

# ***Betula pendula* Roth (syn = *B. verrucosa*) polenine duyarlı hastalarda IgE reaktivite profilleri**

Different IgE reactivity profiles in the patients who sensitized to  
*Betula pendula* Roth (syn = *B. verrucosa*) pollen

Şenol ALAN<sup>1</sup>, Özlem YILDIRIM<sup>2</sup>, Nur Münevver PINAR<sup>2</sup>, Derya SEÇİL<sup>3</sup>, Tamer KEÇELİ<sup>4</sup>,  
Talip ÇETER<sup>5</sup>, Zeynep MISIRLIGİL<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zonguldak, Türkiye  
Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Zonguldak Karaelmas University, Zonguldak, Turkey

<sup>2</sup> Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye  
Department of Biology, Faculty of Sciences, Ankara University, Ankara, Turkey

<sup>3</sup> Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Allerjik Hastalıklar Bilim Dalı, Ankara, Türkiye  
Division of Allergy, Department of Chest Diseases, Faculty of Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey

<sup>4</sup> Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çankırı, Türkiye  
Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Cankiri Karatekin University, Cankiri, Turkey

<sup>5</sup> Kastamonu Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kastamonu, Türkiye  
Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Kastamonu University, Kastamonu, Turkey

## ÖZET

**Giriş:** Türkiye’de gerek doğal, gerekse park ve bahçelerde geniş yayılım gösteren *Betula pendula* Roth poleninde yer alan allerjenlere karşı duyarlı hasta serumlarında IgE reaktivitesi araştırılmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Polen protein profili SDS-PAGE yöntemi ile ayrılıp, polivinilidenflorid (PVDF) membrana aktarılmış ve polene duyarlı 10 olgu üzerinden IgE reaktivite profilleri değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Pozitif reaksiyon gösteren yedi olguda %86 (n= 6) 17 kDa Bet v 1, %29 (n= 2) 15 kDa Bet v 2 fraksiyonuna allerjik reaktivite gösterdiği bulunmuştur. Bir hasta ise 14.5 kDa’luk protein fraksiyonuna reaksiyon vermiştir.

**Sonuç:** Ön sonuçlarımız, Avrupa’daki birçok ülkede benzer şekilde ülkemizde de *Betula* poleni allerji-

## ABSTRACT

**Objective:** IgE reactivity has been investigated in the patients who sensitized to *Betula pendula* Roth (syn= *B. verrucosa*) pollen that distributed widely in nature habitat and also in park and gardens in Turkey.

**Materials and Methods:** Protein profile of pollen was studied by SDS-PAGE and transferred to polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane. IgE reactivity profiles have been assessed via 10 patients who sensitized to pollen.

**Results:** It has been found that 86% (n= 6) show a positive reaction to 17 kDa (Bet v 1), 29% (n= 2) of sensitized seven patients has show a positive reaction to 15 kDa (Bet v 2). Only one patient show a reaction to protein which has 14.5 kDa molecular weight.

**Conclusion:** Our preliminary results have shown that the most common IgE reactivity was against

sinde en sık IgE reaktivitesinin Bet v 1'e karşı olduğunu göstermiştir.

(*Asthma Allergy Immunol* 2009;7:100-105)

**Anahtar kelimeler:** *Betula pendula*, polen, immunoglobulin E, Bet v 1 allerjisi, Bet v 2 allerjisi

Geliş Tarihi: 03/08/2009 • Kabul Ediliş Tarihi: 11/08/2009

## GİRİŞ

Kuzey yarım küre, Asya, Avrupa, Kuzey Amerika'da yayılım gösteren ve 40 türü bulunan huş ağacı olarak bilinen *Betula*'nın ülkemizde de biri endemik olmak üzere beş türü doğal yetişmektedir<sup>[1,2]</sup>. Bu polenler, *Gramineae* ailesi polenleri ile beraber Avrupa'da en allerjik polenler arasında yer almaktadır<sup>[3]</sup>. Avrupa'da en fazla allerjik etki gösteren 15 takson arasında yer aldığı Tablo 1'de görülmektedir<sup>[4]</sup>. *Betula* L. kuzey yarım kürenin ılıman bölgelerinin alpin ve subalpin kuşaklarında yayılım gösteren oldukça allerjik bir bitkidir<sup>[1,2]</sup>. *Betula pendula* ise Türkiye'de gerek doğal, gerekse park ve bahçelerde geniş yayılış gösteren bir türdür. Ülke-

Bet v 1 in *Betula* pollen allergy in our country similar to many European countries.

(*Asthma Allergy Immunol* 2009;7:100-105)

**Key words:** *Betula pendula*, pollen, immunoglobulin E, Bet v 1 allergen, Bet v 2 allergen

Received: 03/08/2009 • Accepted: 11/08/2009

mizde yapılan aeropalinolojik analizlerde de rastlanan *B. pendula* (syn = *B. verrucosa*) poleninden bugüne kadar yedi allerjen elde edilmiştir<sup>[5-8]</sup>. Bunlardan Bet v 1 17 kDa ve Bet v 2 15 kDa moleküler ağırlığına sahip olan antijenler *Betula* poleni ile görülen allerjiden sorumludur<sup>[9]</sup>. Bet v 1, besin allerjenlerinden elma (Mal d 1), kereviz (Api g 1), soya fasülyesi (Gly m 1) gibi bitkilerden ve benzer sistematik düzeydeki diğer besinlerden de elde edilmiştir<sup>[10]</sup>. *B. pendula* poleninden izole edilen Bet v 2 minör allerjeninin de yer fıstığında bulunan (Ara h 5) antijeni ile homolog özellik gösterdiği bulunmuştur<sup>[11]</sup>. Rekombinant Bet v 1 ve Bet v 2 ile yapılan bir çalışmada, bu iki allerjenin allerji

**Tablo 1. Avrupa'daki aeropalinoloji istasyonlarında izlenen ve en çok allerjiye neden olan 15 takson listesi\***

Cins	Takson
<i>Alnus</i>	Çoğunlukla <i>Alnus glutinosa</i> , <i>Alnus incana</i> , <i>Alnus viridis</i>
Corylaceae	<i>Corylus</i> , <i>Carpinus</i> , <i>Ostrya</i>
Cupressaceae	<i>Cupressus</i> , <i>Chamaecyparis</i> , <i>Juniperus</i> , <i>Taxus</i>
Oleaceae	<i>Fraxinus</i> , <i>Olea</i>
<i>Betula</i>	Çoğunlukla <i>Betula pendula</i> , <i>Betula pubescens</i>
Pinaceae	<i>Pinus</i> , <i>Piceae</i> , <i>Abies</i> , <i>Cedrus</i> , <i>Larix</i>
<i>Quercus</i>	Çoğunlukla <i>Quercus robur</i> , <i>Quercus ilex</i> , <i>Quercus rubra</i> , <i>Quercus cerris</i>
Poaceae	Çoğunlukla doğal tahıllar
<i>Rumex</i>	Çoğunlukla <i>Rumex acetosa</i> , <i>Rumex crispus</i> , <i>Rumex obtusifolius</i>
<i>Plantago</i>	Çoğunlukla <i>Plantago lanceolata</i> , <i>Plantago media</i> , <i>Plantago major</i> , <i>Plantago coronopus</i>
<i>Castanea</i>	<i>Castanea sativa</i>
Urticaceae	Çoğunlukla <i>Urtica dioica</i> , <i>Parietaria judaica</i> , <i>Parietaria officinalis</i>
Chenopodiaceae	Amaranthaceae dahil
<i>Artemisia</i>	Çoğunlukla <i>Artemisia vulgaris</i> , <i>Artemisia annua</i> , <i>Artemisia verlotorum</i>
<i>Ambrosia</i>	Çoğunlukla <i>Ambrosia artemisiifolia</i> , <i>Ambrosia elatior</i> ve <i>Xanthium</i>

\* 4 no'lu kaynaktan alınmıştır.

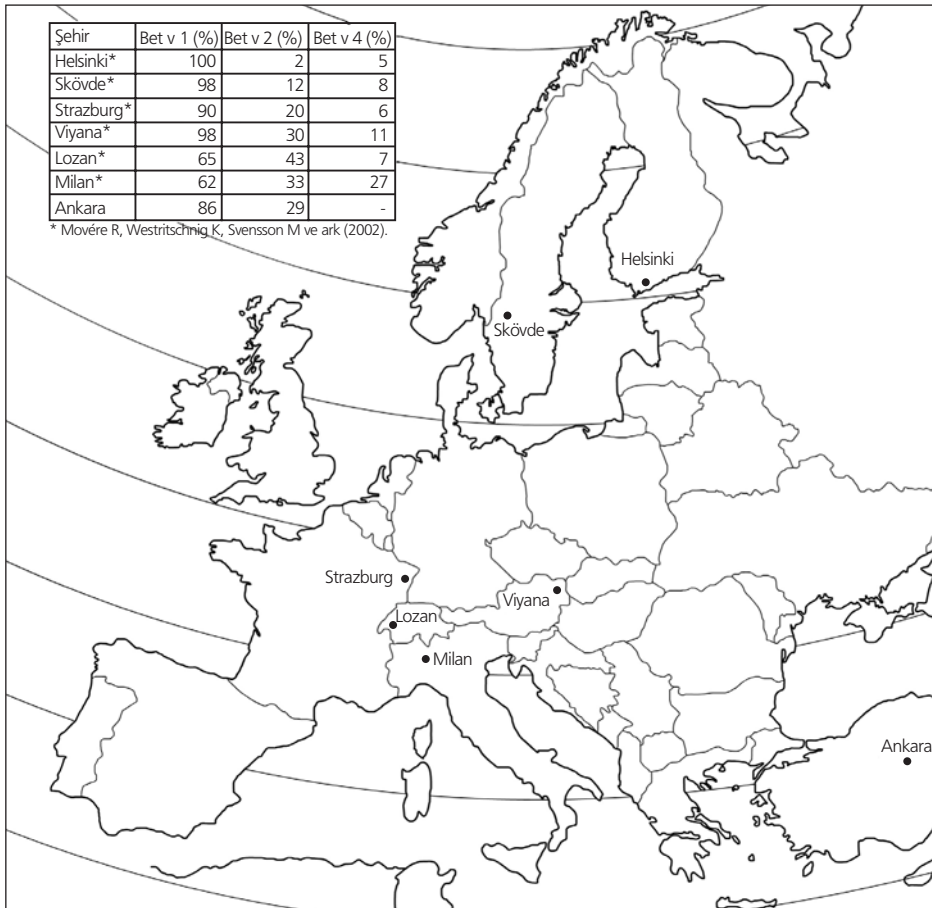
sıklığının toplumlara bağlı olarak değiştiği gösterilmiştir<sup>[9]</sup>. Kuzey Avrupa ülkelerinde Bet v 1 allerjisi yüksek oranda görülürken Güney Avrupa ülkelerine doğru Bet v 2 önem kazanmaktadır (Şekil 1). Allerjenlerin toplumdaki sıklıklarının araştırılması özellikle çapraz reaktiviteden kaynaklanan allerjilerin belirlenmesinde, tedaviye yaklaşımda büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle bu çalışmamız, Türkiye’de yetişen *B. pendula* poleninde yer alan allerjenlere karşı duyarlı hastaların serumlarında IgE reaktivite farklılığını araştırmak amacıyla planlanmıştır. Bulgularımız ön çalışma olarak sunulmuştur.

### GEREÇ ve YÖNTEM

*B. pendula* Roth polenleri, 2007 yılının Mayıs ayında özel torbalar içerisinde toplanmıştır. Kurutulan ve elenen örnek mikroskop altında

incelenerek saflığının en az %95 olduğu belirlenmiştir. Daha sonra, polenler (1/9 w/v) 0.2 M PBS (fosfatla tamponlanmış serum) pH 6.8 içerisinde, devamlı olarak çalkalanarak 20 saat süreyle +4°C’de özütlenmiştir.

Araştırma, ağaç polenlerine duyarlı olan 10 olgu serumu ile yapılmıştır. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Allerjik Hastalıklar Bilim Dalında allerji yakınmaları ile takip edilen ve Pharmacia CAP yöntemi ile spesifik IgE analizi için kan vermiş olan ve derin dondurucuda yedek serumları bulunan hastalardan 10 olgu seçilmiştir. Bu olgular serumlarının çalışmada kullanılacağı konusunda bilgilendirilerek onamları alınmıştır. Bu olguların dokuzu deri prick testi yönteminde 15 dakika sonunda *Betula* poleninin de dahil olduğu ağaç polenlerine en az 3 mm



Şekil 1. Farklı Avrupa popülasyonlarında görülen *Betula* allerjen sıklığı (9).

ödem ile yanıt veren allerjik rinitli hastalardır. Yakınması olan fakat deri testi ve spesifik IgE analizinde negatif sonuç alınmış bir hasta serumu da kontrol amacıyla çalışmaya dahil edilmiştir.

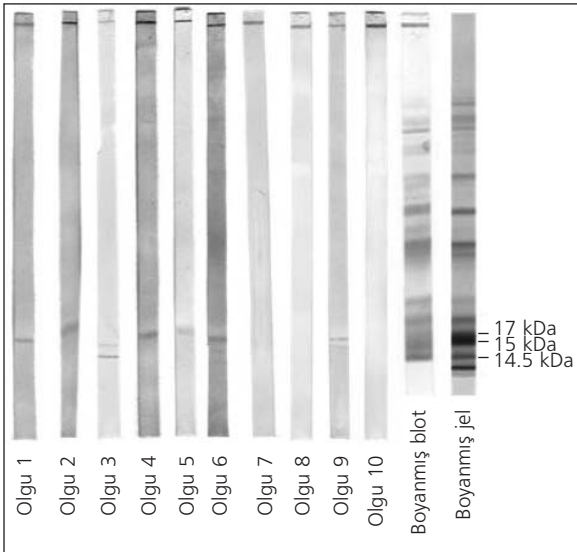
### SDS-PAGE ve İmmünblot Yöntemi

Blot analizindeki bantlarla karşılaştırmak amacıyla analitik elektroforez, SDS'li ortamda ve %14'lük jelde gerçekleştirilmiştir (Resim 1). Proteinler Commasie Brilliant Blue ile boyanarak görünür hale getirilmiştir. Proteinlerin molekül ağırlıkları, molekül ağırlığı bilinen protein işaretçileri kullanılarak tahmin edilmiştir (Sigma Color Brust, C1992). Preparatif jelde proteinler %14'lük SDS-PAGE ile ayrılarak PVDF membrana aktarılmıştır. Aktarım tamponu olarak Towbin kullanılmıştır. İmmünolojik tespit işlemi için PVDF membran 3 mm genişliğinde şeritler halinde kesilip, %5'lik süt tozu ile 12 saat bloke edilmiştir. Daha sonra bir kez 5 dakika süreyle %1'lik süt tozu içeren, 0.05 M Tris tamponu (TBS), pH: 8.0 ile yıkanmıştır. Yıkanan şeritler, 1/20 kat seyreltilen hasta serumu ile altı saat boyunca +4°C inkübe edilmiştir. Üç kez beşer dakika %1'lik süt tozu içeren TBS içinde yıkanan şeritler, 1/5000 oranında seyreltil-

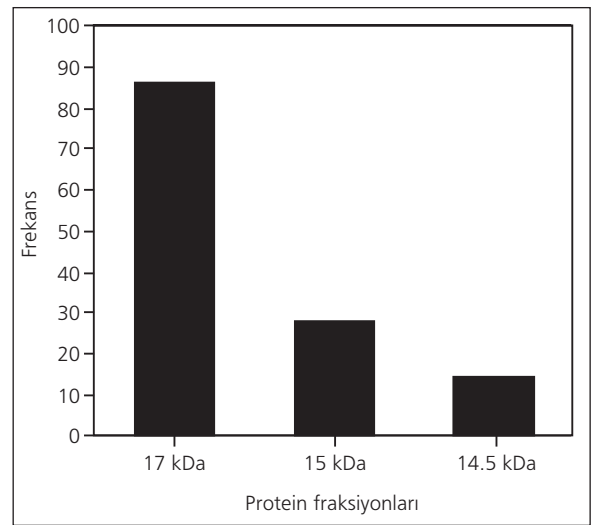
miş ve alkalen fosfataz ile konjuge edilmiş fare "anti-human" IgE antikoruna (Sigma) ile bir saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Tekrar üç kez beşer dakika süreyle TBS ile yıkanan şeritler, BCIP/NBT (Sigma) substratı içerisinde 30 dakika bekletilerek bantların görünür hale gelmesi sağlanmıştır.

### BULGULAR

Çalışılan dokuz ağaç poleni karışımına duyarlı olgudan, yedisi immüno kimyasal yöntemle pozitif sonuç vermiştir. Pozitif olan hastalardan altısında ise Pharmacia CAP yöntemi ile *Betula* polenine spesifik IgE testi de pozitif bulunmuştur. Polene duyarlılığı bulunmayan olgu serumunda immüno kimyasal yöntemle de negatif sonuç alınmıştır. Pozitif sonuç veren olguların tümünün SDS analizi ile elde edilen 23 banttan üç tanesine (17, 15 ve 14.5 kDa) karşı allerjik reaksiyon gösterdiği saptanmıştır. Pozitif sonuç veren 7 olgunun 6 (%86)'sında 17 kDa'luk protein fraksiyonuna, 2 (%29)'sinin 15 kDa protein fraksiyonuna karşı allerjik reaksiyon gösterdiği görülmüştür. Sadece bir hastanın 14.5 kDa'luk protein fraksiyonuna karşı reaksiyon verdiği belirlenmiştir (Resim 1, Şekil 2). Tablo 2'de ise hastaların bulguları verilmiştir.



Resim 1. Olguların IgE reaktivite profilleri.



Şekil 2. Pozitif reaksiyon gösteren hastaların reaktivite gösterdikleri fraksiyon yüzdeleri.

**Tablo 2. Çalışmaya alınan olguların demografik özellikleri ve immünblot sonuçları**

	Kişisel bilgiler	Deri prick testi sonucu (ağaç karışımı) mm	Spesifik IgE sonucu	immünblot sonucu
Olgu 1 (E.O.P.)	Cinsiyet: E Yaş: 16	5 x 5	1.52 kUa/L	17 kDa
Olgu 2 (Ü.O.)	Cinsiyet: K Yaş: 35	3 x 3	1.42 kUa/L	17 kDa
Olgu 3 (M.Ş.)	Cinsiyet: K Yaş: 45	3 x 3	1.23 kUa/L	14.5 kDa-15 kDa
Olgu 4 (S.P.)	Cinsiyet: E Yaş: 31	3 x 3	0.44 kUa/L	17 kDa
Olgu 5 (Ç.Ş.)	Cinsiyet: E Yaş: 22	4 x 4	3.69 kUa/L	17 kDa
Olgu 6 (B.F.)	Cinsiyet: K Yaş: 22	5 x 5	10.2 kUa/L	17 kDa
Olgu 7 (U.B.)	Cinsiyet: E Yaş: 37	3 x 3	< 0.35 kUa/L (negatif)	Negatif
Olgu 8 (G.K.)	Cinsiyet: K Yaş: 49	4 x 4	< 0.35 kUa/L (negatif)	Negatif
Olgu 9 (F.D.)	Cinsiyet: K Yaş: 45	6 x 6	< 0.35 kUa/L (negatif)	17 kDa-15 kDa
Olgu 10 (B.T.)	Cinsiyet: K Yaş: 22	Negatif	< 0.35 kUa/L (negatif)	Negatif

## TARTIŞMA

Çalışma sonuçlarımız az sayıdaki olgu grubumuzda bulduğumuz %86 Bet v 1 allerji sıklığının Kuzey Avrupa ülkelerine benzer bir oranda olduğunu göstermektedir. Çalışmamızın az sayıdaki hastayı içermesi nedeniyle bulgumuzu bir ön çalışma sonucu olarak değerlendirebiliriz. Movere ve arkadaşları rekombinant *Betula* allerjenleri ile yaptıkları çalışmada Bet v 1 allerji sıklığının İsveç, Finlandiya ve Avusturya gibi Kuzey Avrupa ülkelerinden Güney Avrupa ülkelerine doğru ilerledikçe azaldığını bulmuştur<sup>[8]</sup>. Bu oran İsveç, Finlandiya ve Avusturya gibi ülkelerde %98 ve üzerinde iken, Fransa'da %90, İsviçre ve İtalya'da ise %65 düzeyindedir<sup>[9]</sup>. Çalışmamızda Bet v 1 sıklığının (%86) yaklaşık aynı enlemde yer alan İtalya'dan yüksek olması dikkat çekicidir ve daha çok olgu ile

araştırılmasını gerektirmektedir. Deri testi pozitif olan polene duyarlı olan hastanın serumunda spesifik IgE testinin negatif bulunmasına karşın hem Bet v 1 hem de Bet v 2 fraksiyonuna allerjik reaksiyon göstermesi yerli antijen kaynaklarının önemini vurgulayan önemli bir işarettir. Ayrıca bir olgunun bugüne kadar literatürde yer almayan 14.5 kDa'luk protein fraksiyonuna allerjik reaksiyon göstermesi de "yerel antijenin farklılığından mı kaynaklanıyor?" sorusunu düşündürdüğü için çok sayıdaki duyarlı olguda bu konunun araştırılması ile tartışılmasının daha uygun olacağına inanıyoruz. Fakat bu ön çalışmada saptanan hasta serumlarındaki ticari allerjenle elde edilen spesifik IgE sonuçları ile IgE fraksiyon sonuçlarımız arasındaki benzerlik Türkiye'deki *Betula* polenin çok farklı antijenik yapıda olmadığını da düşündürmektedir.

**KAYNAKLAR**

1. Davis PH, Mill RR, Tan K. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press, 1988:688-94.
2. Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KH (eds). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Supplement)*. Edinburgh: Edinburgh University Press, 2000:11.
3. D'Amato G, Spieksma FTM, Liccardi G, et al. Pollen-related allergy in Europa. *Allergy* 1998;53:567-78.
4. D'Amato G, Spieksma MF, Bonini S. *Allergenic pollen and pollinosis in Europe*. Blackwell Scientific Publications 1991.
5. Alan Ş. *Zonguldak ili atmosferinin polen ve spor analizi (2003-2004) (tez)*. Zonguldak: Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, 2004.
6. İnceoğlu Ö, Pınar NM, Şakıyan N, Sorkun K. Airborne pollen concentration in Ankara, Turkey 1990-1993. *Grana* 1994;33:158-61.
7. Ayvaz A, Baki A, Doğan C. Trabzon atmosferindeki aeroallerjenlerin mevsimsel dağılımı. *Asthma Allergy Immunol* 2008;6:11-6.
8. Sin BA, Pınar M, Mısırlıgil Z, Çeter T, Yıldız A, Alan Ş. *Polen allerjisi. Türkiye Alerjik Bitkilerine Genel Bir Bakış*. 1. Baskı. Ankara: Engin Yayınevi, 2007.
9. Movére R, Westritschnig K, Svensson M, et al. Different IgE reactivity profiles in birch pollen-sensitive patients from six european populations revealed by recombinant allergens: an imprint of local sensitization. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;128:325-35.
10. Schimek EM, Bettina Z, Briza P, et al. Gastrointestinal digestion of Bet v 1-homologous food allergens destroys their mediator-releasing, but not T cell-activating, capacity. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:1327-33.
11. Mittag D, Akkerdaas J, Barbara K, et al. Ara h 8, a Bet v 1-homologous allergen from peanut, is a major allergen in patients with combined birch pollen and peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1410-7.