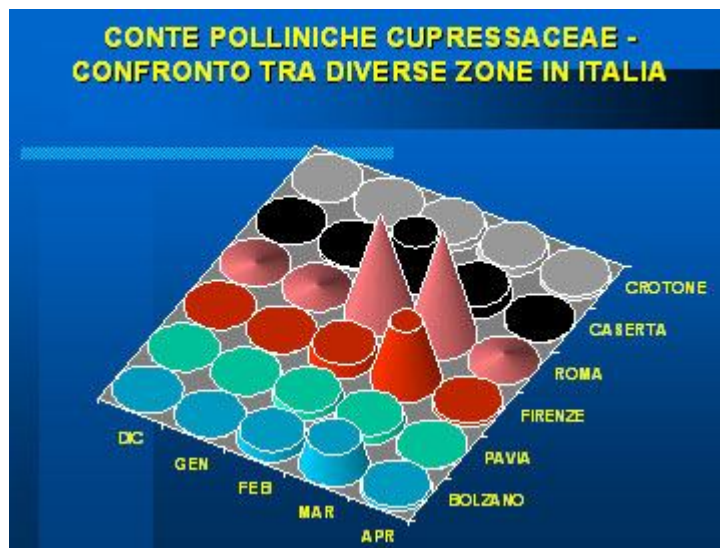
La pollinosi da Cupressacee, fino a pochi anni or sono, ancora sottovalutata nella sua reale prevalenza, in Italia per vari motivi. In primo luogo per l'ancora scarsa consapevolezza del problema, a livello generale; per questo motivo quest'allergene spesso non è neppure compreso tra quelli di routine in molti Ambulatori Allergologici. La particolare stagionalità invernale, inoltre, costituisce motivo di confusione con altre forme d'allergopatia respiratoria da allergeni perenni o con forme di rinite virale, più frequenti nello stesso periodo di tempo. Infine la mancanza d'estratti diagnostici commerciali standardizzati comporta probabilmente una sottostima delle sensibilizzazioni e questo vale per le metodiche *in vivo* ma soprattutto per quelle *in vitro* che ancor più sovente delle prime possono dare falsi negativi. Pertanto una valutazione della reale prevalenza della pollinosi da Cupressacee e specie correlate non è facile e difatti varia molto, secondo i diversi autori. Queste discordanze possono ovviamente dipendere da diversità delle presenze botaniche nei diversi territori, ma indubbiamente il motivo più importante è costituito dalla già citata mancanza d'estratti allergenici diagnostici sufficientemente potenti. Recentemente un gruppo di lavoro multidisciplinare costituitosi nell'ambito di un progetto finanziato dalla Comunità Europea e comprendente sia ricercatori che clinici allergologi di vari Paesi quali Francia, Spagna, Portogallo e Italia (rappresentata dal Dr. Ariano), ha osservato che l'estratto di *Cupressus arizonica*, preparato seguendo una opportuna metodica, può essere considerato di gran lunga rappresentativo della specie Cupressacee in termini di potenziale allergenico e risulta sia pur leggermente superiore a quello espresso dall'estratto di *Juniperus ashei* (Report Progetto Cyprall n° 71991, 2003-2005, ref. n° 73).

In effetti, l'uso nella pratica allergologica di tale estratto ha consentito di effettuare una diagnosi più precisa da cui risulta che la pollinosi da Cupressacee e generi correlati, sembra essere in progressivo aumento in Italia, soprattutto in alcune aree del bacino mediterraneo (specificatamente in Liguria, Toscana e Puglia). Malgrado la crescente ampiezza del problema esistono pochissimi studi epidemiologici sull'argomento.

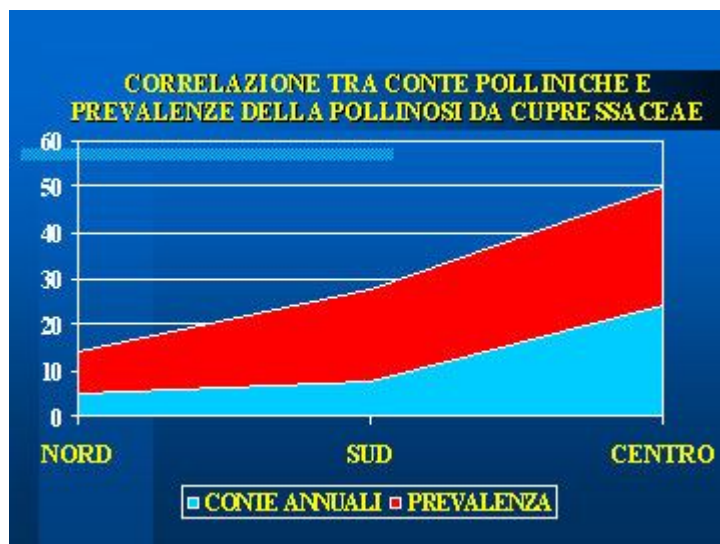
In Italia, un ampio studio multicentrico è stato promosso e coordinato da Ariano, nel corso della stagione pollinica 1999-2000. Lo studio ha coinvolto 12 centri allergologici italiani ed esattamente: Verona, Asola (MN), Pavia, Bordighera (IM), Genova, Pistoia, Firenze, Roma, Caserta, Messina, Palermo, Cagliari. I pazienti erano testati con un ampio pannello di diverse specie di Cupressacee e generi correlati: *Cupressus sempervirens*, *Cupressus arizonica*, *Chamaecyparis obtusa*, *Thuia orientalis*, *Juniperus oxicedrus* (Cupressaceae), *Cryptomeria japonica*, *Taxus baccata* (Taxodiaceae). Il risultato dell'indagine è stato quello di una percentuale totale di prevalenza delle positività cutanee alle Cupressaceae, è risultata del 18,4 %. Pertanto il dato italiano appare perfettamente sovrapponibile ai dati di prevalenza segnalati in Francia ed in Spagna. Questo convalida l'opinione comune di considerare la pollinosi da Cupressaceae come forma patologica caratteristica dell'area mediterranea. In Italia, se poi si differenziano i dati a seconda delle aree geografiche si possono sottolineare nette differenze. La maggiore prevalenza di positività cutanee si presenta nell'area del Nord-Tirreno e del Centro (28,2%), valori intermedi nel Sud e nelle Isole (20,1%) e le più basse percentuali di prevalenza nel Nord (9,2%).



Se, oltre alle prevalenze, prendiamo in considerazione le conte polliniche relative alle Cupressaceae si nota subito un comportamento analogo. Le conte polliniche per Cupressaceae appaiono numericamente superiori al Centro rispetto al Sud ed i valori meno elevati si riscontrano al Nord.



Anche la correlazione statistica, effettuata con retta di regressione, tra i dati delle conte polliniche i dati di prevalenza, per diverse aree geografiche, appare statisticamente significativa.



Questa osservazione sembrerebbe rafforzare l'ipotesi che sia soprattutto la maggiore esposizione a determinati allergeni a costituire un cofattore determinante, accanto alla predisposizione genetica, per la sensibilizzazione allergica e il manifestarsi della sintomatologia. Il fatto che popolazioni sottoposte a diverso carico pollinico presentino percentuali di sensibilizzazioni specifiche con andamento analogo è molto suggestivo in tal senso. C'è da dire in proposito che oltre 5 milioni di piante di Cipresso sono prodotte annualmente nei vivai europei e che il *Cupressus arizonica* è il più utilizzato nei rimboschimenti per la sua elevata resistenza al cosiddetto cancro prodotto da un fungo (*Seiridium cardinale*). Un'ipotesi ragionevole per spiegare l'incremento significativo di questa pollinosi va sicuramente ricercato nella diffusione del suo impiego sia per motivi ornamentali e che come frangivento. All'incremento delle piante sul territorio corrisponderebbe quindi un incremento dei pollini aerotrasportati e conseguentemente delle sensibilizzazioni allergiche.



Cipresso in Toscana

L'importanza che questa pollinosi invernale si è conquistata, anche a livello di opinione generale, emerge anche dalla banale cronaca quotidiana. Qualche anno fa, nel corso della campagna elettorale relativa alle elezioni amministrative del Comune di Adria (Bari), una lista elettorale inserì, tra le voci del proprio programma, l'abbattimento di tutte le piante di cipresso, onde evitare patologia allergica alla popolazione. Non sappiamo se questo elemento sia stato determinante per le sorti elettorali di questa lista, tuttavia questo episodio ci sembra indice di una maggiore consapevolezza del problema, anche da parte dei non addetti ai lavori. A parte questa curiosità, esistono numerosi dati che dimostrano che il trend delle presenze polliniche di Cupressaceae presenti un progressivo aumento, presso tutti i centri di monitoraggio che dispongono di un registro storico delle conte polliniche (relativamente almeno agli ultimi 4-5 anni).

Anche questo dato pare correlare con l'andamento delle prevalenze di cutipositività nei confronti di questi pollini, in diverse zone dell'Italia. Per alcuni Centri si sono esaminati i dati relativamente agli ultimi 20 anni e da questi risulta evidente l'andamento in crescita progressiva sia per le conte sia per la prevalenza.

Questi due dati appaiono correlati tra loro in maniera statisticamente significativa, anche per quanto riguarda i dati storici più recenti relativi agli ultimi 5 anni, in diversi centri di monitoraggio. Più recentemente sono stati pubblicati dati che mettono in evidenza come l'attuale Cambiamento Climatico mondiale abbia influenzato significativamente la durata della fioritura delle Cupressaceae nell'area mediterranea.



Cipressi a Piazza di Siena, Roma.

Bibliografia

Molecular cloning and characterization of Cup a 4, a new allergen from *Cupressus arizonica*.

Biochem. Biophys. Res. Commun. Oct 2010 Yago Pico de Coaña, Nuria Parody, Miguel Ángel Fuertes, Jerónimo Carnés, Daniela Roncarolo, Renato Ariano, Joaquín Sastre, Gianni Mistrello, Carlos Alonso

Sensitization to Cupressaceae pollen has become one of the most important causes of pollinosis in Western countries during winter and early spring. However, the characterization of the extracts, the allergens involved and the cross-reactivity with other pollen sources still remain poorly studied; in the case of *Cupressus arizonica* only two allergens have been described so far. A new allergen from *C. arizonica* pollen, Cup a 4, was cloned and expressed in *Escherichia coli* as an N-terminally His-tag recombinant protein that was characterized biochemically, immunologically and by circular dichroism spectroscopy. The new allergen has high sequence identity with Prickly Juniper allergen Jun o 4 and contains four EF-hand domains. The recombinant protein has structural similarities with other calcium binding allergens such as Ole e 3, Ole e 8 and Phl p 7. Cup a 4 is expressed in mature pollen grains and shares antigenic properties with the recombinant form. Sera from 9.6% *Cupressus arizonica* allergic patients contain specific IgE antibodies against recombinant Cup a 4.

Possible role of climate changes in variations in pollen seasons and allergic sensitizations during 27 years.

Ariano R., Canonica GW, Passalacqua G Ann Allergy Asthma Immunol. 2010 Mar;104(3):215-22.

Climate changes may affect the quality and amount of airborne allergenic pollens. The direct assessment of such an effect requires long observation periods and a restricted geographic area. To assess variations in pollens and allergic sensitizations across 27 years in relation to climate change in a specific region. We recorded pollen counts, season durations, and prevalences of sensitizations for 5 major pollens (birch, cypress, olive, grass, and Parietaria) in western Liguria between 1981 and 2007. Pollen counts were performed using a Hirst-type trap, and sensitizations were assessed by means of skin prick testing. Meteorologic data for the same period included average temperatures, direct radiation, humidity, number of sunny days, and rainfall. There was a progressive increase in the duration of the pollen seasons for Parietaria (+85 days), olive (+18 days), and cypress (+18 days), with an overall advance of their start dates. For Parietaria, there was an advance of 2 months in 2006 vs 1981. Also, the total pollen load progressively increased for the considered species (approximately 25% on average) except for grasses. Percentages of patients sensitized to the pollens increased throughout the years, whereas the percentage of individuals sensitized to house dust mite remained stable. These behaviors paralleled the constant increase in direct radiation, temperature, and number of days with a temperature greater than 30 degrees C. The progressive climate changes, with increased temperatures, may modify the global pollen load and affect the rate of allergic sensitization across long periods.

Cypress pollen does not cross-react to plant-derived foods.

Panzani R, Ariano R, Mistrello G. Eur Ann Allergy Clin Immunol. 2010 Jun;42(3):125-6.

Some studies hypothesize the existence of cross-reactivity between allergy to *Cupressus sempervirens* pollen and plant-derived foods. We aimed to assess whether this holds true. 72 patients monosensitized to cypress pollen were investigated for food allergy to peach, apple, tomato and *Juniperus oxycedrus* berry. No patient had a history of clinical allergy or showed in-vitro or in-vitro reactivity to peach, apple, and tomato. Two patients scored positive on SPT with *Juniperus oxycedrus* berry but in-vitro tests ruled out cross-reactivity with the corresponding pollen. CONCLUSION: Airborne allergy to Cupressaceae pollen is not associated with allergy to plant-derived foods.

In vitro and in vivo biological activities of old and fresh *Cupressus arizonica* pollen.

Ariano R, Mistrello G, Mincigrucci G, Bricchi E, Lannotti O, Frenguelli G, Passalacqua G, Panzani RC. J Invest Allergol Clin Immunol. 2006;16(3):177-82.

Respiratory allergy to the pollen of Cupressaceae is becoming more and more common every year in the Mediterranean area. The purpose of this study was to see whether the allergenic potency of *Cupressus arizonica* pollen diminished after a 6-year period (1994-2000). Among the Cupressaceae, we selected the pollen of *C. arizonica*. The mode of sampling in 1994 and in 2000 was the same and the pollen was collected on the same tree and stored at room temperature. To compare its biological and allergenic activities data was collected with the following methods: cytohistology of Alexander, 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride enzyme staining, skin testing, nasal provocation test, radioallergosorbent test (RAST), RAST inhibition, sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, and immunoblotting to detect protein content. Thirty-eight patients with respiratory allergy to Cupressaceae were selected. We found no decrease in the allergenic potency of the pollen, but did find that viability and germinating power had disappeared completely after 30 to 40 days. Moreover, the amount of protein in the old pollen was half the amount found in the fresh one. Skin prick testing showed identical results with the old and the fresh pollens. CONCLUSIONS: The allergenic in vivo and in vitro activity of cypress pollen is retained for years after its collection. This activity seems to be independent of the viability of pollen grains and of the total protein content. This may explain the presence of clinical symptoms in patients out of the pollen season.

Efficacy of sublingual coseasonal immunotherapy with a monomeric allergoid in Cupressaceae pollen allergy-- preliminary data.

Ariano R, Panzani RC, Mistrello G. Eur Ann Allergy Clin Immunol. 2005 Mar;37(3):103-8

Respiratory allergy to conifers pollens is a growing phenomenon all over the world (Mediterranean area, USA, Japan). In France and Italy *Cupressus sempervirens* is the commonest offender. To check the efficacy of specific immunotherapy by the sublingual route using a monomeric allergoid of *Cupressus arizonica* pollen. 20 patients and 10 controls were randomly selected. The diagnosis was assessed on a clinical hivernal symptomatology of allergic rhinitis, and/or asthma, positive skin test and RAST, and nasal provocation test to *Cupressus arizonica*. The extract was a monomeric allergoid titrated in allergenic units (AU). The treatment was coseasonal from the beginning of december to the end of march. It was not conducted double blind. The evaluation of the allergenic potency of native and modified *Cupressus arizonica* extracts have shown that the modified extract has a decreased skin test IgE binding capacity. According to symptom, drug consumption scores and nasal provocation test, there was a statistical improvement in the active group (compared to the control group) without any side effect. The use of a modified *Cupressus arizonica* extract, which is easier to prepare than *Cupressus sempervirens* and which is a monomeric allergoid, has shown that by the sublingual route, this therapeutic approach is safe and that the first results were satisfactory without any side effect. This good tolerance was anticipated by the fact that, checked on 16 volunteers by skin test, the allergoid gave a less important local reaction on skin testing than the native extract. **CONCLUSION:** This study has shown that: The KCNO modified *Cupressus arizonica* extract has a reduced IgE binding capacity; This monomeric allergoid is safe and effective administrated by the oromucosal route in clinical respiratory allergy to Cupressaceae and devoid of any side effect.

An epidemiological survey of Cupressaceae pollenosis in Italy.

Ariano Renato e coll. , Italian Association of Aerobiology. J Investig Allergol Clin Immunol. 2002;12(4):287-92.
Allergology Service, Ospedale S. Charles Bordighera, ASL n.1 - Imperia. renato-ariano@libero.it

Allergic reaction to Cupressaceae and Taxodiaceae pollens appears to be on the increase in the last years in Italy. An epidemiological survey on this pollenosis was conducted in 12 Italian centers. The diagnostic panel consisted of seven Cupressaceae and Taxodiaceae genus (*Cupressus sempervirens*, *Cupressus arizonica*, *Cryptomeria japonica*, *Chamaecyparis obtusa*, *Thuja orientalis*, *Taxus baccata*, and *Juniperus oxycedrus*). A total of 3057 pollen-sensitized outpatients were examined. The study took place from November 1999 to March 2000. At the same time pollen counts were carried out. The prevalence of positive skin tests to the diagnostic panel is different in northern (9.2%), central (28.2%), and southern (20.1%) Italy, the general average being 18.4%. The average age of sensitized patients was 36.99. Monosensitized patients represent only 14.7% of total Cupressaceae-sensitized patients, their average age being higher than the polysensitized ones (43.3 versus 35.86). Distribution of symptoms is as follows: rhinitis (49%), conjunctivitis (32%), asthma (16%), and dermatitis (3%). Months with the highest levels of symptoms are February and March. The more frequent allergens at prick tests are *Cupressus sempervirens* (90%) and *Cupressus arizonica* (88.9%). The more reactive allergens are the *Cupressus arizonica* and *Juniperus oxycedrus*. The clinical data suggest that, in Italy at least, this pollenosis is on the increase. The use of more than one extract of Cupressaceae and Taxodiaceae genus increases the diagnostic sensitivity of the disease.

Efficacy of sublingual specific immunotherapy in Cupressaceae allergy using an extract of Cupressus arizonica. A double blind study.

Ariano R, Spadolini I, Panzani RC. Allergol Immunopathol (Madr). 2001 Nov-Dec;29(6):238-44.

Allergologia ed Immunologia Clinica, A.S.L. Imperiese-Ospedale S. Charles di Bordighera, Italy.

Non-injective routes of immunotherapy in respiratory allergy have being proposed as an alternative to conventional immunotherapy. We carried out a study to evaluate the clinical efficacy and effects sublingual immunotherapy (SLIT) in patient with Cupressaceae pollen respiratory allergy. Twenty patients with Cupressaceae pollen (*C. sempervirens*) rhinoconjunctivitis, mild asthma or both were randomly chosen for sublingual immunotherapy (10 patients) or placebo treatment (10 patients) using a double blind placebo controlled technique. We have used an extract of *Cupressus arizonica* because of its better stability in solution and its crossreactivity with *Cupressus sempervirens*. The patients underwent treatment for 12 months (from april 1999 to april 2000). Symptoms and drug scores as well as nasal provocation tests were recorded. The pollen counts were carried out, during all the same period. We found significantly lower symptom scores ($p < 0.05$) and drug consumption scores ($p < 0.05$) in the immunotherapy group than in the placebo group, during the pollen season, after the first year of therapy. Besides threshold of allergen reactivity in nasal provocation tests was increased in the active group ($p < 0.01$). No untoward reactions have been observed.

CONCLUSIONS: SLIT with *Cupressus arizonica* (pollen extracts) produced, after one year treatment, a significant improvement of allergic symptoms and a decrease of drug consumption scores and allergen-specific nasal reactivity. SLIT with *Cupressus arizonica* appeared to be effective and safe in the treatment of Cupressaceae pollen respiratory allergy.