

TC  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK ALERJİ BİLİM DALI

**ANTEP FISTIĞI DUYARLILIĞI OLAN ÇOCUKLARDA  
ALERJİYİ ÖNGÖRECEK PARAMETRELERİN  
BELİRLENMESİ**

**Uzm. Dr. Pınar GÜR ÇETİNKAYA**

**ÇOCUK ALERJİ YANDAL**

**UZMANLIK TEZİ**

**Olarak hazırlanmıştır**

**ANKARA**

**2018**

TC  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK ALERJİ BİLİM DALI

**ANTEP FISTIĞI DUYARLILIĞI OLAN ÇOCUKLARDA  
ALERJİYİ ÖNGÖRECEK PARAMETRELERİN  
BELİRLENMESİ**

**Uzm. Dr. Pınar GÜR ÇETİNKAYA**

**ÇOCUK ALERJİ YANDAL**

**UZMANLIK TEZİ**

**Olarak hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Bülent Enis ŞEKEREL**

**ANKARA**

**2018**

## TEŞEKKÜR

Çalışmanın başlatılması ve yürütülmesinde büyük desteği olan tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Bülent Enis Şekerel'e, çalışmanın Western Blot kısmını yürüten, hiçbir desteği bizlerden esirgemeyerek bu zorlu ve oldukça emek isteyen süreçte her zaman bizlere çok yardımcı olup karşılığın çıkaran sorun ve zorlukları azim, kararlılık ve sabırla aşmış özveriyle çalışan Biyolog Dilara Karagöz ve değerli hocamız Doç. Dr. Çağatay Karaaslan'a; yan dal eğitimim boyunca çok şey öğrendiğim saygı değer Çocuk Alerji Bilim Dalı hocalarımız; Doç. Dr. Özge Uysal Soyer, Doç. Dr. Ümit Murat Şahiner, Doç. Dr. Betül Büyüktiryaki'ye; bu projenin gerçekleşmesini sağlamak, gerekli tüm maddi destek ve olanağı sunan Hacettepe Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi'ne, ve hayatımın her döneminde daima yanımda olan sevgili annem, babam, kardeşime ve biricik eşime en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Pınar Gür Çetinkaya**

### **Antep Fıstığı Duyarlılığı Olan Çocuklarda Alerjiyi Öngörececek Parametrelerin Belirlenmesi**

**Çocuk Alerji Yandal Uzmanlık Tezi, Ankara 2018**

Botanik olarak aynı familyaya ait olan antep fıstığı ve kaju ciddi alerjik reaksiyonlara neden olan kuruyemişlerdir. Bu çalışmada çocuklarda antep fıstığı ve kaju alerjisinin özellikleri ve alerjiyi öngörebilecek belirteçlerini bulmayı amaçladık. Bu amaçla, hem antep fıstığı hem de kaju için SPT, sIgE ve sIgE / Total IgE cutoff değerlerini belirledik ve olasılık eğrileri oluşturduk. Atopik dermatit, astım, alerjik rinit, besin alerjisi ve ailede atopi gibi durumlar sorgulandı. Tüm hastalara antep fıstığı, kaju, diğer kuruyemişler, kabak çekirdeği, ayçekirdeği, mango, limon ve portakal çekirdeği, polen ile DPT uygulandı. Ayrıca, alerjiden sorumlu protein bantların tanımlanması için 11 hastanın serumları ayrılarak Western Blot yöntemiyle çalışıldı.

Tüm laboratuvar ve klinik parametreler arasında, sadece DPT boyutu, pozitif antep fıstığı ve kaju OPT için risk faktörü olarak belirlenmiştir. Ek olarak, hem antep fıstığı hem de kaju DPT için eğri altındaki alan (AUC), sIgE ve sIgE / Total IgE seviyelerinden daha yüksekti. Antep fıstığı için belirlenen kesim değerleri 7.25 mm (DPT), 4.14 kU / L (sIgE) ve % 1.32 (sIgE/Total IgE) idi. Kaju DPT için belirlenen optimum kesim değeri 6.25 mm, sIgE değeri 1.125 kU / L ve sIgE / Total IgE için % 3.30 idi. Reaktiviteyi öngörebilecek antep fıstığı ve kaju protein bantları içinde duyarlı ve alerjik hastaları güçlü ve net bir şekilde ayırt edebilecek bir bant bulunamadı.

Sonuç olarak, antep fıstığı ve kaju için DPT, OPT pozitifliğinin en iyi göstergesidir. Ayrıca, sIgE / Total IgE oranının sadece sIgE değerinden daha güçlü ve daha doğru bir belirteç olduğunu belirledik.

**Anahtar Kelimeler:** Antep fıstığı alerjisi, kaju alerjisi, öngörebilecek faktörler, olasılık eğrileri, kesim değerleri

## ABSTRACT

**Pınar Gür Çetinkaya**

### **Antep Fıstığı Duyarlılığı Olan Çocuklarda Alerjiyi Öngörececek Parametrelerin Belirlenmesi**

**Çocuk Alerji Yandal Uzmanlık Tezi, Ankara 2018**

Pistachio and cashew nut belonging to the botanically same family are the tree nuts that induce serious allergic reactions. We aimed to determine the characteristics and the predictors of pistachio and cashew nut allergy in children. For this purpose, we determined SPT, sIgE, and sIgE / Total IgE cutoff values for both pistachio and cashew nut, and created probability curves.

Concomitant allergic disorders such as atopic dermatitis, asthma, allergic rhinitis, food allergy, and family atopy were asked. All patients were performed SPT with pistachio, cashew nut, other tree nuts, pumpkin seed, sunflower seed, mango, lemon seed, orange seed, and pollens. Serum of 11 children were collected for the determination of pistachio or cashew nut allergenic protein bands.

Among all laboratory and clinical parameters, only SPT wheal size was determined as risk factor for positive pistachio and cashew nut challenge. Area under curve (AUC) both for pistachio and cashew nut SPT was higher than sIgE and sIgE/Total IgE levels. Cutoff values for pistachio SPT, sIgE, and sIgE/Total IgE predicting reactivity were 7.25 mm, 4.14 kU/L, and 1.32%, respectively. Determined optimal cutoff value for cashew nut SPT was 6.25 mm, for sIgE was 1.125 kU/L, and for sIgE/Total IgE was 3.30%. Allergen protein bands for pistachio and cashew nut were not identified to make a clear-cut discrimination between allergic and only sensitized individuals.

In conclusion, SPT both for pistachio and cashew nut was the best predictor for OFC positivity. Furthermore, sIgE/Total IgE ratio was stronger and more accurate marker than only sIgE value.

**Key Words:** Pistachio allergy, Cashew nut allergy, Predictive Factors, Probability Curves, Cut-off Values

**İÇİNDEKİLER**

<b>Sayfa</b>	
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>vi</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b>	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER</b>	<b>viii</b>
<b>TABLolar</b>	<b>ix</b>
<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b>	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b>	<b>2</b>
<b>HASTALAR VE YÖNTEM</b>	<b>13</b>
<b>BULGULAR</b>	<b>20</b>
<b>TARTIŞMA</b>	<b>40</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>46</b>

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

AD	Atopik dermatit
AF	Antep fıstığı
AUC	Eğri altındaki alan (Area Under Curve)
Bet V1	Betula (Huş ağacı) alerjisi
CI	Confidential Interval (Güven Aralığı)
DPT	Deri Prik Testi
IgE	İmmünglobulin E
LTP	Lipid Transfer Protein
NPD	Negatif Prediktif (Kestirim) Değer
OAS	Oral alerji sendromu
OPT	Oral Provokasyon Testi
PPD	Pozitif Prediktif (Kestirim) Değer
ROC	Receiver operating characteristics
sIgE	Spesifik Immünglobulin E

## ŞEKİLLER VE TABLOLAR

### ŞEKİLLER

#### Şekil

1. Besinlerdeki alerjiye neden olan tanımlanmış proteinler

2a. Antep Fıstığı alerjisi açısından çalışma popülasyonunun özeti (AF; Antep Fıstığı, DPT; deri prik testi, sIgE; spesifik IgE, OPT; oral provokasyon testi)

2b. Kaju alerjisi açısından çalışma popülasyonunun özeti (DPT; deri prik testi, sIgE; spesifik IgE, OPT; oral provokasyon testi)

3a. Kazara tüketim sonrasında hikayede alerjisi olanlarda etkilenen sistemlerin oranları

3b. Son 12 ayda kazara tüketim sonrası anafilaksisi olan ve OPT pozitifliği olan hastalarda etkilenen sistemlerin oranları (D; Deri, GIS; Gastrointestinal sistem, USY; Üst solunum yolu, ASY; Alt solunum yolu, KVS; kardiyovasküler sistem, KK; konjunktival kızarıklık, NS; nörolojik sistem)

4a. Antep fıstığı ve kaju için indeks reaksiyonun Müller sınıflaması (yüzde olarak)

4b. Antep fıstığı ve kaju için OPT sırasındaki reaksiyon ve son 12 ayda kazara tüketim sonrasında görülen reaksiyonun Müller sınıflaması (yüzde olarak)

5a. Hikayede daha önce Antep Fıstığı tüketenlerin prognozu

5b. Hikayede daha önce Kaju tüketenlerin prognozu

6a. Antep Fıstığı ve Kaju DPT çaplarının korelasyonu,

6b. Antep Fıstığı ve Kaju spesifik IgE düzeylerinin korelasyonu

7. Antep Fıstığı ve Kaju duyarlı hastaların diğer kuruyemişler, mango, limon ve portakal çekirdekleriyle olan sensitizasyonu (Siyah çubuk, antep fıstığı duyarlı hastaları; gri çubuk ise kaju duyarlı olanları temsil eder)

8a. Antep fıstığı için ROC eğrisi

8b. Kaju için ROC eğrisi

9a. Antep fıstığı DPT değerlerinde klinik reaktivite için olasılık eğrisi

9b. Antep fıstığı sIgE değerlerinde klinik reaktivite için olasılık eğrisi

9c. Antep fıstığı sIgE/Total IgE oranlarında klinik reaktivite için olasılık eğrisi

9d. Kaju DPT değerlerinde klinik reaktivite için olasılık eğrisi

9e. Kaju sIgE değerlerinde klinik reaktivite için olasılık eğrisi

9f. Kaju sIgE/Total IgE oranlarında klinik reaktivite için olasılık eğrisi

10a. Antep Fıstığı için karar ağacı

10b. Kaju için karar ağacı

11. Hastalardaki antep fıstığı ve kaju alerjen protein bantları

## TABLULAR

### Tablo

1. Kuruyemişlerdeki alerjen protein bantları
2. Antep fıstığı ve kajunun içindeki şimdiye kadar tanımlanmış olan alerjen protein bantları
3. Çalışma grubunun laboratuvar ve klinik parametreleri

4a. Antep fıstığı ile reaktiviteyi öngörecek faktörler (OPT veya son 12 ay içerisindeki

kazara maruziyet sonrasında anafilaksi)

4b. Kaju ile reaktiviteyi öngörecek faktörler (OPT veya son 12 ay içerisindeki kazara

maruziyet sonrasında anafilaksi)

5. Klinik reaktiviteyi öngörebilecek Antep Fıstığı DPT, spesifik IgE ve sIgE/Total IgE oranları için farklı kesim değerleri

- a) Antep Fıstığı DPT için kesim değerleri
- b) Antep Fıstığı sIgE için kesim değerleri
- c) Antep Fıstığı sIgE/Total IgE oranı için kesim değerleri

6. Klinik reaktiviteyi öngörebilecek Kaju DPT, spesifik IgE ve sIgE/Total IgE oranları için farklı kesim değerleri

- a) Kaju DPT için kesim değerleri
- b) Kaju sIgE için kesim değerleri
- c) Kaju sIgE/Total IgE oranı için kesim değerleri

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kuruyemiş alerjisi olan çocuklarda doğal seyir, prognoz ve klinik şiddeti etkileyen faktörler ve kuruyemişler arasındaki çapraz reaksiyonlar isimli çalışma için antep fıstığı deri testi ve/veya spesifik IgE'si pozitif gelen 0-18 yaş arası 112 hasta projeye dahil edildi. Bu hastaların bir kısmı antep fıstığı ve/veya kaju ile karşılaşmış ve alerjik reaksiyon hikayesi bulunmakta, bir kısmı ise hiç karşılaşmamıştı. Bu hastaların çoğunda ise en az bir kuruyemişle daha alerji hikayesi veya sorumlu kuruyemişle deri prik testi ve/veya spesifik IgE pozitifliği vardı.

Çalışma grubundaki 112 hasta içerisinde antep fıstığı ve/veya kaju deri prik testi ve antep fıstığı spesifik IgE'si pozitif olan, antep fıstığı provokasyon olan ve olmayan 11 hasta ileri testler için seçildi. Bu hastaların serumları ayrıştırılarak serumdaki antep fıstığına karşı gelişmiş olan antikorların hangi alerjenik proteine karşı olduğu Western blot tekniğiyle belirlenmesi planlandı.

Özetle bu çalışmada; 0–18 yaş arası antep fıstığı sensitizasyonu olan çocuklarda anafilaksi ve oral provokasyon test pozitifliği riskini belirleyecek klinik ve laboratuvar parametrelerin belirlenmesi, alerjiden sorumlu protein bantlarının tespiti, antep fıstığı alerjisi olan çocuklarda kaju antijeni ile çapraz reaksiyonların ortaya konması, en fazla ve en az hangi gruplar arasında çapraz etkileşim olduğunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Besin Alerjisi, epidemiyolojisi ve patofizyolojisi

Besin alerjisi, akut, ölümcül olabilen, kronik, başlıca deri, gastrointestinal ve solunum sistemini tutan, besinlere karşı olan immünolojik hipersensitivite yanıtıdır <sup>1</sup>. Besin alerjisinin prevalansı gün geçtikçe artmaktadır <sup>2</sup>. Batı ülkelerinde okul öncesi çocuklarda prevalans %5-10, Çin'de ve Kore'de %7 olarak tespit edilmiştir <sup>3</sup>. Bu oranın 12 aylık süt çocuklarında en yüksek (>%10) olduğu görülmüştür <sup>4</sup>. Alerjiden en sık sorumlu besinlerin süt, yumurta, yer fıstığı, soya, buğday, kuruyemişler, balık ve deniz kabukluları olduğu bilinmektedir <sup>5</sup>.

Besin alerjisinin patofizyolojisinde, küçük çocuk ve süt çocuklarının immün sisteminin ve gastrointestinal sistemin immatür olması nedeniyle işlenmemiş, alerjenitesi kaybolmamış besinlerin gastrointestinal sistemden geçerek immün sistemi uyarmasının sorumlu olduğu kabul edilmektedir <sup>6</sup>. Bununla beraber immün sistem de immatür olduğundan sekretuar IgA az, besinlere verilen T hücre cevabı fazladır <sup>6</sup>. Besinlerle yeni karşılaşan süt çocuğu bu besinlere yanıt olarak IgE üretimini artırmaktadır <sup>7</sup>. Erişkinde ise bu durum farklıdır ve immün sistem, gastrointesinal mukoza olgun olduğundan; öncelikle besinler iyice işlenip alerjenitesini kaybeder sadece besin antijenlerinin %2'si dolaşıma katılır ve immün sistem de olgun olduğundan bağışıklık sistem immün yanıt oluşuma engel olur <sup>5,8</sup>. Bu duruma oral tolerans da katkı sağlar. Oral tolerans, alınan gıdanın T regülatuar hücreleri uyararak immün toleransı indüklemesidir <sup>5</sup>. İmmün toleransa intestinal mukozadaki dendritik hücrelerden eksprese edilen IL-4 ve IL-10 ile T regülatuar hücrelerden eksprese edilen TGF- $\beta$  da katkı sağlar <sup>9</sup>. Regülatuar mekanizmalar çalışmazsa immün yanıt oluşur ve besin alerjileri görülür <sup>5</sup>.

Başlangıçta besinle sensitizasyonun intestinal mukoza, deri <sup>10</sup> ve hatta solunum yoluyla <sup>11</sup> olduğu kabul edilmektedir. Alerjenlerin tetiklediği immün mekanizmalar sonrasında da besin alerjileri Tip I <sup>12</sup>, Tip IV <sup>13</sup> ve miks tip <sup>14</sup> olarak karşımıza çıkmaktadır. Tip I'de T hücre ve eozinofil aracılı IgE üretimi söz konusudur. Üretilen IgE'ler mast hücre ve bazofillerin yüzeyindeki Fc $\epsilon$ RI'e bağlanırlar <sup>12,15</sup>. Aynı alerjenle ikinci kez karşılaştıklarında ise mast hücrelerde histamin, lökotrien, triptaz ve IL-4 gibi inflamatuvar sitokinlerin ve mediyatörlerin deşarjı oluşur <sup>12,15</sup>. Böylece

kısa süre içerisinde alerjik reaksiyonlar ortaya çıkar, buna ‘erken alerjik reaksiyon’ denilmektedir <sup>15</sup>. Bununla beraber gecikmiş faz alerjik reaksiyonlar da görülür <sup>16</sup>. Burada besinin temas ettiği yüzeylerde birkaç saat içerisinde eozinofil ve bazofil aracılı kutanöz veya mukozal yanıt (örneğin blister oluşumu gibi) oluşur <sup>17</sup>. Buna alerjik proktokolit ve besin protein ilişkili enterokolit sendromunu örnek verebiliriz <sup>14</sup>. Buradaki mekanizma biraz daha kompleks olup eozinofillerin sadece inflamasyonu tetiklemeyip Th2 yanıtını başlatmak üzere dendritik hücreleri de kontrol ettiği gösterilmiştir <sup>18</sup>. Tip IV alerjik cevap, alerjenle karşılaştıktan 24-48 saat sonra ortaya çıkar ve T hücre aracılıdır <sup>19</sup>. Miks tipten ise hem IgE aracılı hem de T hücre aracılı mekanizmalar sorumludur; örnek olarak eozinofilik özefajit/gastroenterit ve atopik dermatit verilebilir <sup>14</sup>.

Besin alerjisi tanısı konulmasında en önemli basamak iyi bir öykü almaktır <sup>14</sup>. Tanıyı desteklemek için besine spesifik IgE ve sorumlu ajanla deri prik testi yapılabilir <sup>14</sup>. Eğer ciddi anafilaksi tarifliyorsa sorumlu gıdanın eliminasyonu önerilmektedir <sup>14</sup>. Oral provokasyon testleri ise yine tanı koymak ve sorumlu besine karşı tolerans gelişimini tespit etmek için kullanılırlar. Tek kör veya çift kör plasebo kontrollü olarak yapılabilir <sup>14</sup>. Eğer hikayede şüphe varsa, geçirilen reaksiyonun üzerinden uzun süre geçmiş veya hikaye müphem ise oral provokasyon testleri besin alerjisi tanısı koymak için oldukça yararlı testlerdir <sup>14</sup>. Çift kör plasebo kontrollü oral provokasyon testleri besin alerjisi tanısı koymak için kullanılan altın standart testtir <sup>14</sup>.

Besin alerjisinde görülen belirtiler sıklıkla deri bulguları (ürtiker, anjiyoödem, flushing, kaşıntı, oral alerji sendromu), respiratuvar sistem (laryngeal ödem, öksürük, ses kısıklığı, astım atağı), gastrointestinal sistem bulguları (ishal, bulantı/kusma, karın ağrısı) ve daha az sıklıkla ise kardiyovasküler sistem (taşikardi, hipotansiyon, anafilaktik şok, aritmi) ve nörolojik bulgular (nöbet, anksiyete, bilinç kaybı, konfüzyon) görülmektedir <sup>17</sup>.

Kuruyemişler ise ciddi anafilaktik reaksiyonlara yol açan besinler olup kuruyemiş alerjisi Amerika’daki çocukların yaklaşık %1’ini etkiler <sup>20</sup> ve etkilenen çocuk sayısı son 10 yılda 3 kat kadar artmıştır <sup>20</sup>. Kuruyemiş alerjilerinin diğer besin alerjilerinden en büyük farkı çok az miktarlarının bile ciddi, ölümcül alerjik reaksiyonlara neden olmasıdır <sup>21</sup>. 1992 ve 2002 yılları arasında İngiltere’de kuruyemiş anafilaksisi (yer fıstığı ve ağaç yemişleri) nedeniyle hayatını kaybeden 69 kişi

raporlanmıştır <sup>22</sup>. Bu oran ABD’de İngiltere’ye kıyasla 2 kat kadar daha fazladır <sup>23</sup>. Çoğu hastada kuruyemiş alerjisinin geçmeyip erişkin dönemde de devam ettiği bilinmektedir <sup>24</sup>. Kuruyemiş alerjisi olan hastaların %9 <sup>25</sup> ile %14.3’ünde <sup>20</sup> zamanla tolerans geliştiği gösterilmiştir. Herhangi bir kuruyemişe alerjisi geliştiği tespit edilen hastaların %30 kadarında en az bir kuruyemişe daha alerji olabileceği görülmüştür <sup>26</sup>.

## 2.2. Besinlerdeki alerjen proteinler ve çapraz reaksiyon

Kuruyemişler içerisinde ağaçta yetişen ceviz, fındık, badem, kaju, antep fıstığı, pekan cevizi, makademya, brezilya fıstığı, çam fıstığı ile bir ‘‘ağaç yemişi’’ olmayan aslında bakliyat olan ancak kuruyemişler içerisinde sayılan yer fıstığı bulunmaktadır <sup>27</sup>. Bunlar dışında Türk kültüründe tüketilen ay çekirdeği ve kabak çekirdeği aslında tohum çekirdekleri olup Türk toplumu arasında kuruyemiş olarak kabul görmektedir. Yer fıstığı, farklı botanik aileden olmasına rağmen diğer kuruyemişlere benzer şekilde klinik bulgulara neden olur, her iki grup da ciddi alerjiye yol açar <sup>27</sup> ve aralarında çapraz reaksiyon görülür <sup>28</sup>.

Besinlerdeki alerjenler non spesifik Lipid Transfer Protein (nsLTP), depo proteinler (2S albumin, 7S ve 11S globulin), PR-10 protein (Patogenez related family protein 10), profilin ve CCD (Cross-reaktif carbohydrate determinant) şeklinde ayrılmaktadır <sup>29-33</sup>. nsLTP’ler ısıya ve sindirilmeye dayanıklıdırlar <sup>29</sup>. Bu proteinlere karşı antikora sahip kişilerde sistemik ve ağır reaksiyonlar görülür <sup>29</sup>. PR-10 proteini Bet VI=Betula (Huş ağacı) alerjeni ile homolog olup <sup>30</sup> ısı ile alerjen özelliğini kaybeder ve sıklıkla oral alerji sendromuna (OAS) neden olur <sup>31</sup>. Profilin; aktin bağlayıcı protein ve minör alerjendir <sup>32</sup>, nadiren klinik semptoma neden olur <sup>32</sup>. CCD’ye karşı IgE tipi antikorlar; daha çok polen ve hymenoptera alerjisi olan hastalarda saptanırlar ve çapraz reaksiyonlara neden olabilir <sup>33</sup>.

Bugüne kadar tanımlanan majör kuruyemiş alerjenleri visillin (50-kD subunitden oluşan 7S trimerik globülin), legümin (30-40 kDa ve 17-20 kDa 11-13S heksamerik globülin) ve 2S albümin (9 ve 5 kDa’da 2 subunitten oluşan 15kDa’daki protein) <sup>34</sup>. Visillin ve legümin cupin süperailisine ait olup <sup>35</sup>, 2S albümin ise prolamin süperailisine aittir <sup>36</sup> ve yapısal olarak lipid transfer proteinleriyle (LTP) ilişkilidir <sup>37</sup>.

Kuruyemişlerdeki minör alerjenler ise LTP, profilinler ve Betv-1 ile ilişkili diğer proteinlerdir <sup>1</sup>. LTP, bitkilerdeki membranlar arasında lipid transferi ve bitkinin su kaybetmesine engelleyen bir madde olan kütin sentezinden sorumludur <sup>38</sup>. Diğer

kuruyemiş alerjenleri ise hevein ilişkili protein (kauçuk ağacında bulunan lektin benzeri protein) ve profillin<sup>39 40</sup>. Profillin, hevein ilişkili protein, Bet v1 benzeri proteinler ve LTP'lere birçok bitkide bulunup alerjik reaksiyonlara yol açtıkları için panalerjenler denilir<sup>34, 41</sup> (Şekil 1).

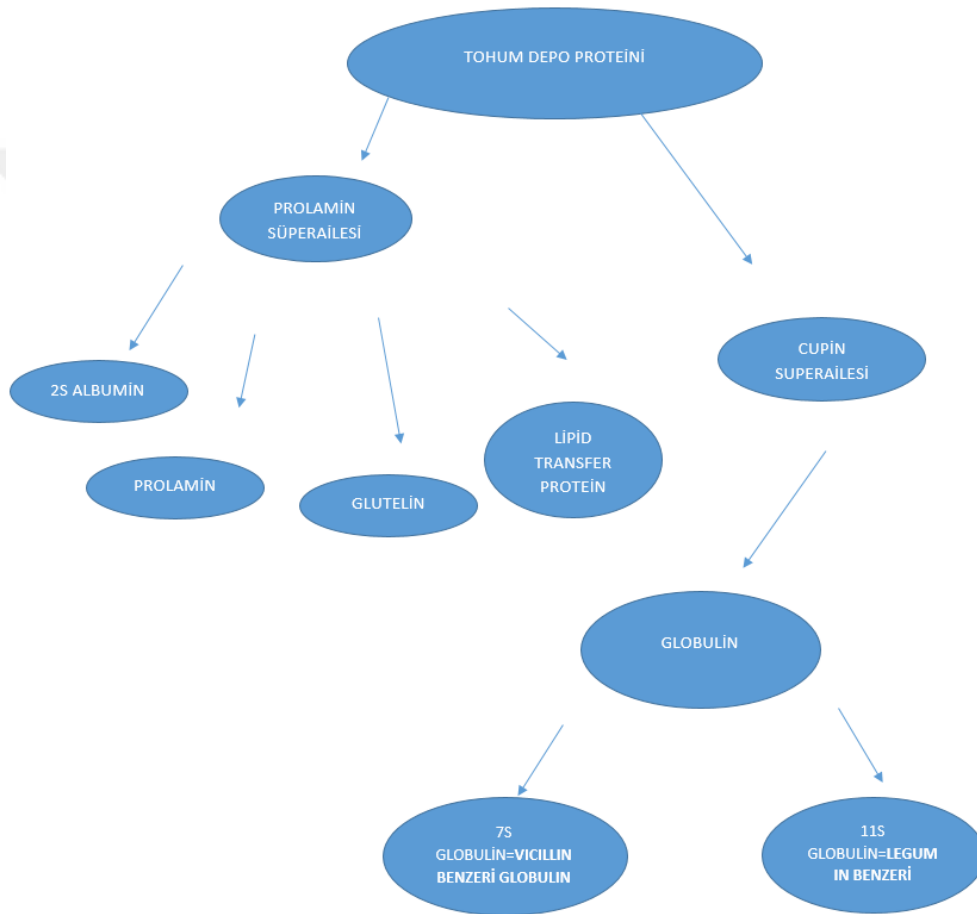
LTP'ler, sisteinden zengin bağlar içeren ve bu sayede de ısıya ve enzimle sindirime dayanıklı antijenler olması nedeniyle ciddi alerjik reaksiyonlardan sorumlu olduğu düşünülmekte olup<sup>29</sup> daha çok meyve ve tahıllarda tanımlanmıştır<sup>42</sup>. Bu proteinler dışında LTP kuruyemişlerden fındık (Cor a 8), badem (Pro du 3), ceviz (Jug r 3) ve yer fıstığında (Ara h 9) da gösterilmiştir<sup>43</sup>. LTP'ler Akdeniz bölgesinde *Rosaceae* ailesinden gelen meyvelerde (özellikle elma), bazı sebze ve kuruyemişlerde majör alerjen proteindir<sup>43</sup>. Bitkide bulunan LTP miktarı bitki türü ve bitkinin olgunluk durumuna göre değişmektedir<sup>44</sup>. Alerjik reaksiyona neden olan eşik LTP miktarı bilinmemektedir<sup>43</sup>. Yine *Rosacea* ailesinde yer alan meyvelerin (erik, kayısı, şeftali, elma ve kiraz) huş ağacının yoğun bulunduğu kuzey Avrupa ülkelerinde huş ağacının majör alerjeni olan Betv1 ile çapraz reaksiyon verdiği gösterilmiştir<sup>45</sup>.

2S albümin majör depo proteinlerden olup asidik ortama, enzimle sindirilmeye ve ısıya dirençli alerjendir<sup>46</sup>. 2S albümin, yapısal olarak LTP'lere benzemektedirler<sup>1</sup>. Ayrıca tripsin ve kimotripsin ile minimal bir proteoliz olsa da antijenik özelliğini büyük ölçüde korur<sup>46</sup>. Yine 2S albümin içeren besinler arasında çapraz reaksiyon olması için yapısal homolojiden ziyade IgE'ye bağlanan hiperdeğişken (hipervariable) kısımlar benzerlik göstermeli ve bu benzerliğin ise en az %70 olması gerekmektedir<sup>46</sup>. Kuruyemişlerden kaju (Ana o3)<sup>47</sup>, pekan cevizi (Car i1)<sup>48</sup>, ceviz (Jug n1 black wallnut antijeni, Jug r1 English Wall nut antijeni)<sup>34, 49</sup>, badem (Pr udu 2S)<sup>50</sup>, yer fıstığı (Ara h2, 6, 7)<sup>51, 52</sup>, antep fıstığında (Pis v1)<sup>53</sup> 2S albümin gösterilmiştir.

Vicillin proteini, kuruyemişlerden ceviz (Jug r2)<sup>54</sup>, fındık (Cor 11a)<sup>55</sup>, kaju (Ana o1)<sup>56</sup> ve yer fıstığı (Ara h1)<sup>57</sup>; profillin ise badem (Pru du4)<sup>58</sup> ve fındıkta (Cor a2)<sup>59</sup> tespit edilmiştir. Kuruyemişler arasındaki bu benzer epitoplar, besinler arasında çapraz reaksiyon görülmesine neden olmaktadır<sup>60</sup>.

Diğer majör alerjenlerden biri de yer fıstığında bulunan Ara h3 ve Ara h4 legumin ailesine aittir<sup>61</sup>. Bu aileye ait antijeni bulunan diğer kuruyemişler ise fındık (Cor a9)<sup>62</sup>, Ber e2<sup>63</sup>, Jug r4<sup>49</sup> ve Ana o2<sup>64</sup> dir.

Kuruyemişlerdeki proteinlerin önemli bir kısmı tohum gelişimi sırasında oluşmaktadır<sup>34</sup>. Bu proteinlerin çoğunluğu vicillin, legumin ve 2S albümin ailesine aittir<sup>34</sup>. Tohum proteinleri prolamin (alkolde çözünen); albümin (suda çözünen); globülin (tuzlu suda çözünen); ve gluteindir (asit ve alkali ortamda çözünen). Globulin sedimentasyon koefficient'a göre 11S (legumin) ve 7S (vicillin) olarak ayrılır. Manganaz süperoksit dismutaz ise kuruyemişlerden sadece antep fıstığında bulunmaktadır<sup>65</sup> (Tablo 1).



**Şekil 1.** Besinlerdeki alerjiye neden olan tanımlanmış proteinler

**Tablo 1.** Kuruyemişlerdeki alerjen protein bantları

CEVİZ	FINDIK	BADEM	ANTEP FISTIĞI	KAJU	YER FISTIĞI	PEKAN	BREZİLYA FINDIĞI
Jug r1 (14-16 kDa) (2S albümin)	Cor a1 (18 kDa)	Pru du 1 2S albumin	Pis v1 (2S) albümin) (7 kDa)	Ana o1 (7S) vicillin like protein) (50 kDa)	Ara h1 (63,5-65 kDa) (visillin tohum proteini)	Car i 1 (2S) albümin)	Ber e1 (9 kDa) (2S) albümin)
Jug r2 (44-48 kDa) (7S vicillin globulin)	Cor a2 (14 kDa) profillin	Pru du 2 conglutin	Pis v2 (11S) globülin) (32 kDa)	Ana o2 (33 kDa; majör antijen) (1S globülin, legumin like protein) (55 kDa; minör antijen)	Ara h2 (17,5 kDa) (konglutin benzeri protein)		Ber e2 (11S) globülin)
Jug r3 (9 kDa) (LTP)	Cor a8 (9,4 kDa) (LTP)	Pru du 3 LTP	Pis v3 (7S) globülin vicillin like protein) (55 kDa)	Ana o3 (2S) albümin) (12,6 kDa) (14 kDa)	Ara h3 (11 S) globülin, glisinin benzeri protein)		
Jug r4 (Legumin benzeri protein)	Cor a9 (35-40 kDa) (11S) globülin like protein)	Pru du Amandin (11S legumin like protein)	Pis v4 (manganaz superoksid dismutaz) (25,7 kDa)	Ana o profillin	Ara h4 (glisinin tohum proteini)		
Jug r profillin	Cor a11 (48 kDa) (7S vicillin-like protein)	Pru du 4 (profillin)	PİS V5 (11S Globulin) (36 kDa)		Ara h5 (15 kDa) (profillin)		
	Cor a12 (17 kDa) (Oleosin)	Pru du (an acid ribosomal protein P2)			Ara h6 (2S) albümin)		
	Cor a13 (14-16 kDa) (Oleosin)				Ara h7 (2S) albümin)		
	Cor a14 (13-14 kDa) (2S albümin)				Ara h8 (16,9 kDa)		
	Cor a Thaumatin, Thaumatin benzeri protein (LTP)				Ara h9 (LTP)		
	Cor a ısı şok proteini				Ara h Oleosin (18 kDa)		
					Ara h Aglutinin		

“*Anacardiaceae*” ailesine ait olan diğerk bir bitki de mangodur <sup>66</sup>, antep fıstığı ve kaju ile çapraz reaksiyon vermektedir. Mango alerjisinin görölme insidansı tam olarak bilinmemektedir. Mangonun alerjik reaksiyona neden olan kısmının meyve kısmından ziyade (pulp) çekirdek ve çekirdeğey yakın kısmının olduğu gösterilmiştir <sup>66</sup>. Bunun yanında literatürde kaju ve antep fıstığı olan bir hastanın pektin içerikli bir içeceği tüketmesini takiben alerjik reaksiyon geçirdiğı, pektinle deri testinin pozitif geldiğı bildirilmiş <sup>67</sup>. Rutaceae ailesine ait narenciye (citrus) sınıfından bir bitki olan *Pericarpium Zanthoxyli* adlı bir bitki ile anafilaksi tarifleyen 15 hastanın 13’ünde kaju, 12’side antep fıstığı, 8’inde de portakal veya kumquat da denilen “altın portakal” meyvesine alerjisi olduğu görölmüş <sup>68</sup>. *Pericarpium Zanthoxyli*, antep fıstığı ve kaju arasındaki çapraz reaksiyon ImmunoCAP RAST inhibisyon ile çalışılmış. RAST inhibisyonda, *Pericarpium Zanthoxyli*’nin %35,4-82,5 oranında kaju, %41,8-85,9 oranında antep fıstığı ve %97,9-97,8 oranında portakalla çapraz reaksiyon verdiğı gösterilmiş <sup>68</sup>.

Tüm bu ortak antijenler besinler arasında çapraz reaksiyon oluşumuna neden olmaktadır. Kuruyemişlerde bulunan antijenlerin de benzer protein ailesine ait olması kuruyemişler arasında değışen oranlarda çapraz alerjik reaksiyonlar gözlemlenmesine yol açar. Herhangi bir kuruyemişey alerjisi olan bir kişı diğerk kuruyemişlerle de en az %30 oranında alerjisi vardır <sup>1</sup>.

Dünya üretiminde üst sıralarda yer aldığımız ve kültürel olarak da sıkça tükettiğimiz antep fıstığı, son yıllarda tüketimi Türkiye’de gittikçe artan kaju ile aynı aile olan “*Anacardiaceae*” ailesinden olup yüksek oranda (%98’e varan)<sup>69</sup> çapraz reaksiyon vermektedir <sup>1, 66, 69</sup>. Antep fıstığı 12 <sup>70</sup> farklı türü içeren “*Pistacia*” <sup>71</sup> alt sınıfına ait olup bazı türleri sıcak ve kurak, bazıları yarı kurak iklimlerden hoşlanır <sup>70</sup>. Bu da antep fıstığı alerjisinin tüketilen antep fıstığının türüne göre de değışmekte olduğunu, bazı kişilerde belli bölgelerde yetişen antep fıstığı türü tüketildiğinde alerji gelişirken bazı bölge türlerinin tüketimi sonrasında reaksiyon gelişmeyebileceğini de akla getirebilir.

Antep fıstığı alerjisi, beklenildiğı üzere üretim ve tüketimi fazla olan Türkiye ve İran gibi ölkelerde daha fazla ve ciddi reaksiyonlar şeklinde görölmekte olup <sup>72</sup>, dünyada ise kuruyemiş alerjilerinin yaklaşık %7’sini oluşturmaktadır <sup>73</sup>. Dünyanın en büyük antep fıstığı üreticisi İran (%48,4) olup bunu sırasıyla ABD

(%27,2), Türkiye (%9,3) ve Çin (%9) takip etmektedir <sup>70</sup>. 2015 yılında dünyanın en fazla antep fıstığı tüketen ülkesi ise 126.550 ton antep fıstığı tüketimi ile Türkiye olmuştur <sup>70</sup>. Bu nedenle de antep fıstığı alerjisi diğer dünya ülkelerine kıyasla ülkemizdeki kuruyemiş alerjileri açısından önemli bir yer tutmaktadır.

Antep fıstığı alerjisi ile ilgili yapılan çarpıcı çalışmalardan birinde <sup>74</sup>, antep fıstığı alerjisinde oldukça önemli olan etnik farklılık da ortaya konulmuştur. Bu çalışmada Güney Asya ve Avrupa kökenli 2638 besin alerjisi olan çocuk hastanın deri prik testleri karşılaştırıldığında görülmüş ki Asya kökenli çocuklar %25,7 oranında antep fıstığına sensitizasyon gösterirken bu oran Avrupalı çocuklarda sadece %6,9 imiş. Ayrıca Asyalı çocuklar Avrupalılara göre 3.7 kat kadar daha fazla antep fıstığı alerjikmiş <sup>74</sup>. Bu sonuçlar antep fıstığı alerjisinin Asya'da daha fazla tüketilmesinden kaynaklı olarak birçok kuruyemişe göre ne kadar kültürel farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu oranlar ülkelere göre farklılıklar göstermektedir. Güney Kore'de antep fıstığı alerjisi %0,8 <sup>75</sup>, ülkemizde Kaya ve arkadaşları <sup>76</sup> tarafından 735 okulda 11-15 yaş arası 11.500 çocukla yapılan anket sonucuna göre kuruyemiş alerjisi olduğu saptanan 107 çocuğa yapılan deri testi, spesifik IgE ve oral provokasyon testleri sonucunda antep fıstığı alerjisinin %6,7 çocuk hastada olduğu gözlemlenmiştir. ABD'de 2010 yılında Sicherer ve ark <sup>77</sup> ise kuruyemiş alerjileri içerisinde antep fıstığı alerjisinin %9,8 oranında gözlemlendiğini göstermişlerdir. Bu farklılıklar o ülkedeki antep fıstığı tüketme oranları <sup>72</sup>, ırk <sup>74</sup> ve hatta tüketilen antep fıstığının cinsine göre farklılık gösteriyor olabilir.

Antep fıstığı, kaju ile aynı aileden olduğundan aralarında %98 gibi en yüksek çapraz reaksiyonu verirler <sup>78</sup>, ancak gerçek antep fıstığı alerjisi, antep fıstığı sensitize olan hastaların sadece %34'ünde gözlemlenmiştir <sup>78</sup>. Aynı çalışmada hem antep fıstığı hem de kajuyla pozitif oral provokasyon testi olan 9 hastanın spesifik IgE değerlerinin, sadece birine karşı alerjisi olanlara göre belirgin olarak yüksek olduğu da görülmüştür <sup>78</sup>. Kaju ve antep fıstığı arasındaki en fazla çapraz reaksiyonun antep fıstığındaki Pis v3 ile kajudaki Ana ol'den kaynaklandığı (%80 aynılık ve %90 benzerlik) da gösterilmiştir <sup>70</sup>.

Antep fıstığında şimdiye kadar tanımlanmış beş protein bandı bulunmaktadır. Bunlar; Pis v1 <sup>53</sup>, Pis v2 <sup>53</sup>, Pis v3 <sup>79</sup>, Pis v4 <sup>80</sup> ve Pis v5 <sup>81</sup> 'tir. Birçok kuruyemişte 7S globülin, 11S globülin ve 2S albümin majör alerjenler olarak

bulunurlar <sup>53</sup> (Tablo 2). Antep fıstığında da 2S albümin (Pis v1) ve 11S globülin (Pis v2) majör alerjen olarak bulunmaktadır <sup>53</sup>. Kajunun antijeni olan Ana o3 ile Pis v1 ve Pis v2 %64 oranında <sup>47</sup>, Ana o2 ile %40 oranında <sup>64</sup> benzerlik gösterir. Tüm bu benzerlikler her iki kuruyemiş arasındaki çapraz reaksiyon sıklığının yüksekliğini açıklar <sup>53</sup>. Yine benzer şekilde kuruyemişlerden İngiliz cevizi (Jug r1) <sup>49</sup> ve Brezilya fıncığı (Ber e1) <sup>82</sup> 2S albümin bulunur ancak aradaki benzerlik sırasıyla %39 ve %36 şeklinde kajuya kıyasla az bir oranda olduğundan aralarındaki çapraz reaksiyon ve gerçek alerji oldukça azdır <sup>53</sup>. Genetiği değiştirilmiş mısırlarla ilgili çalışmalar göstermiştir ki iki besin arasında çapraz reaksiyon görülebilmesi için benzerliğin en az %35 olması gerekmektedir <sup>83</sup>.

Bilindiği üzere Pis v3 ise 7S globulin ailesine ait bir alerjendir ve en fazla kajunun Ana o1 antijeniyle benzerlik gösterir <sup>70</sup>. Antep fıstığının alerjisi olan Pis v4 yani manganaz süperoksit dismutaz (MnSOD) metalloproteaz ailesine ait bir enzim olup mitekondri DNA'sını superoksit hasarından korumaktadır <sup>84</sup>. Şimdiye kadar besinlerden sadece antep fıstığında <sup>70</sup> ve bir izoformu da üzümde <sup>85</sup> tanımlanmıştır. MnSOD, antep fıstığının majör alerjenlerden sayılmaktadır <sup>70</sup>. Pis v5 <sup>81</sup> ise antep fıstığının minör alerjenidir (Tablo 2).

Literatürde kaju alerjisi olan hastaların %50'sinin, toleran olanların da %25'inin Ana o1'e karşı antikorunun olduğu gösterilmiştir <sup>56</sup>. Ana o2; kajunun temel depo antijendir. Kaju alerjen olan hastaların %62'sinin Ana o2'ye, %81'inin de Ana o3'e karşı antikor oluşturduğu görülmüştür <sup>64</sup>. Antep fıstığının alerjenlerinden Pis v1, v2 ve v4'ün majör alerjen, Pis v3 ve v5'in minör alerjenler olduğu düşünülmüştür <sup>53</sup>. Antep fıstığının alerji ile ilişkilendirilen bu 5 antijeni dışında literatürde tanımlanmış farklı antijenler (34, 41, 52, 60 kDa) de gösterilmiştir <sup>86</sup>. Antep fıstığına anafilaksi tarifleyen 2 çocuğun da serumunda 30, 41 kDa antijene ve en kuvvetli olarak da 34 kDa ağırlığındaki antep fıstığı alerjenine bağlandığı görülmüştür <sup>66</sup>.

Antep fıstığında bulunan antijenlerin %66'sını albümin, %25'ini globülinler oluşturmaktadır <sup>87</sup>. Albumin ve globülin gibi tohum depo antijenlerinin çapraz reaksiyondan sorumlu olduğu bilinmektedir <sup>41</sup>. Antep fıstığı alerjisinden esas sorumlu olan antijenin manganaz süperoksit dismutaz olduğu gösterilmiştir <sup>41</sup>.

**Tablo 2.** Antep fıstığı ve kajunun içindeki şimdiye kadar tanımlanmış olan alerjen protein bantları

ANTİJENLER	
ANTEP FISTIĞI	KAJU
Pis v1 (2S albümin)(7 <i>kDa</i> )	Ana o1 (7S Vicillin-like protein) (50 <i>kDa</i> )
Pis v2 (11S globülin subunit)(32 <i>kDa</i> )	Ana o2 (Legumin-like protein) (55 <i>kDa</i> )
Pis v3 (Vicillin)(55 <i>kDa</i> )	33 <i>kDa</i> (Majör )
Pis v4 (Manganaz süperoksid dismutaz)(25.7 <i>kDa</i> )	53 <i>kDa</i> (Minör)
Pis v5 (11S globülin)(36 <i>kDa</i> )	Ana o3 (2S albümin) (14 <i>kDa</i> )

Kaju, 16. Yüzyılda Protekizliler tarafından Brezilya'dan Avrupa'ya getirilmişler ve oradan da diğer kıtalara yayılmıştır<sup>88</sup>. Kajunun dış kabuğunda toksik maddeler bulunduğundan tüketilmeden önce dış kabuğunun kavrulması gerekmektedir<sup>89</sup>. Kaju, daha çok Hindistan, Tayland ve Çin gibi Asya ülkelerinde sıkça tüketilmektedir<sup>89</sup>. Bu nedenle de bu ülkelerde kaju alerjisi daha sık görülmektedir<sup>90</sup>.

Kajunun bantlarından Ana o1, Ana o2 ve Ana o3 majör bantlar olarak kabul edilmektedir<sup>89</sup>. Lange ve ark, kajunun hangi majör alerjeninin toleransı belirlemede önemli olduğunu çalışmış ve Ana o3'ün tolerans gelişimini belirlemede en önemli bant olduğunu göstermişlerdir<sup>91</sup>. Literatürü araştırdığımız ve bildiğimiz kadarıyla antep fıstığı ile ilgili benzer bir çalışmaya rastlamadık. Ülkemizde tüketilen kuruyemişler arasında üst sıralarda yer alan antep fıstığının alerjisi üzerinde durulması gereken bir konudur. Antep fıstığının hangi alerjen bandına ülkemizde sıkça rastlandığı, hangi bandın toleransı gösterdiği önemlidir. Hayatı ciddi ölçüde tehdit eden, ABD'de yaklaşık %90 oranında<sup>21</sup> fatal anafilaktik reaksiyonlara neden olan kuruyemiş alerjilerinin prognozu, tolerans gelişimi ilgili daha detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Kuruyemiş alerjisi olan hastaya ciddi alerjik reaksiyon riski ve çapraz reaksiyon nedeniyle rutin pratikte eliminasyon önerilmektedir. Gerçekten alerjisinin olup olmadığı ancak oral provokasyon testleriyle belirlenir. Ancak bu testler hem

zaman almakta hem de anafilaksi riski bulunmaktadır. Western Blot analiz yöntemiyle hastaların serumlarında oluşan besine karşı IgE'nin besinin hangi alerjen proteine denk geldiği tespit edilebilir. Ayrıca inhibisyon testleriyle, oluşan çapraz reaksiyonların sorumlu olduğu besinlerde saptanabilir. Sorumlu gıdayla anafilaksi geçiren hastaların serumlarında anafilaksiye neden olan spesifik IgE-alerjen protein etkileşiminin tanımlanması bu hastalarda ileride karşılaşılabileceği anafilaksi risklerinin önceden engellenebilmesi, olası tolerans gelişiminin prognozunu hakkında fikir sahibi olunabilmesinin yolunu açabilecektir. İn vitro ortamda yapılacak inhibisyon testleri sayesinde hastanın serumunda hangi besin alerjene/alerjenlere karşı spesifik antikorların geliştiği tespit edilerek hangi besin alerjenle/alerjenlerle çapraz reaksiyon oluşturabileceğini ortaya konulabilecektir. İnhibisyon deneyi sonucunda negatif sonuç veren alerjenlerle çapraz geliştirmeme olasılığı da yüksektir. Bu yöntem gereksiz besin eliminasyonu, oral provokasyon yaparken harcanan zaman ve oluşabilecek ciddi alerjik reaksiyon risklerini ortadan kaldırabilir.

Alerjen protein bantlarının gösterilmesinin yanı sıra OPT sırasında görülebilecek ciddi sistemik reaksiyonları öngörebilecek bazı klinik ve laboratuvar belirteçlerinin ortaya konması, bu sayede gereksiz besin eliminasyonundan kaçınılması da çalışma başlangıcında amaçlanmıştır. Bu sayede tanı sırasında hastanın prognozu hakkında fikir sahibi olunabilir, zaman alan oral provokasyon test gerekliliği en aza indirgenebilir ve provokasyonu riskli olacak olan hastaların belirlenip provokasyondan kaçınma sağlanabilir.

## HASTALAR VE YÖNTEM

### 3.1. Hastalar

Çalışmaya, Hacettepe Üniversitesi Çocuk Allerji Bilim Dalı/Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.B.D.'da 2015-2017 yılları arasında deri prik testi ve/veya serum spesifik IgE değeri 0,35 k/UL üzeri olan antep fıstığı ile kesin alerjik reaksiyonu olduğu bilinen veya bilinmeyen 0-18 yaş arası 112 hasta dahil edilmiştir. Bu hastaların deri prik testinde ve/veya spesifik IgE testinde antep fıstığı ile pozitiflik mevcuttu. Hastaların bir kısmında antep fıstığı ve/veya kaju ile karşılaşma hikayesi olup bu grupta en az 1 alerjik reaksiyon gözlemlenmişti. Çalışma grubunun bir kısmında diğer kuruyemişlerle de deri prik testi ve/veya spesifik IgE pozitifliği vardı, bir kısmında da test pozitiflikleri yanında hikayede bu kuruyemişlerle alerjik reaksiyon da gözlemlenmişti.

Hastalarda ve ailelerinde atopi (atopik dermatit, astım, alerjik rinit, el ve ayak egzeması, proktokolit hikayesi, diğer besin alerjileri) varlığı sorgulandı. Hastaların şimdiye kadar hangi kuruyemişleri tükettiği, tüketim sonrası alerjik reaksiyon gelişip gelişmediği, geliştiyse nasıl bir reaksiyon olduğu, hangi kuruyemişleri hiç tüketmediği, tüketmeme sebebi sorgulandı. Antep fıstığı ve kajuyu tüketip tüketmediği, tükettiyse reaksiyon olup olmadığı, reaksiyon olduysa bunun nasıl bir alerjik reaksiyon olduğu da soruldu. Hastaların hepsine ilk başvurularında antep fıstığı, kaju, fındık, yer fıstığı, badem, ceviz, ay çekirdeği ve kabak çekirdeğiyle, bir kısmına da ayrıca çam fıstığı, mango, limon çekirdeği ve portakal çekirdeği ile deri prik testleri yapıldı. Tüm hastalara antep fıstığı, kaju, fındık, yer fıstığı, badem, ceviz spesifik IgE, tota IgE, eozinofil, bazofil ve serum triptaz ölçümleri yapıldı. Bazı hastaların antep fıstığı ve/veya kaju provokasyon öncesinde antep fıstığı ve kaju ile deri prik testleri, antep fıstığı ve kaju spesifik IgE, total IgE, , eozinofil, bazofil ve serum triptaz ölçümleri tekrar edildi. Takipleri süresince son 1 yıl içerisinde diyetlerinden tamamen elimine edilen antep fıstığı (veya kaju) ile anafilaksi geçirmemiş olan hastalara ailelerin bilgilendirilmiş onamı alınarak antep fıstığı ve/veya kaju ile uluslararası rehberler baza alınarak açık oral provokasyon testleri

uygulandı <sup>92</sup>. Provokasyon sırasında dudakta, ağız içerisinde kaşıntı, karıncalanma, vücutta kaşıntı, karın ağrısı, bulantı gibi sübjektif semptomlar tarifleyen hastaların provokasyonlarındaki basamaklar arası süre uzatılarak hasta gözlemlenip eğer pozitif bir semptom oluşmadıysa provokasyona devam edildi. Hasta provokasyon sonrasında kontrole çağırılarak veya telefonla aranarak kuruyemişi tüketip tüketmediği, tüketiyorsa herhangi bir semptom oluşup oluşmadığı sorgulandı.

Hastalara astım, alerjik rinit tanıları AIRA <sup>93</sup> ve GINA <sup>94</sup> rehberlerine göre konuldu. Hastalarda başvuru sırasında veya daha öncesinde atopik dermatit ve proktokolit olup olmadığı kaydedildi. Atopik dermatit varlığı <sup>95</sup> vizitlerdeki muayene bulguları ve ailelerden alınan anamneze göre konuldu. Proktokolit tanısı ise aileden alınan anamneze göre gaitada mukus ve içinde kan varlığı ile konuldu <sup>96</sup>.

Kuruyemiş alerjisi olan hastalar için rutinde kuruyemiş deri prik testi ile serum spesifik IgE testleri uygulanmaktadır. Aşağıda anlatılan ekstrat hazırlama yöntemi ile antep fıstığı, kaju, badem, fındık, yer fıstığı, ceviz, ay çekirdeği, çam fıstığı, kabak çekirdeği, mango, portakal ve limon çekirdekleri ile hastalara rutin olarak deri prik testi yapılmaktadır. Bu testten en az 3 gün kadar önce eğer alıyorsa antihistaminler kesildi. Eş zamanlı negatif kontrol olarak serum fizyolojik, pozitif kontrol olarak ise histamin epidermal olarak uygulandı. Yapılan alerjen testleri 3 milimetre ve üzeri olarak gelmişse pozitif olarak kabul edildi. Bununla beraber bu hastalara *immuno CAP*® yöntemiyle antep fıstığı, kaju, ceviz, badem, fındık, yer fıstığı spesifik IgE ile total IgE de bakıldı, spesifik IgE değeri 0.35 k/UL ve üzeri değerler pozitif kabul edildi. Serum bazal triptaz düzeyleri UniCAP methoduyla (System ImmunoCAP Tryptase ®, Pharmacia & Upjohn, Uppsala, Sweden) ölçüldü. Hastaların kanları santrifüj edilerek serumları ayrıştırıldı. Ayrılan serumlar -80 °C'de çalışma yapılana kadar alikotlar halinde saklandı.

Çalışma dahilinde kullanılacak olan antep fıstığı ve kajunun alerjen ekstratları laboratuvarında hazırlanmıştır.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Antep fıstığı ve Kaju Alerjen Ekstratlarının Hazırlanması:

Kuruyemişler havanda dövülerek, eter ile yağdan arındırma işlemi yapıldı. Eterin uçması için 1-2 gün beklendi.

10 ml antijen elde etmek için: 1 gr kuruyemiş, 50 ml buffer solüsyonu (A), biraz cam boncuk ve koruyucu olarak 0,2 ml toluen bir şişeye konuldu. İlk gün el yardımıyla; 2. ve 3. günlerde elektronik karıştırıcıyla toplam 4 saat çalkalandı. 72 saat sonunda kaba filtreden (gazlı bez) geçirilerek süzülüp santrifüj işlemi yapıldı. Sonrasında elde edilen solüsyon selefona tüpte konsantre edildi (B). İstenilen konsantrasyona inen antijene tekrar santrifüj işlemi uygulanıp 0,45 mikron enjektör uyumlu filtreden geçirildi. Toplam miktarın yarısı kadar gliserin eklenerek steril olarak şişelendi.

A. Buffer solüsyonu hazırlama pH7,4 olacak

100 ml distile su

0,5 gr NaCl (tuz)

0,036 gr KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (monobazik potasyum fosfat)

0,764 gr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. 2H<sub>2</sub>O (dibazik sodyum fosfat)

0,4 gr fenol kristalize

Tartımlar yapılarak, karıştırıldı. pH 7,4 e ayarlandı. Otoklavda 110 °C de 15 dakika steril edildi.

B. Selefona tüpün 1cm'si 3ml sıvı almaktadır. Bağlama payları ile birlikte 25 cm selefona tüp kesildi ve bir tarafı bağlandı. Üstten huni ile, tartılıp hazırlanan solüsyon eklendi. 10 ml antijen için, selefona tüpün içindeki antijenin 2,5 cm'e inmesi gerekmektedir. Vantilatör karşısında yapıldı. Cetvel ile sürekli ölçülerek takip edildi. En az 2 gün süren bu işlemin sonunda antijen 1/50 konsantrasyondan 1/10'a inmiş oldu. (Gliserin ilavesi ile birlikte)

### **3.2.2. Antep fıstığı ve Kaju Alerjisi Olan Bireylerde Alerjenik Moleküllerin Western Blot Yöntemi ile Gösterilmesi**

- 1- Aşağıda belirtilen şekilde hazırlanan örnekler 70°C'de 10 dakika denatüre edildikten sonra %10-20 Trisin Jele yüklendi ve bu jele özel Trisin SDS yürütme tamponu kullanılarak örnekler yürütüldü.
  - 10 µL Allerjenik ekstrakt (Antep fıstığı ya da Kaju)
  - 5 µL 4 X yükleme boyası
  - 2 µL Redükleyici ajan (SRA) ( $\beta$  Merkaptotanol)
  - 3 µL Distile su
  - 20 µL Total
- 2- Örnekler 15 dakika 60V' da yürütüldükten sonra 1 saat 45 dakika 100V' da yürütüldü.
- 3- Jel büyüklüğünde kesilen PVDF membran, alt ve üste 2'şer adet olmak üzere toplam 4 adet jel büyüklüğünde kesilen Watman kağıdı 1X Tris-Glisin transfer tamponunda 5-10 dakika ıslatıldı.
- 4- Transfer kasetine eksi kutuptan artı kutba doğru sırasıyla transfer pad, 2 watman, jel, membran, 2 watman ve transfer pad aralarında boşluk kalmayacak şekilde hazırlandı ve transfer modülüne yerleştirildi (ıslak transfer). Örnekler 30 V' da 1,5 saat transfer edildi.
- 5- Süre sonunda membran %5 BSA içeren TBS-T tamponunda oda ısısında 1 saat inkübe edildi (Blokla)
- 6- Her bir kuyucuk şeritler halinde kesilir ve her biri 1/10 oranında PBS dilüe edilmiş hastaya ait serum ile gece boyu 4°C'de inkübe edildi. Bu aşamada hasta serumu alerjene özgü antikorları içeriyorsa bu antikorlar membrana aktarmış olduğumuz alerjen proteinleri ile birleşmiş oldu.
- 7- Süre sonunda membran 3 defa TBS-T tamponu ile 5'er dakika yıkandı.
- 8- Üzerine ikincil antikor olarak % 1 BSA içeren TBS-T içinde 1/1000 dilüe edilmiş olan HRP konjuge anti IgE antikoruna ilave edildi ve 2 saat oda ısısında inkübe edildi.
- 9- Membran yukarıda belirtildiği şekilde 3 defa yıkandıktan sonra ECL solüsyonu ile muamele edilerek kemilüminesan elde edildi.
- 10- CCD kamere yardımı ile oluşan kemilüminesan görüntülendi.

### **3.2.3. Antep fıstığı ve Kaju alerjisi Olan Bireylerde Çapraz Reaksiyonun İnhibisyon Yöntemi ile Gösterilmesi**

Hem antep fıstığı hem de kaju western sonuçlarında bant görülen hastaların serumları inhibisyon deneyleri için kullanıldı. Hasta serumu (200µl) alerjen ile gece boyu 4°C’de inkübe edildi. Örneğin Antep fıstığı ile kaju arasında çapraz düşünülen örneklerde hasta serumu kaju alerjeni ile inkübe edildi.

Her bir hasta için 2 kuyu antep fıstığı 2 kuyu kaju alerjen ekstratı yüklendi ve yukarıda belirtildiği şekilde yürütüldü. Jelde yürüyen proteinlerin membrana transferinden sonra membran antep sonuçları için; sırasıyla hasta serumu, kaju ile bir gece inkübe edilmiş hasta serumu (inhibisyon deneyi), kaju sonuçları için ise hasta sonumu ve antep fıstığı ile inkübe edilmiş hasta serumu (inhibisyon deneyi) örnekleriyle gece boyu inkübe edildi. Serum örneklerindeki spesifik IgE’lerin (primer antikolar gibi davranarak membran üzerinde tanıdıkları proteinlere bağlanarak) membrana bağlanmaları; anti-IgE sekonder antikolarla belirlendi. Western yönteminin diğer aşamaları yukarıda belirtildiği şekilde tamamlandı.

Antep fıstık antijeni yürüyen ve serumla direk muamele edilen kuyucuktaki görüntü yine antep fıstığı alerjeni yürüyen ancak kaju ile inhibe edilmiş serumla inkübe edilen kuyucukla karşılaştırıldı. Eğer bant paterninde değişim var ise (bantların eksilmesi ya da yoğunluğunun belirgin olarak azalması yönünde bir değişim) çapraz reaksiyon var olarak değerlendirildi. Çünkü kaju antijeni serumun içinde antep fıstığına karşı oluşmuş olan antikolarla bağlanıp onları inhibe ettiği için bu antikolar artık membranda yer alan antep fıstığı antijeni ile bağlanamaz ve bağlanma gerçekleşmediği için biz inhibe edilmemiş serumla elde ettiğimiz görüntüyü elde edemeyiz.

#### **3.2.4. Western Blot Analizi için kan örnekleri toplanması**

Antep fıstığı ve / veya kajuda alerjen protein bantlarının belirlenmesi amacı ile ailelerden bilgilendirilmiş onam alındıktan sonra 112 hasta içerisinde rastgele seçilmiş, alerjik veya toleran olup olmadığına bakılmaksızın 11 hastadan kan örnekleri alındı. Hastaların serumları santrifüj edildi ve serumlar kullanılmaya kadar -80 ° C’de donduruldu.

#### **3.2.5. Oral Provokasyon Testleri:**

Çalışmaya alınan hastaların hepsine (son 12 ay içerisinde antep fıstığı ve/veya kaju ile anafilaksi tarifleyenler hariç) antep fıstığı ve kaju ile oral provokasyon testi yapıldı. Testten 1 hafta önceki dönemde psödoefedrin, antihistamin, lökotrein reseptör antagonisti içeren ilaçlar kesildi. Test için hastalara 1,5-3,0 gram kadar protein verilmesi hedeflendi. Tüm hastalar antep fıstığı ve kajuyu kavrulmuş olarak toplam protein miktarı 16-20 gram olacak şekilde 0.6 gram'dan başlanarak artan miktarlarda 5-6 basamakta ve 10-15 dakika aralıklarla tek kör kontrollü olarak verildi. Herhangi bir objektif semptom gözlenmediyse bir üst basamağa geçildi. Hastanın tariflediği subjektif semptomlar (dilde, boğazda kaşıntı, vücutta kaşıntı gibi) varlığında ise bir üst basamağa geçilmeyerek hasta objektif alerjik semptomlar açısından takip edildi, eğer semptomlar gözlenmezse üst basamağa kalındığı yerden devam edildi; pozitif objektif semptomlardan herhangi birinin gözlemlenmesi halindeyse test durduruldu. Bu durumda hasta en az 4-6 saat izlendi, düzenli fizik muayene, sistolik ve diyastolik kan basıncı takibi yapıldı. Ürtiker, anjiyoödem gibi deri bulguları varlığında antihistamin; bununla beraber diğer sistem bulguları varlığında da anafilaksi tanısı konularak epinefrin intramüsküler olarak 0,01 mg/kg'dan (maksimum 0,3 mg/doz) uygulandı. Bu bulgulara ek olarak stridor, ronküs, nefes darlığı gibi solunum sistemi bulguları varlığında ise beta2 mimetik inhalasyonu (0,15 mg/kg'dan salbutamol) uygulandı.

### 3.2. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler, SPSS Sürüm 22.0 istatistik yazılım paketi (IBM SPSS Statistics Chicago, Ill) kullanılarak yapıldı. Değişkenler normal olarak dağıtılmadığından veriler medyan ve çeyrekler arası (IQR) olarak verildi. % 95 güven aralıkları (CI) olasılık oranları (OR), antep fıstığı ve kaju SPT, sIgE ve sIgE / Total IgE ölçümleri ve oral provokasyon pozitifliği arasındaki ilişkileri öngörmek için tek değişkenli ve çok değişkenli analizlerle hesaplandı. Tüm analizler için p değeri <0,05 ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Antep fıstığı ve kajuya karşı klinik reaktivitenin doğruluğu, SPT (mm), sIgE (kU / L) ve sIgE (kU / L) / Total IgE (kU / L) ile analiz edilerek, "receiver operating characteristics" (ROC) eğrileri kullanılarak belirlenmiştir. Pozitif kestirim değerleri (PPD), negatif kestirim değerleri (NPD), duyarlılık ve özgüllük değerleri, kesme noktaları için "ikiye iki tablo" ile belirlenmiştir. Her değişken için en uygun kesme

değeri ‘‘Youden indeksine’’ (hassasiyet + özgüllük -1) göre seçilmiştir. ROC eğrisi analizi, son 12 ay içinde antep fıstığı veya kajuyla pozitif OFC veya anaflaksisi olan hastalara yapıldı. Tahmin edilen olasılık eğrileri, hem antep fıstığı hem de kaju için lojistik regresyon modelleri kullanılarak oluşturulmuştur.

### **3.3. Etik Kurul Onayı**

Çalışma için etik kurul onayı Hacettepe Üniversitesi Giriřimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul tarafından 21.07.2015 tarih ve GO 15/649-07 numaralı yazısıyla alınmıştır.



## BULGULAR

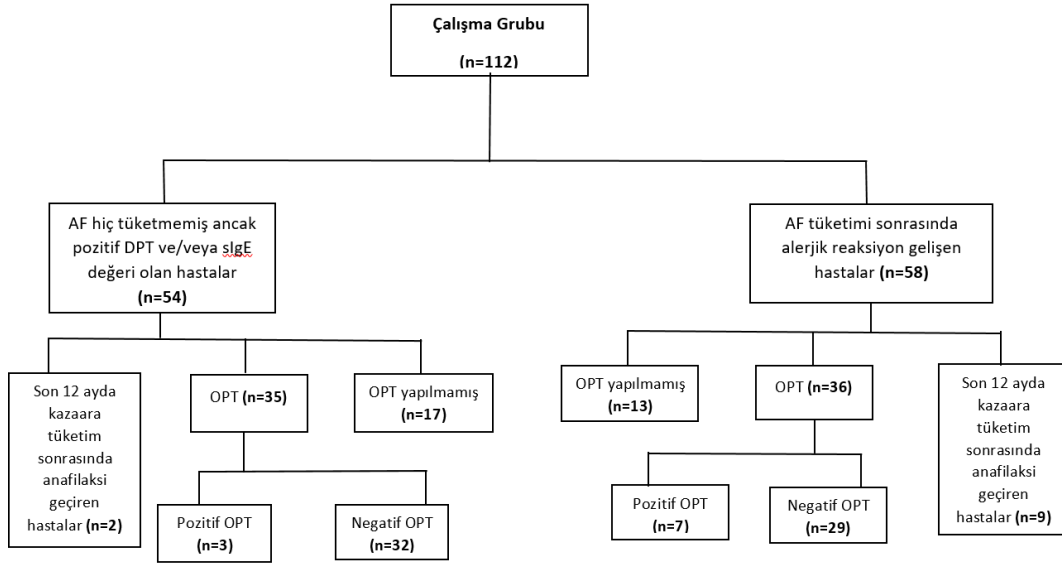
Çalışmaya medyan (çeyrekler arası aralık: IQR) yaşı 58.45 (40.38-88.32) ay olan toplam 112 çocuk (E / K: 74/38) dahil edilmiştir (Tablo 3). Altmış sekiz hastada (% 76,8) antep fıstığı ve / veya kaju tüketildikten sonra alerjik reaksiyon öyküsü vardı ve çalışma grubunun geri kalanının antep fıstığı ve kaju sIgE ve / veya DPT pozitifliği vardı. Bu 68 hastanın 58'inde antep fıstığı ve 30'unda kaju ile alerjik reaksiyon hikayesi vardı (Şekil 2). Klinik öyküye göre hem antep fıstığı (% 88, n = 51) hem kajuda (% 90, n = 27) en sık etkilenen organ deriydi (Şekil 3). 71 çocuğa antep fıstığı, 48 çocuğa da kaju için OP yapıldı. Son 12 ay içinde kazara antep fıstığı veya kaju tükettikten sonra anaflaksisi olan 11 (antep fıstığı ile) ve 2 (kaju ile) hastaya OP uygulanmadı ve alerjik olarak kabul edildi. Antep fıstığı (% 100) ve kaju (% 90) için OP testlerinde en çok etkilenen organ deriydi. Antep fıstığı ile OP uygulanmış hastalarda ve daha önce bu kuruyemişle hikayesi olan hastalarda Müller sınıf 1 ve sınıf 2 reaksiyonlar görülmüşken (Şekil 4), Müller sınıf 3 ve 4 reaksiyonlar daha çok kaju tüketimi sonrasında gözlemlenmişti (Şekil 4). Yaşamın herhangi bir döneminde AD, tüm çalışma popülasyonunun % 70.5'inde (n = 79) vardı. Bu 79 çocuğun 68'inde (% 86) AD'nin çalışma sırasında belirtileri hala mevcuttu (aktif AD). Kaju alerjisi olan hastalarda AD (% 84,6), antep fıstığı alerjisi olan hastalara göre (% 66.7) göre daha sıklıkla. Çalışma grubunun % 40'ında (n = 45) astım, %17'sinde (n=19) AR, % 60'ında (n = 67) diğer kuruyemişler ve yer fıstığı dışındaki besin alerjileri görülmüştür. 41 hastada fındık (% 61), ceviz (% 41.5), badem (% 17), yer fıstığı (% 17), kabak çekirdeği (% 17) ve ayçiçeği çekirdeği (% 5) alerjisi vardı. Polen ile DPT 81 çocuğa yapıldı ve bu hastaların 27'si ağaç, ot ve çayır polenlerine karşı duyarlıydı. Ayrıca 36 hastanın anne, baba ve kardeşlerin en az birinde (% 32) atopi vardı.

### Tablo 3. Çalışma grubunun laboratuvar ve klinik parametreleri

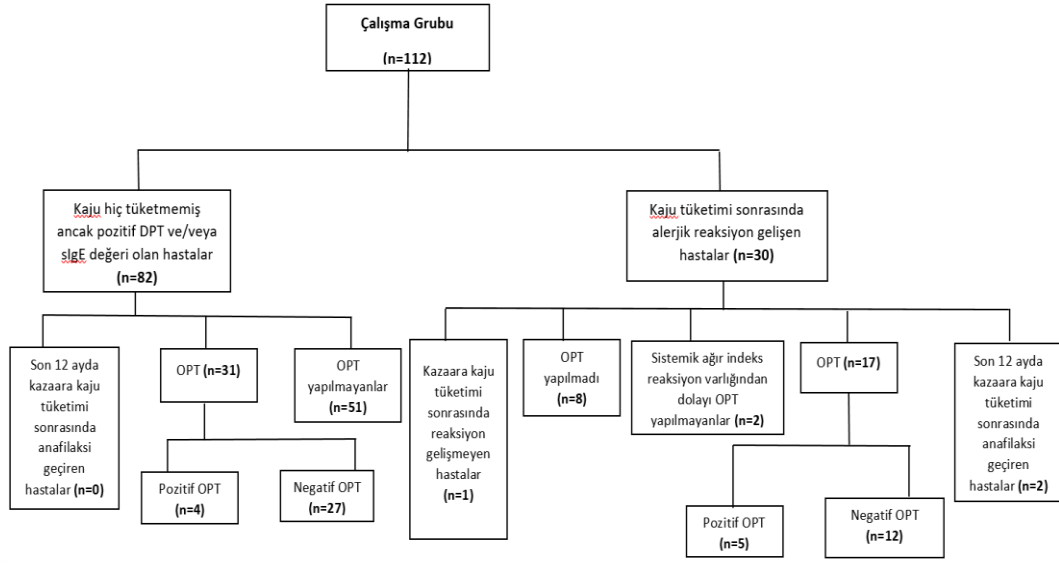
‡; Ortanca (Çeyrekler arası), §; OPT ile ispatlanmış veya son 12 ayda kazara temas sonrası anaflaksi gelişenler, \*; Eşlik eden diğer kuruyemiş alerjileri, AF; Antep Fıstığı, E; Erkek, K; Kız

	Tüm Çalışma Grubu (n=112)	AF ile reaksiyon hikayesi olanlar			OPT pozitifliği veya son 12 ay içinde kazara AF maruziyeti sonrası anafilaksi			Kaju ile reaksiyon hikayesi olanlar			OPT pozitifliği veya son 12 ay içinde kazara kaju maruziyeti sonrası anafilaksi		
		(+)	(-)	<i>p</i> değeri	(+)	(-)	<i>p</i> değeri	(+)	(-)	<i>p</i> değeri	(+)	(-)	<i>p</i> değeri
		(n=58)	(n=54)		(n=21)	(n=61)		(n=30)	(n=82)		(n=13)	(n=39)	
Cinsiyet (E/K), n (%)	74 (66%)/38 (34%)	35 (60.3%)/23 (39.7%)	39 (72.2%)/15 (27.8%)	0.187	12 (57%)/9 (43%)	44 (72.1%)/17 (27.9%)	0.206	19 (63.3%)/11 (36.7%)	55 (67%)/27 (33%)	0.712	7 (53.8%)/6 (46.2%)	31 (79.5%)/8 (20.5%)	0.074
Yaş †	58.45 (40.38-88.32)	64.15 (46.98-96.73)	51.00 (38.28-70.47)	<b>0.033</b>	51.09 (28.51-87.12)	60.36 (47.12-92.51)	0.100	63.05 (48.38-98.87)	57.04 (38.85-70.70)	0.196	61.18 (42.21-104.53)	55.16 (44.41-72.62)	0.561
Reaksiyon hikayesi sırasındaki yaş (AF/kaju) ‡	14.00 (12.00-22.50)/24.00 (17.75-48.00)	14.00 (12.00-22.50)	-		12.50 (10.40-20.25)	18.00 (12.00-24.00)	0.460	24.00 (17.75-48.00)	-		20.00 (13.00-42.00)	27.00 (18.25-56.25)	0.432
Alerjisi olanlar (AF/kaju) §	21 (25.6%) (n=82)/13 (25%) (n=52)	16 (35.6%) (n=45)	5 (13.5%) (n=37)	<b>0.024</b>	-	-		9 (43%) (n=21)	4 (13%) (n=31)	<b>0.015</b>	-	-	
Pistachio/Cashew nut SPT mm †	7.00 (4.00-9.87)/8.00 (4.00-13.87)	7.25 (4.00-10.75)	7.00 (4.37-9.00)	0.773	10.00 (7.50-13.75)	5.00 (3.00-7.25)	<b>&lt;0.001</b>	9.50 (4.10-13.75)	7.50 (3.50-14.25)	0.688	13.50 (7.25-14.75)	3.5 (0.00-5.50)	<b>&lt;0.001</b>
Pistachio/cashew nut sIgE kU/L ‡	5.20 (1.59-20.60)/3.18 (0.85-13.30)	5.39 (1.28-17.15)	5.12 (1.59-31.15)	0.526	9.62 (3.66-30.10)	3.53 (0.69-15.22)	<b>0.039</b>	3.56 (0.54-13.10)	3.12 (0.85-14.57)	0.763	11.10 (2.89-50.62)	1.03 (0.41-5.32)	<b>0.002</b>
AF/Kaju sIgE kU/L/Total IgE (%) ‡	2.04 (0.86-6.05)/1.77 (0.31-3.99)	2.17 (0.39-5.92)	2.00 (1.83-6.45)	0.480	4.04 (0.166-1.124)	1.42 (0.034-5.40)	<b>0.013</b>	2.11 (0.48-4.10)	1.66 (0.27-4.20)	0.451	3.60 (1.47-12.54)	0.55 (0.14-3.08)	<b>0.001</b>
Total IgE kU/L ‡	254 (123-789)	343 (80-890)	229 (115.20-774.25)	0.700	238 (57.70-818)	256 (78.52-753.50)	0.957	187 (52.20-825)	255 (146-774)	0.342	265.00 (80.20-443.00)	256.00 (112.35-753.50)	0.565
Eozinofil sayısı (mm <sup>3</sup> ) ‡	400 (200-800)	300 (200-625)	500 (200-1075)	0.242	300 (200-800)	500 (200-1075)	0.550	300 (200-625)	450 (200-975)	0.202	300 (200-950)	400 (200-1200)	0.872
Hayatın herhangi bir döneminde AD	79 (70.5%)	36 (62%)	43 (79.6%)	<b>0.043</b>	14 (66.7%)	42 (68.9%)	0.854	20 (66.7%)	59 (72%)	0.589	11 (84.6%)	25 (64%)	0.169
Aktif AD	37 (54.5%) (n=68)	13 (22.5%)	24 (61.5%) (n=39)	0.174	6 (54.5%) (n=11)	20 (52.6%) (n=38)	0.912	9 (56.3%) (n=16)	28 (53.8%) (n=52)	0.867	4 (50%) (n=8)	12 (50%) (n=24)	1.000
Astım	45 (49%)	27 (46.6%)	18 (33.3%)	0.156	8 (38%)	26 (42.6%)	0.718	14 (46.7%)	31 (37.8%)	0.399	5 (38.5%)	17 (43.6%)	0.748
Alerjik rinit	19 (17%)	12 (20.7%)	7 (13%)	0.278	2 (9.5%)	14 (23%)	0.183	4 (13.3%)	15 (18.3%)	0.538	1 (7.7%)	9 (23.1%)	0.227
Kuruyemiş dışı besin alerjisi varlığı	67 (60%)	28 (48.3%)	39 (72.2%)	<b>0.010</b>	10 (47.6%)	38 (62.3%)	0.242	14 (46.7%)	53 (64.6%)	0.087	6 (46.2%)	23 (59%)	0.425

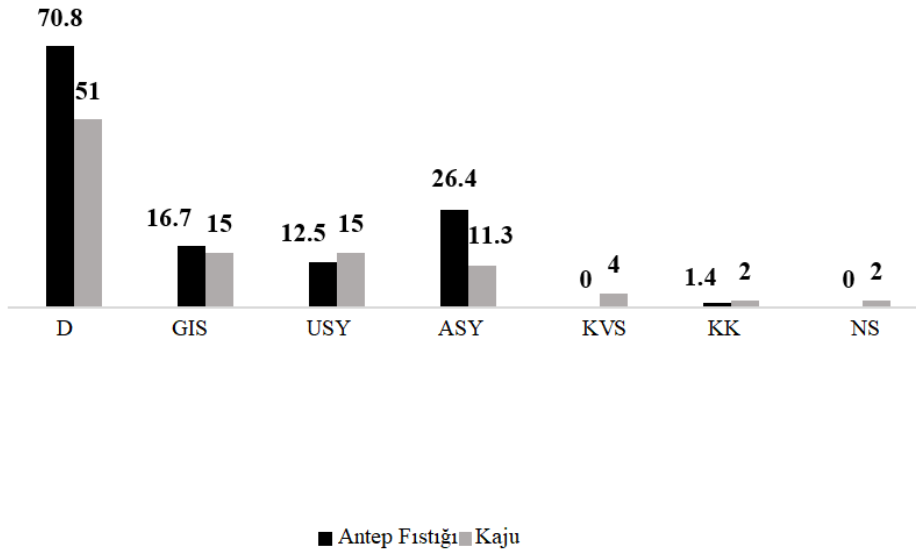
Ailede atopi varlığı	36 (32%)	18 (31%)	18 (33.3%)	0.796	7 (33.3%)	20 (32.8%)	0.964	9 (30%)	27 (33%)	0.770	5 (38.5%)	9 (23%)	0.283
Ceviz alerjisi*	17 (19.3%) (n=88)	6 (13%) (n=46)	11 (26.2%) (n=42)	0.121	3 (20%) (n=15)	9 (18%) (n=50)	0.862	3 (10.3%) (n=29)	14 (23.7%) (n=59)	0.137	4 (36.4%) (n=11)	6 (18.8%) (n=32)	0.238
Fındık alerjisi*	25 (22.3%) (n=70)	15 (35%) (n=43)	10 (37%) (n=27)	0.856	5 (33.3%) (n=15)	13 (33.3%) (n=39)	1.000	7 (28%) (n=25)	18 (40%) (n=45)	0.319	2 (28.6%) (n=7)	9 (33.3%) (n=27)	0.813
Badem alerjisi*	7 (10.4%) (n=67)	6 (10.3%) (n=38)	1 (3.4%) (n=29)	0.104	3 (21.4%) (n=14)	3 (6.4%) (n=47)	<b>0.005</b>	5 (20%) (n=25)	2 (4.8%) (n=42)	<b>0.050</b>	1 (14.3%) (n=7)	3 (10%) (n=30)	0.746
Yerfıstığı alerjisi*	7 (11.7%) (n=60)	6 (10.3%) (n=38)	1 (4.5%) (n=22)	0.195	1 (8.3%) (n=12)	5 (14%) (n=25)	0.618	3 (13%) (n=23)	4 (10.8%) (n=37)	0.795	1 (11.1%) (n=9)	4 (19%) (n=21)	0.599
Ay çekirdeği alerjisi*	2 (4%) (n=50)	2 (3.4%) (n=33)	0	0.305	1 (10%) (n=10)	1 (3.2%) (n=31)	0.754	1 (5.3%) (n=19)	1 (3.2%) (n=31)	0.724	0	0	1.000
Kabak çekirdeği alerjisi*	7 (13.7%) (n=51)	4 (6.9%) (n=34)	3 (17.6%) (n=17)	0.569	3 (27.3%) (n=11)	3 (9.7%) (n=31)	0.396	2 (11%) (n=18)	5 (15.2%) (n=33)	0.692	0	2 (11%) (n=18)	0.446
Polen sensitizasyonu (duyarlılığı)	27 (33.3%) (n=81)	17 (40.5%) (n=42)	10 (18.5%) (n=39)	0.160	3 (25%) (n=12)	16 (35.6%) (n=45)	0.495	8 (36.4%) (n=22)	19 (32.2%) (n=59)	0.726	5 (55.6%) (n=9)	8 (29.6%) (n=27)	0.167



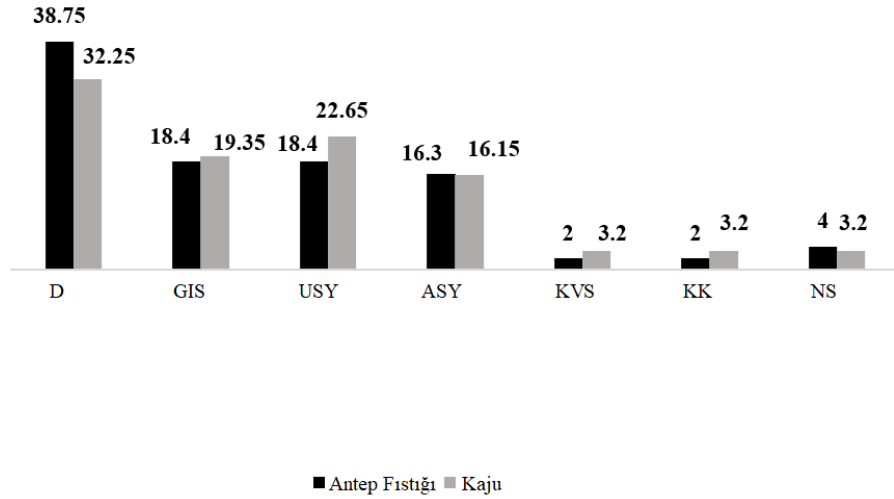
**Şekil 2a.** Antep Fıstığı alerjisi açısından çalışma popülasyonunun özeti (AF; Antep Fıstığı, DPT; deri prik testi, sIgE; spesifik IgE, OPT; oral provokasyon testi)



**Şekil 2b.** Kaju alerjisi açısından çalışma popülasyonunun özeti (DPT; deri prik testi, sIgE; spesifik IgE, OPT; oral provokasyon testi)

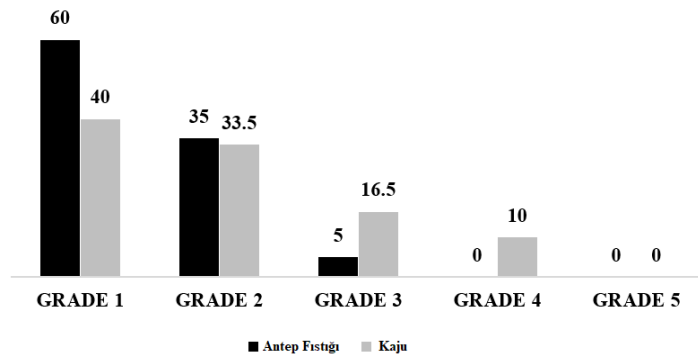


**Şekil 3a**

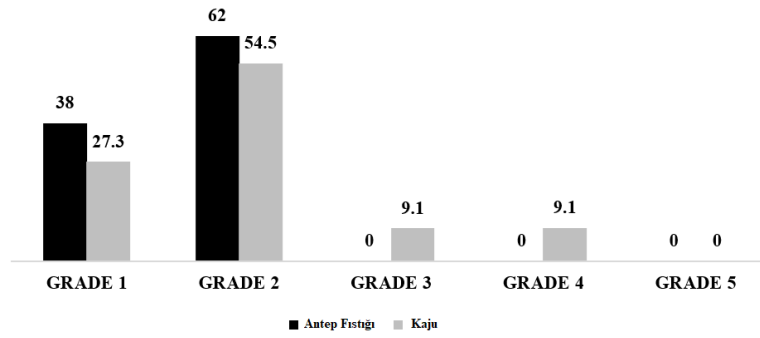


### Şekil 3b

**Şekil 3a.** Kazara tüketim sonrasında hikayede alerjisi olanlarda etkilenen sistemlerin oranları (%) **Şekil 3b.** Son 12 ayda kazara tüketim sonrası anafilaksisi olan ve OPT pozitifliği olan hastalarda etkilenen sistemlerin oranları (%) (D; Deri, GIS; Gastrointestinal sistem, ÜSY; Üst solunum yolu, ASY; Alt solunum yolu, KVS; Kardiyovasküler sistem, KK; Konjunktival kızarıklık, NS; Nörolojik sistem)



### Şekil 4a



**Şekil 4b**

**Şekil 4a.** Antep fıstığı ve kaju için indeks reaksiyonun Müller sınıflaması (%), **Şekil 4b.** Antep fıstığı ve kaju için OPT sırasındaki reaksiyon ve son 12 ayda kazara tüketim sonrasında görülen reaksiyonun Müller sınıflaması (%)

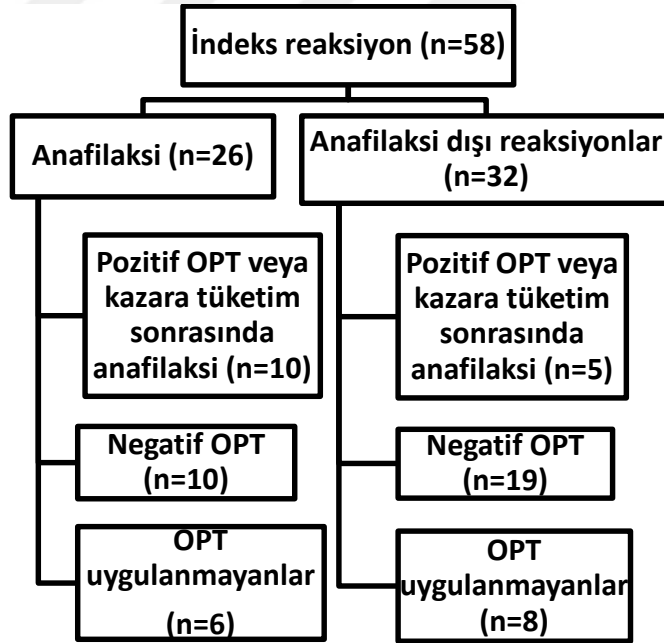
#### Çalışma Popülasyonunda OPT'lerin Özellikleri

Antep fıstığı ile yapılan toplam 71 OPT'nin 10'ünde reaksiyona gelişmişti, 3 tanesi anafilaksi (% 30) şeklindeydi. Kaju ile toplam 48 OPT yapılmış ve 9'u pozitif, bu reaksiyonların 7 tanesi anafilaksi ile sonuçlandı (% 77.8). OPT'lerde anafilaksi oranı kajuda (% 77.7) ile antep fıstığından (% 30) daha fazla olmuştur ( $p = 0.150$ ). Buna ek olarak, 2 hastada kazara tüketim sonrasında herhangi bir reaksiyon olmadı ve kajuyu düzenli olarak tüketebildiler. Bu nedenle bu 2 hasta OP yapılmaksızın kaju toleran kabul edildi. Sadece bir çocuk, hem antep fıstığı hem de kaju fıstığı ile OPT pozitifliğine sahipti. Toplam 73 hastaya antep fıstığı ve / veya kaju fıstığı içeren OP uygulandı, 12'sine son 12 ayda kazara tüketim nedeniyle OPT yapılmadı. Çalışma grubunun geri kalanına ( $n = 27$ ) ebeveynler aydınlatılmış onam vermediklerinden antep fıstığı ve kaju ile OPT yapılmadı. Toplam OPT'den geçiş oranı (başarı), antep fıstığı ile % 86 ve kaju ile % 81.25 idi. Önceki klinik öyküsünde olan antep fıstığı ( $n = 58$ ) ile reaksiyonu olan hastaların 36'sına (% 62) antep fıstığı ile OPT yapıldı ve 7'sinde (% 19.5) reaksiyon, 29'unda (% 80.5) ise antep fıstığına tolerans geliştiği görüldü (Şekil 5). Kajuya alerjik reaksiyon öyküsü olan 30 hastanın 17'sine (% 56,6) OPT yapıldı, 12 tanesi (% 70.6) kajuyu tolere etti, 5 hastada (% 29.4) kajuya reaksiyon gelişti (Şekil 5). Toplamda, antep fıstığı OPT'lerinin % 14'ü ve kaju fıstığı yüklemesinin % 18.75'i reaksiyonla sonuçlandı. OPT'lerde, daha önce antep fıstığı ve kaju ile reaksiyonu olan çocuklarda

karşılaşmamış olanlara göre daha fazla reaksiyon geliştiği görüldü (antep fıstığı;  $p = 0.024$ , kaju;  $p = 0.015$ ).

Ayrıca antep fıstığı ve kaju ile daha önce anafilaksi olan çocuklardaki OPT'lerde anafilaksi dışı reaksiyon olanlara göre daha fazla reaksiyon geliştiği gözlemlendi (antep fıstığı;  $p = 0.032$ , kaju;  $p = 0.150$ ). Özetle, antep fıstığı OPT'lerde ve antep fıstığına kazara maruz kalan 82 hastanın % 25,6'sı, kaju OPT'lerde ve kaju fıstığını kazara tüketen 52 olgunun % 21.15'inde reaksiyon görüldü (Şekil 5).

Çalışmaya göre, antep fıstığı duyarlılığı olan 109 hastanın 21'inde (% 19.2) antep fıstığı alerjisi saptanmıştır. 104 kaju duyarlılığı olan hastanın 13'ünde (% 12.5) kaju fıstığı alerjisi tespit edildi. Aksi halde, antep fıstığı alerjisi olan 21 çocuğun (% 14.3) 3'ü kaju fıstığına reaksiyon gösterdi, ayrıca 13 (% 23) kaju fıstığı alerjisi hastalarından 3'ünde antep fıstığı alerjisi mevcuttu.



**Şekil 5a.** Hikayede daha önce Antep Fıstığı tüketenlerin prognozu



**Şekil 5b.** Hikayede daha önce Kaju tüketenlerin prognozu

### **Antep fıstığı ve kaju reaktif olan ve reaktif olmayan hastalar arasındaki farklar**

Antep fıstığı ve kaju reaktif olan ve olmayan çocuklar arasındaki klinik ve laboratuvar farklılıkları Tablo 3'de gösterilmiştir. Antep fıstığı ve kaju reaktif çocuklarda, sIgE değerlerinin, SPT ölçüm değerleri ve sIgE / Total IgE oranlarının medyan seviyeleri anlamlı olarak daha yüksekti (Tablo 3). Eozinofil sayıları, total IgE seviyeleri, cinsiyet, yaş, eş zamanlı AD, AR, astım, diğer kuruyemişler ve yer fıstığı dışındaki besin alerjileri, polen duyarlılığı, reaktif ve reaktif olmayanlar arasında anlamlı bir farklılık göstermedi. Ayrıca, SPT, sIgE ve sIgE / Total IgE değerleri, antep fıstığı ve kaju ile olan reaksiyonların şiddeti ile korelasyon göstermedi. En sık eşlik eden alerjik hastalık hem antep fıstığı hem de kaju reaktif çocuklarda (antep fıstığı için% 66.7, kaju fıstığı için% 84.6) atopik dermatitti. Tek değişkenli analize göre hem antep fıstığı hem de kaju için klinik reaktiviteyi öngören laboratuvar ve klinik parametreler; sIgE, atopik dermatit, polen sensitizasyonu, hikyedeki kazara maruziyet sonrası anafilaksi, cinsiyet, SPT, sIgE / Total IgE oranı ve alerjik rinitti. (Tablo 4). Bununla birlikte, sadece DPT'i çapının çok değişkenli analizde reaktivite

için bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir [OR: 1.302,% 95 CI: 1.085-1.563, antep fıstığı için p = 0.005, OR: 1.232,% 95 CI: 0.996- 1.522, kaju fıstığı için p = 0.054].

**Tablo 4a.** Antep fıstığı ile reaktiviteyi öngörecekt faktörler (OPT veya son 12 ay içerisindeki kazara maruziyet sonrasında anafilaksi)

	Tek Değişkenli			Çok Değişkenli		
	OR	% 95 CI	p	OR	% 95 CI	p
Cinsiyet	0.515	0.184-1.443	<b>0.207</b>			
AF DPT (mm)	1.346	1.152-1.573	<b>&lt;0.001</b>	1.302	1.085-1.563	<b>0.005</b>
AF sIgE	1.011	0.991-1.032	0.275			
AF sIgE/Total IgE	61.582	0.163-23226.674	<b>0.173</b>			
Eozinofil sayısı	1.000	0.999-1.001	0.760			
Kazara tüketim sonrasında anafilaksi hikayesi	4.180	1.113-15.419	<b>0.032</b>			
İndeks reaksiyon sırasındaki yaşı	0.974	0.926-1.025	0.320			
Kuruyemiş dışında besin alerjisi	0.550	0.202-1.149	0.242			
Atopik Dermatit	0.905	0.314-2.603	0.853			
Astım	0.828	0.300-2.289	0.717			
Alerjik rinit	0.353	0.073-1.706	<b>0.195</b>			
Ailede atopi varlığı	1.025	0.358-2.938	0.963			
Polen sensitizasyonu	0.604	0.143-2.556	0.493			

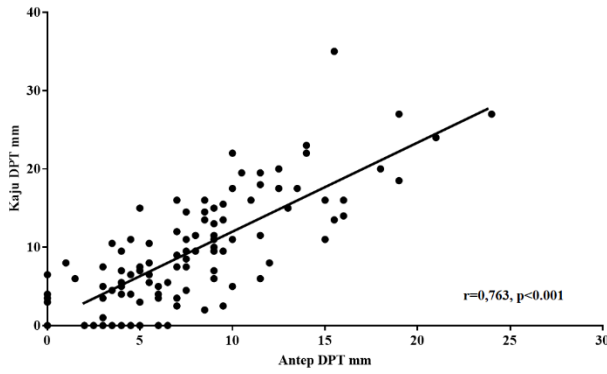
**Tablo 4b.** Kaju ile reaktiviteyi öngörecekt faktörler (OPT veya son 12 ay içerisindeki kazara maruziyet sonrasında anafilaksi)

	Tek Değişkenli			Çok Değişkenli		
	OR	% 95 CI	p	OR	% 95 CI	p
Cinsiyet	3.301	0.079-1.149	<b>0.079</b>			
Kaju DPT (mm)	1.320	1.118-1.558	<b>0.001</b>	1.232	0.996-1.522	<b>0.054</b>
Kaju sIgE (kU/L)	1.037	1.003-1.072	<b>0.031</b>			
Kaju sIgE/Total IgE	3557559 514545, 608	1218,638- 1038555282 4862757000 000,000	<b>0.009</b>			
Eozinofil sayısı	1.000	0.999-1.001	0.983			
Kazara tüketim sonrasında anafilaksi hikayesi	5.714	0.532-61.410	0.150			
İndeks reaksiyon sırasındaki yaşı	0.986	0.955-1.017	0.374			
Kuruyemiş dışında besin alerjisi	0.596	0.169-2.109	0.422			
Atopik Dermatit	3.080	0.596-15.919	<b>0.179</b>			
Astım	0.809	0.224-2.291	0.746			
Alerjik rinit	0.278	0.032-2.437	0.248			
Ailede atopi varlığı	2.083	0.544-7.979	0.284			
Polen sensitizasyonu	2.969	0.628-14.026	<b>0.170</b>			

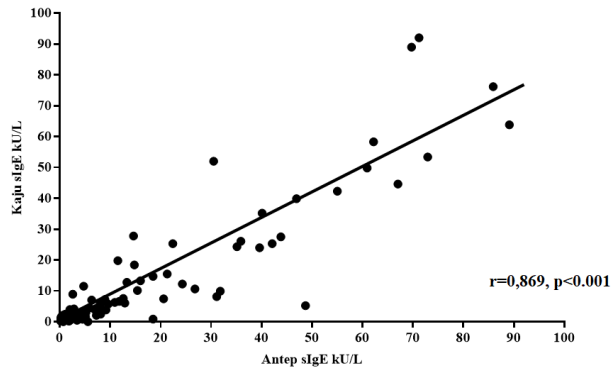
### **Antep fıstığı, kaju, diğer kuruyemişler, mango, limon çekirdeği, portakal çekirdeği ve polenler arasındaki ko-sensitizasyon**

Tüm hastalara diğer ağaç kuruyemişler, yer fıstığı, mango, limon çekirdeği, portakal çekirdeği ve polenle (çayır, ot ve ağaç polenleri) DPT yapıldı. Antep fıstığı ve kaju fıstığı arasında DPT boyutları ( $p < 0.001$ , Spearman rho = 0.763) ve sIgE değerleri ( $P < 0.001$ , Spearman's rho = 0.869) açısından kuvvetli ve istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardı (Şekil 6). Ayrıca, antep fıstığı ve kabak çekirdeği arasında ( $p = 0.010$ ) ve antep fıstığı ile fındık ( $p = 0.026$ ) arasında anlamlı bir ko-sensitizasyon belirlendi. Bununla birlikte, ko-sensitizasyon, kaju ve diğer kuruyemişler arasında da

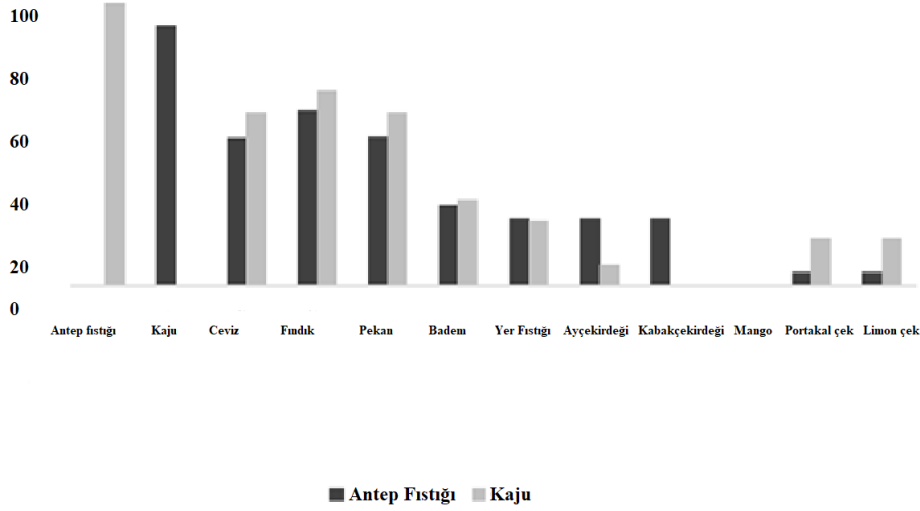
belirlendi (ceviz için  $p = 0.003$ , fındık için  $p = 0.001$ , pekan için  $p = 0.0016$ , ayçiçeği tohumu için  $p = 0.019$ , kabak çekirdeği için  $p = 0.012$ ). Fındık, antep fıstığı ve kaju ile en fazla duyarlılık gösteren kuruyemişti (antep fıstığı ile % 63.6, kaju ile %67.7). Polenler ile DPT 81 katılımcıya yapıldı ve 27 çocukta duyarlılık saptandı. Antep fıstığı ( $p = 0.495$ ) ve kaju ( $p = 0.167$ ) 'ya karşı reaktif olan kişilerde polen duyarlılığı açısından fark yoktu (Tablo 3). Mango, limon çekirdeği ve portakal çekirdeği ile DPT uygulanan 27 hastayla antep fıstığı ve kaju ilişkisini de değerlendirdik (Şekil 7). Portakal çekirdeğine ( $p = 0.015$ , Spearman'ın  $\rho = 0.463$ ) ve limon çekirdeğine ( $p = 0.014$ , Spearman'ın  $\rho = 0.469$ ) olan duyarlılaşma kajuda antep fıstığına göre anlamlı olarak daha yüksekti. Hastalardan birinde ise portakal çekirdeğini çiğnendikten hemen sonra dudaklarında şişlik, ağız çevresindeki ürtiker, nefes darlığı ve öksürük görüldü.



**Şekil 6a.** Antep Fıstığı ve Kaju DPT çaplarının korelasyonu



**Şekil 6b.** Antep Fıstığı ve Kaju spesifik IgE düzeylerinin korelasyonu

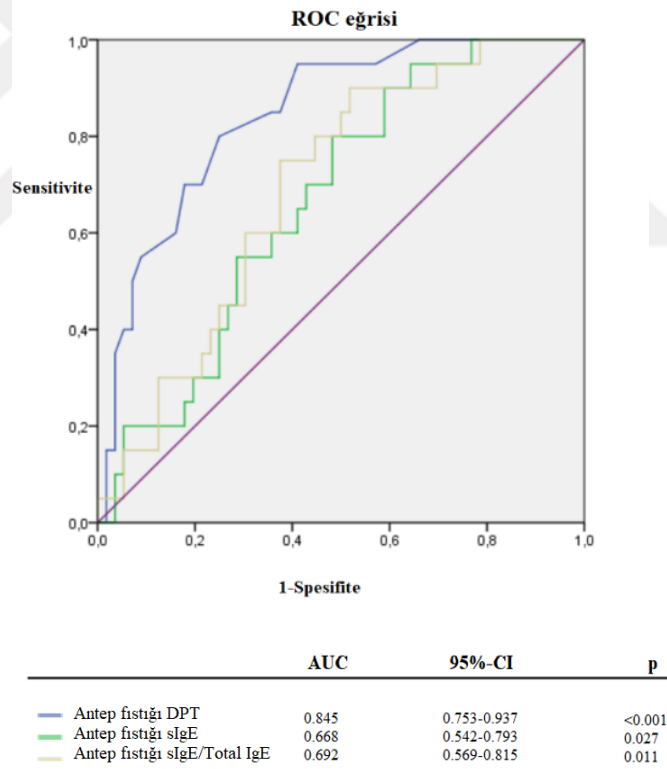


**Şekil 7.** Antep Fıstığı ve Kaju duyarlı hastaların diğer kuruyemişler, mango, limon ve portakal çekirdekleriyle olan sensitizasyonu (Siyah çubuk, antep fıstığı duyarlı hastaları; gri çubuk ise kaju duyarlı olanları temsil etmektedir)

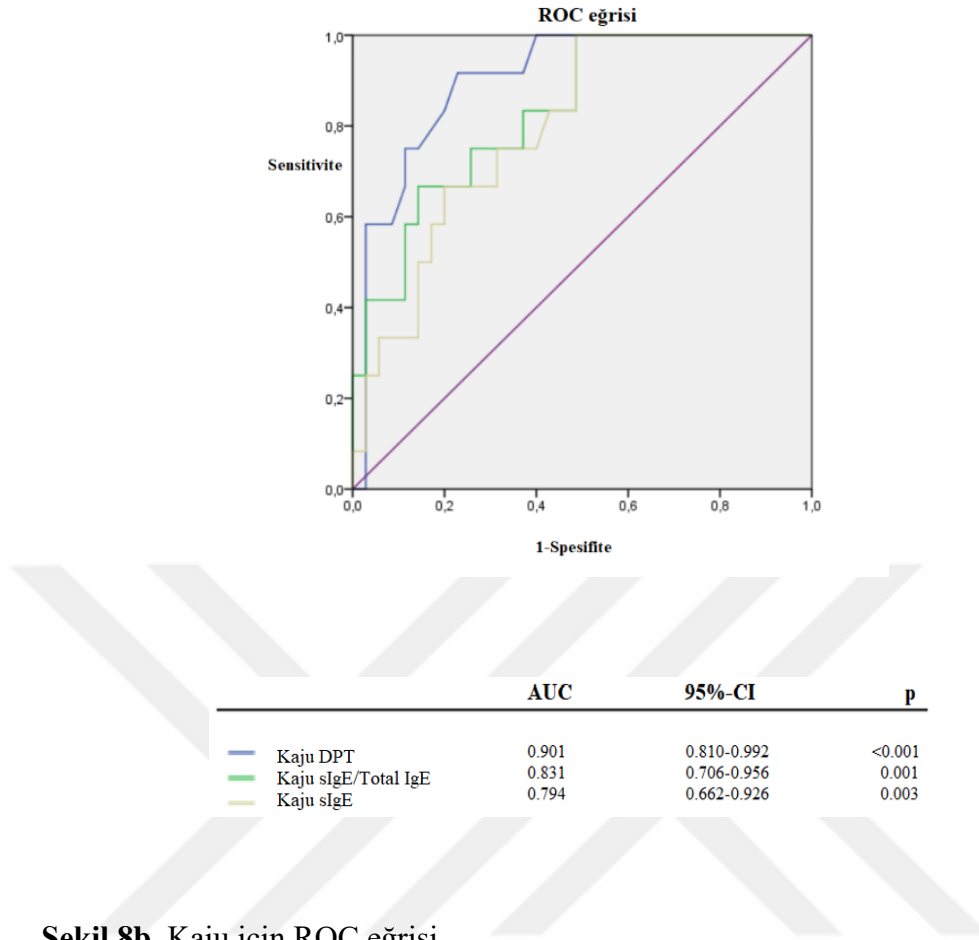
#### **Klinik reaksiyonu tahmin edecek olan antep fıstığı ve kaju sIgE, SPT ve sIgE / Total IgE oranı kesme değerleri ve olasılık eğrileri**

Alerjiyi ve toleransı belirlemek için sIgE değerlerini, DPT boyutları ve sIgE / Total IgE oranlarının tanısal doğruluğunu tahmin etmek için ROC eğrisi analizini kullandık (Şekil 8). Antep fıstığı (eğri altındaki alan (AUC) = 0.865,  $p < 0.001$ ) ve kaju (AUC = 0.901,  $p < 0.001$ ) için DPT ölçümü reaktif olan ve olmayanlar arasındaki ayırım için en doğru belirleyici olarak bulundu (Şekil 8). Öte yandan, sIgE / Total IgE oranı, ROC eğrisi analizine göre hem antep fıstığı hem de kaju için klinik reaktivite tahmininde sadece sIgE değerlerine göre daha belirleyiciydi (Şekil 8). Kesim değerleri, her parametre için en yüksek hassasiyet ve özgüllük değerlerinin (Youden indeksi) toplamı ile hesaplandı. Antep fıstığı için DPT, sIgE ve sIgE / Total IgE oranlarının tahmini kesme değerleri sırasıyla 7.25 mm, 4.14 kU / L ve % 1.32 idi. Kaju için klinik reaktiviteyi öngören eşik değerler de hesaplandı ve SPT 6.25 mm, sIgE 1.125 kU / L, sIgE / Total IgE oranı % 3.30 olarak bulundu. Antep fıstığı ve kaju SPT, sIgE ve sIgE / Total IgE oranı için duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerler tanımlandı. Ancak sonuçlar, hem antep fıstığı (Tablo 5) hem de kaju (Tablo 5) için DPT en iyisiydi. Antep fıstığı DPT eşik değeri % 81.8 duyarlılık, % 75.4

özgüllük, % 54.5 pozitif prediktif değer (PPD) ve % 92 negatif prediktif değere (NPD) sahipti. Bu değerlerle karşılaştırıldığında kaju DPT için %92.3 duyarlılık, %78,9 özgüllük, %60 PPD ve %96,8 NPD antep fıstığına göre daha iyiydi. Olasılık eğrileri, lojistik regresyon modeline dayanan antep fıstığı ve kaju DPT çaplarının her bir değeri için klinik reaktiviteyi tahmin etmek için oluşturuldu (Şekil 9). Bununla birlikte, antep fıstığı sIgE ve sIgE / Total IgE oranları için klinik reaktivite olasılığı hesaplanırken % 95 olasılığa ulaşılamamıştır. Diğer taraftan, antep fıstığı ve kaju DPT değerleri ve aynı zamanda kaju için sIgE / Total IgE oranı, % 50 ve % 95 olasılıkla klinik reaktiviteyi başarılı bir şekilde tahmin etmiştir. DPT düzeyleri için % 50 olasılıktaki klinik reaktivite antep fıstığı için 11.2 mm, kaju fıstığı için 11.25 mm, antep fıstığı için % 95 olasılıkla 21.2 mm ve kaju için 21.25 mm olarak öngörmüştür (Şekil 9).



**Şekil 8a.** Antep fıstığı için ROC eğrisi



**Şekil 8b.** Kaju için ROC eğrisi

(ROC; Receiver operating characteristics, AUC; Area under curve, CI; confidential interval)

**Tablo 5.** Klinik reaktiviteyi öngörebilecek Antep Fıstığı DPT, spesifik IgE ve sIgE/Total IgE oranları için farklı kesim değerleri

a) Antep Fıstığı DPT için kesim değerleri

DPT mm	Sensitivite (%)	Spesifisite (%)	(PPD) (%)	NPD (%)
5.25 mm	95.5	57.4	44.7	97.2
5.75 mm	95.5	60.7	46.7	97.4
6.25 mm	86.4	63.9	46.3	92.9
6.75 mm	86.4	65.6	47.5	93.0
7.0 mm	85.7	65.6	46.2	93.0
<b>7.25 mm</b>	<b>81.8</b>	<b>75.4</b>	<b>54.5</b>	<b>92.0</b>
7.75 mm	72.7	78.7	55.2	88.9

8.25 mm	72.7	82	59.3	89.3
8.75 mm	63.6	85.2	60.9	86.7

PPD; Pozitif Prediktif Değer, NPD; Negatif Prediktif Değer

**b) Antep Fıstığı sIgE için kesim değerleri**

sp IgE (kU/L)	Sensitivite (%)	Spesifisite (%)	PPD (%)	NPD (%)
1.71 kU/L	90.9	38.3	35.1	92.0
2.13 kU/L	86.4	41.7	35.2	89.3
2.37 kU/L	86.4	43.3	35.8	89.7
3.26 kU/L	77.3	48.3	35.4	85.3
3.53 kU/L	77.3	50.0	36.2	85.7
3.76 kU/L	77.3	51.7	37.0	86.1
<b>4.14 kU/L</b>	<b>77.3</b>	<b>53.3</b>	<b>37.8</b>	<b>86.5</b>
4.58 kU/L	72.7	53.3	36.4	84.2

PPD; Pozitif Prediktif Değer, NPD; Negatif Prediktif Değer

**c) Antep Fıstığı sp IgE/Total IgE oranı için kesim değerleri**

sp IgE/Total IgE (%)	Sensitivite (%)	Spesifisite (%)	PPD (%)	NPD (%)
1.25	90.0	44.6	36.7	92.6
1.30	90.0	46.4	37.5	92.9
<b>1.32</b>	<b>90.0</b>	<b>48.2</b>	<b>38.3</b>	<b>93.1</b>
1.61	80.0	55.4	39.0	88.6
1.89	75.0	58.9	39.5	86.8
2.01	75.0	60.7	40.5	87.2
2.09	75.0	62.5	41.2	87.5

PPD; Pozitif Prediktif Değer, NPD; Negatif Prediktif Değer

**Tablo 5.** Klinik reaktiviteyi öngörebilecek Kaju DPT, spesifik IgE ve sIgE/Total IgE oranları için farklı kesim değerleri

a) Kaju DPT için kesim değerleri

DPT mm	Sensitivite (%)	Spesifisite (%)	PPD (%)	NPD (%)
4.25 mm	100	60.5	46.4	100
4.75 mm	100	63.2	48.1	100
5.25 mm	92.3	65.8	48.0	96.2
5.75 mm	92.3	76.3	57.1	96.7
<b>6.25 mm</b>	<b>92.3</b>	<b>78.9</b>	<b>60.0</b>	<b>96.8</b>
6.75 mm	84.6	78.9	57.9	93.8
7.25 mm	76.9	81.6	58.8	91.2
8.00 mm	69.2	86.8	64.3	89.2
9.25 mm	69.2	89.5	69.2	89.5
10.25 mm	61.5	89.5	66.7	87.2
10.75 mm	53.8	92.1	70.0	85.4

PPD; Pozitif Prediktif Değer, NPD; Negatif Prediktif Değer

b) Kaju sIgE için kesim değerleri

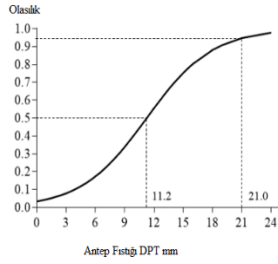
sp IgE (kU/L)	Sensitivite (%)	Spesifisite (%)	PPD (%)	NPD (%)
0.820	100	43.2	36.4	100
0.845	100	45.9	37.5	100
0.930	100	48.6	38.7	100
1.035	100	51.4	40.0	100
<b>1.125</b>	<b>100</b>	<b>54.1</b>	<b>41.4</b>	<b>100</b>
1.205	91.7	54.1	39.3	95.2
1.395	83.3	54.1	37.0	90.9
1.975	83.3	56.8	38.5	91.3
2.425	83.3	59.5	40.0	91.7
2.845	75.0	62.2	39.1	88.5

PPD; Pozitif Prediktif Değer, NPD; Negatif Prediktif Değer

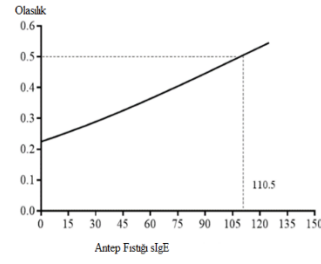
c) Kaju sp IgE/Total IgE oranı için kesim değerleri

sp IgE/Total IgE (%)	Sensitivite (%)	Spesifisite (%)	PPD (%)	NPD (%)
0.48	100	45.7	38.7	100
0.50	100	48.6	40.0	100
0.51	100	51.4	41.4	100
1.00	83.3	62.9	43.5	91.7
2.42	75.1	71.5	45.2	90.3
2.90	75.0	71.4	47.4	89.3
3.21	66.7	80.0	53.3	87.5
3.25	66.7	82.9	59.7	88.0
<b>3.30</b>	<b>66.7</b>	<b>85.7</b>	<b>61.5</b>	<b>88.2</b>
3.38	58.3	85.7	60.7	87.5
3.40	58.3	85.7	58.3	85.7

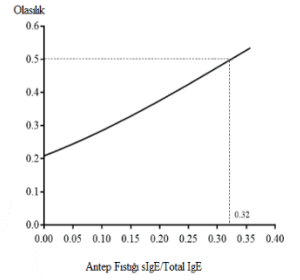
PPD; Pozitif Prediktif Değer, NPD; Negatif Prediktif Değer



Şekil 9a



Şekil 9b

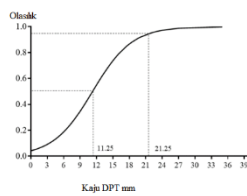


Şekil 9c

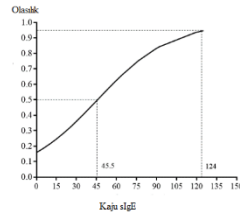
Şekil 9a. Antep fıstığı DPT değerlerinde klinik reaktivite için olasılık eğrisi, Şekil

9b. Antep fıstığı sIgE değerlerinde klinik reaktivite için olasılık eğrisi, Şekil 9c.

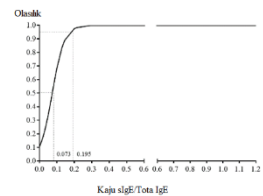
Antep fıstığı sIgE/Total IgE oranlarında klinik reaktivite için olasılık eğrisi



Şekil 9d



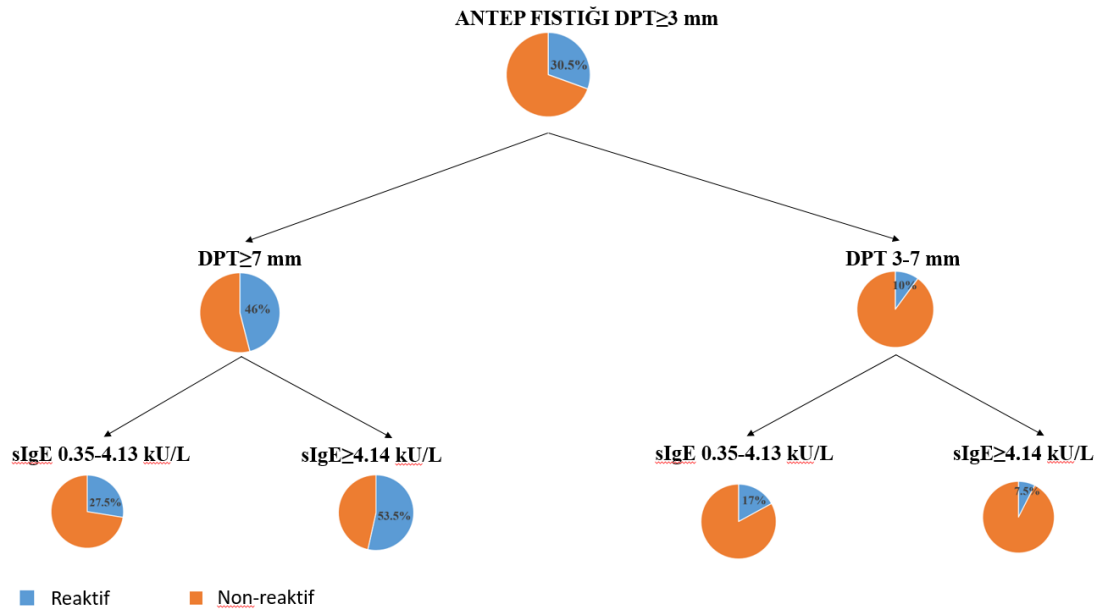
Şekil 9e



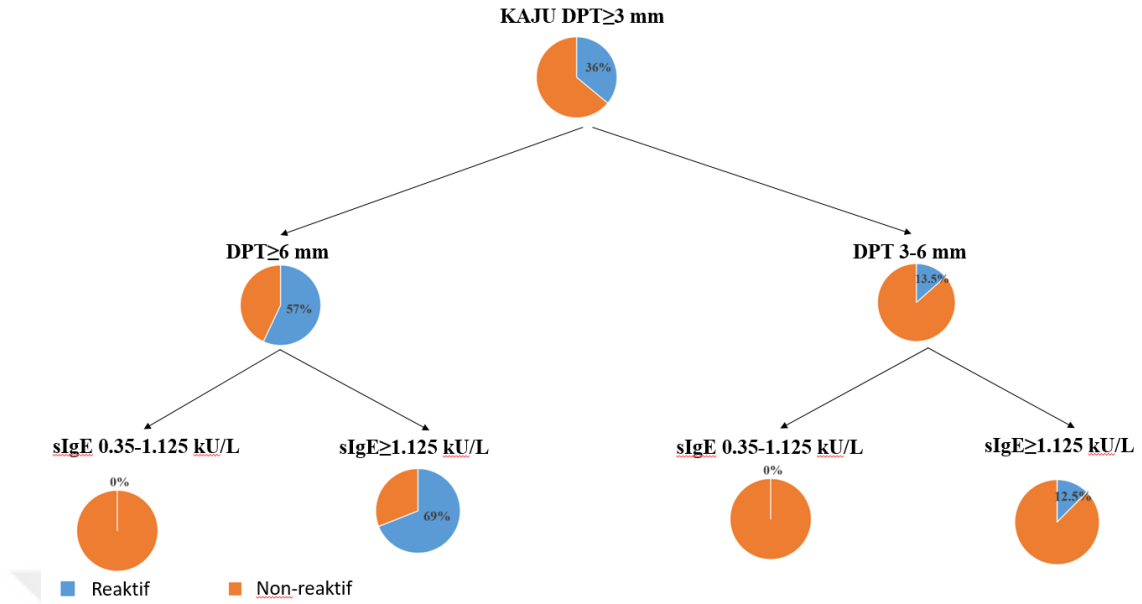
Şekil 9f

**Şekil 9d.** Kaju DPT değerlerinde klinik reaktivite için olasılık eğrisi, **Şekil 9e.** Kaju sIgE değerlerinde klinik reaktivite için olasılık eğrisi, **Şekil 9f.** Kaju sIgE/Total IgE oranlarında klinik reaktivite için olasılık eğrisi

Çalışma verileri ışığında provokasyon testine karar verirken hekimlere yol göstermesi amacıyla bir karar ağacı oluşturduk. Buna göre yine en fazla OPT pozitifliğine neden olan parametrenin hem antep fıstığı hem de kaju için DPT çapı olduğu görüldü (Şekil 10).



**Şekil 10a.** Antep Fıstığı için karar ağacı



**Şekil 10b.** Kaju için karar ağacı

### Antep fıstığı ve kaju alerjen bantlarının belirlenmesi

Pozitif antep fıstığı ve / veya kaju fıstığı SPT ve sIgE değerleri olan 11 hastanın serum örneklerinin Western Blot analizi, oral provokasyon testi sonuçlarına bakılmaksızın çalışıldı. Antep fıstığı ile sadece bir hasta OFC uygulanmadı; fakat bu hastanın da antep fıstığı tüketiminden sonra reaksiyon öyküsü vardı. Ayrıca, bir hastanın da kaju ile ne provokasyon testi ne de hikayede reaksiyonu yoktu. % 81.8 (n = 9) hastanın serumu 7 kDa moleküler ağırlıklı protein bandı, Pisv1, 2S albumin ile pozitif. 11 hastanın 7'sinin OPT'si antep fıstığı ile negatif, 3'ü ise pozitif. Hastaların serumları ile reaksiyona giren diğer protein bantları 32 kDa (% 63.6, n = 7), 25.7 kDa (% 36.3, n = 4), 36 kDa (% 45.5, n = 5) ve 55 kDa idi (% 9, n = 1) (Bunlar sırasıyla Pis v2 (11S globulin alt birimi), Pis v4 (Manganaz süperoksit dismutaz), Pis v5 (11S globulin alt birimi) ve Pis v3 (Vicillin) karşılık gelmektedir). Tüm hastaların serumlarında, Ana o3 (2S albumin) 'e karşılık gelen 14 kDa moleküler ağırlığına karşılık gelen protein bandı tespit edildi (Şekil 9). Antep fıstığı alerjisi olan üç hasta (% 27.3) ve antep fıstığına toleran olan 7 hasta (% 63.6) Ana o3 için pozitif bulunmuştur. Öte yandan, 11 hastanın 6'sı (% 54.5) kajuya non-reaktif, 4'ü reaktif (% 36.4), bir hastaya kaju ile provokasyon yapılmamıştı. Diğer kaju fıstığı protein bantları, Ana o2 (11S globulin) (72.7%, n = 8) ve Ana o1'e (% 36.3, n = 4) karşılık gelen 50 kDa'nın 33 kDa moleküler ağırlık alt birimi idi. Ayrıca, kaju fıstığı provokasyon testi pozitif olan tüm



## TARTIŞMA

Bu çalışma antep fıstığı ve kaju duyarlılığı olan çocukların klinik ve laboratuvar özelliklerini sunan kapsamlı bir çalışmadır. Sonuçlar, hem antep fıstığı hem de kaju için DPT boyutunun provokasyon testlerinde reaktivite tahmini için en iyi gösterge olduğunu ortaya koymuştur. Ek olarak, sIgE / Total IgE oranının OPT pozitifliğini sIgE değerlerinden daha iyi öngördüğü de gösterilmiştir. Antep fıstığı ve kaju için, DPT'nin çap büyüklükleri, sIgE değerleri ve klinik reaktiviteyi tahmin eden sIgE / Total IgE oranı için optimal eşik değerleri ve olasılık eğrileri oluşturulmuştur. Western Blot analizine dahil edilen 11 hastanın tümü, Anao3 için pozitif bulundu. Ancak bu bant hem antep fıstığı hem de kaju fıstığı için reaktif ve toleran hastaları ayırt edememiştir.

Kaju ve antep fıstığı, Anacardiaceae ailesine aittir ve bu iki kuruyemiş<sup>97</sup> arasında yüksek oranda çapraz reaktivite gözlenir. Bu nedenle her ikisi de genellikle aynı anda elimine edilir. Kliniğimizde hastalara DPT'de bir kuruyemiş paneli uygulamaktayız ve bunlardan birine duyarlılık gösteren çocuklarda hem antep fıstığını hem de kajuyu aynı anda elimine etmekteyiz. OPT toleransın veya gerçek alerjinin gösterilmesinde kullanılan tek geçerli ve altın standart yöntemdir<sup>98</sup>. Ancak, OPT sırasında ciddi reaksiyon riski vardır ve bu risk kuruyemişlerde diğer besinlerden daha fazla rapor edilmiştir<sup>99</sup>. Bu nedenle de OPT sırasında oluşabilecek reaksiyon riskini özellikle kuruyemişler için tahmin edebilecek parametrelerin belirlenmesi daha önemlidir. Son yıllarda, kaju OPT için klinik reaktiviteyi tahmin eden çalışmalar artmıştır<sup>100, 101</sup>. Ancak, ülkemizde yaygın olarak tüketilen bir kuruyemiş olan antep fıstığı ile ilgili raporlar oldukça kısıtlıdır.

Antep fıstığı ve kaju alerjisi hakkındaki bu çalışma, OPT geçiş başarısının sırasıyla % 35 ve % 54.5 olduğunu ortaya koymuştur. Daha önceki çalışmalarda, OPT'lerdeki geçiş başarısı oranının tüm kuruyemişler arasında en az kajuda olduğu<sup>102</sup> ve kaju için bu başarısızlığın % 13.7 ile % 21.4 arasında değiştiği gösterilmiştir<sup>102</sup>. Çalışmamızda, başarısızlık oranları antep fıstığı için % 14 ve kaju için % 18.75'dir. Ayrıca, hem antep fıstığı hem de kaju ile klinik reaksiyon ve anaflaksi öyküsü olan çocuklarda OPT pozitifliği daha sık görülmüştür. Benzer bir sonuç da Peterson ve arkadaşları tarafından<sup>103</sup> gösterilmiştir. Literatürde, kuruyemişler ve diğer besin

alerjilerinde en çok etkilenen organın deri olduğu belirtilmiştir <sup>104</sup>. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde hem antep fıstığı hem de kaju provokasyon testlerinde derinin en çok etkilenen organ olduğunu belirledik. Üstelik, grade 3 ve 4 sistemik reaksiyonlar, kaju OPT'lerde ve kaju ile klinik öyküsü olan hastalarda daha fazla olmuştur. Anafilaksi, tüm kuruyemişler arasında en yaygın kaju ile gözlemlenmiştir <sup>99, 104, 105</sup>. Ayrıca, kazara tüketim, kaju ile alerjik reaksiyonlar için bir risk faktörü olarak gösterilmiştir <sup>103</sup>. Literatür sonuçlarına benzer şekilde, yapılan araştırmalarda kajunun antep fıstığından daha şiddetli sistemik alerjik reaksiyonlara neden olduğunu belirledik. Ayrıca kaju ile OPT uyguladığımız bir hastada ağır anafilaksi gelişmiş olup yoğun bakım ünitesinde takip edilmiştir. Bu hasta antep fıstığını tolere etmektedir.

Bu çalışmada, kaju ve antep fıstığı OPT sırasında reaksiyon riskini öngören sIgE, SPT ve sIgE / Total IgE oranı için eşik değerleri saptandı. Kaju ve antep fıstığı için klinik reaktiviteyi öngören bazı eşik değerleri son raporlarda bildirilmiştir <sup>100, 102, 106</sup>. Von Ta ve ark. kuruyemişler, susam, yumurta ve inek sütü DPT'i için eşik değerini  $\geq 8$  mm, sIgE için ise 7 kU / L olarak belirlemiştir <sup>107</sup>. Ho ve ark ise kaju için DPT eşik değeri  $\geq 8$  mm olarak saptamış olup % 95'ten daha fazla oranda reaktiviteyi tahmin etmeyi başarmıştı <sup>108</sup>. Ancak aynı çalışmada kaju sIge için  $> 95$  doğruluk elde edilememiştir <sup>108</sup>. Ludman ve arkadaşları, çocuklarda kaju ve diğer kuruyemişler için klinik reaktiviteyi %67 oranında tahmin eden sIge değerini  $\geq 5$  kU / L olarak belirlenmiştir <sup>106</sup>. Kuruyemişler için eşik değerlerini belirlemeye yönelik daha detaylı bir çalışmada, kaju için pozitif öngörülen DPT değeri  $\geq 8$  mm ve antep fıstığı için ise DPT  $> 6$  mm olarak  $> 95$  olasılıkla tespit edilmiştir <sup>106</sup>. Couch ve arkadaşları tarafından yakın zamanda yayınlanan çalışmada ise, 156 kuruyemiş alerjisi olan çocukta <sup>102</sup>, 3 mm altında DPT boyutuna sahip olanlarda % 96 OPT başarısı olduğu gösterilmiştir <sup>102</sup>. Her kuruyemiş türü için % 50'lik negatif öngörülen değer Couch ve arkadaşları tarafından belirlenmiştir <sup>102</sup> ve antep fıstığı için bu değer 11 mm, kaju için yaklaşık 6.5 mm idi <sup>102</sup>. Son dönemde yayınlanan bir çalışmaya göre <sup>101</sup>, kaju için % 50 PPD 12.8 kU / L olarak ve % 95 PPD ise 149.5 kU / L olarak belirlenmiştir. Kaju ve antep fıstığı sIgE değerlerindeki bu belirgin farklılık Total IgE değerlerindeki farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle çalışmamızda sIgE/Total IgE oranlarıyla da analizler yaptık. Genel olarak bulduğumuz eşik değerleri, antep fıstığı için Couch'un <sup>102</sup> çalışmasının sonuçlarına benzer şekilde, kajudan biraz daha yüksekti.

Antep fıstığı için DPT ve sIgE değerleri sırasıyla 7.25 mm ve 4.14 kU / L olarak bulundu. Kaju DPT için değerler 6.25 mm, kaju sIgE için ise 1.12 kU / L idi. Bununla birlikte >% 95 pozitif eşik değeri ne fıstık ne de kaju fıstığıyla elde edilememiştir. Literatürde, antep fıstığı ve kaju DPT ve sIgE değerleri için farklı eşik değerleri belirlenmiştir. Raporların çoğunda DPT eşik değeri tüm kuruyemişler için 8 mm olarak kabul edilmesine rağmen, biz çalışmamızda biraz daha düşük eşik değerleri tespit ettik. DPT eşik değerleri ile ilgili raporlar genellikle antep fıstığı yerine kaju için tespit edilmiş olup antep fıstığı için sIgE ve özellikle sIgE / Total IgE oranı eşik değerleri belirlenmemiştir. Kaju için DPT ile ilgili birçok çalışma olmasına rağmen, sIgE ile ilgili rapor sayısı daha azdır. Kaju sIgE eşik değeri ile ilgili sınırlı sayıdaki raporda  $\geq 5$  kU / L <sup>106</sup> ve  $\geq 2$  kU / L <sup>102</sup> değerleri tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise sadece kaju ile ilgili değil aynı zamanda hakkında az bilgi bulunan antep fıstığı için de eşik değerleri bulmaya çalışılmıştır.

Antep fıstığı DPT ve kaju DPT çapları arasında, aynı zamanda antep fıstığı ve kaju sIgE değerleri arasında güçlü bir ilişki gösterdik. Daha önceki çalışmalarda da benzer bir ilişki gösterilmiştir <sup>109</sup>. Bu sonucun sebebi, bu iki kuruyemişin botanik olarak aynı aileye ait olmasıdır. Mango, Anacardiaceae familyasına ait olan diğer bir besindir ve bu nedenle, kajuya duyarlılık gösteren hastaların % 21'i mangoya karşı duyarlıdır <sup>78</sup>. Ancak, bu hastaların hiçbiri mango meyvesine reaktif olarak bulunmamıştır <sup>78</sup>. Mango ve kaju arasındaki ko-sensitizasyon daha çok mangonun pulpası değil çekirdeğiyle gösterilmiş olduğundan <sup>66</sup>, biz de mango ekstraktını mangonun çekirdeğine yakın olan etli kısımdan elde edilerek hazırladık. Önceki raporların aksine, mango ile kaju veya antep fıstığı arasında herhangi bir ko-sensitizasyonu bulunamamıştır. Ancak ko-sensitizasyon turunçgil tohumları ile kaju ve antep fıstığı arasında tespit edildi ve bu duyarlanma kaju ile limon ve portakal çekirdekleri arasında belirgin olup istatistiksel olarak daha yüksekti. Bu ilişkinin sebebi, Rosacea citrius ailesi ile Anacardiaceae arasındaki yakın ilişkidir <sup>110</sup>. Kuruyemişler ve turunçgiller arasında ko-sensitizasyon ile ilgili kapsamlı bir çalışmada, portakal çekirdeği ve kaju arasında kuvvetli bir korelasyon olduğunu, ve bunu antep fıstığı ile portakal çekirdeği arasındaki çapraz reaksiyonun takip ettiği gösterilmiştir <sup>111</sup>. Kaju alerjisi olan 6 yaşında bir erkek hastanın, bir mandalina çekirdeğini çiğnedikten sonra anafilaksi geliştirdiği bildirilmiştir <sup>111</sup>. Çalışmamızda

ise portakal çekirdeği çiğnemesinden sonra bir hastanın dudaklarında şişlik, ağız çevresindeki ürtiker, nefes darlığı ve öksürük gelişti. Turunçgillerden başka, fındık ve kaju arasındaki ılımlı korelasyonu fındık ve antep fıstığı arasındaki çapraz reaksiyon izledi. Goetz ve ark. tarafından yapılan çalışmada fındık, antep fıstığı ve kaju arasında benzer bir ilişki bildirilmiştir <sup>112</sup>.

Spesifik IgE'de yüksek total IgE seviyeleri nedeniyle yanlış yüksek pozitifler olabileceği iyi bilinmektedir <sup>113</sup>. Bu nedenle, sIgE / Total IgE oranını klinik reaktiviteyi öngörme açısından değerlendirdik. Gupta ve ark. OPT başarısını öngörmek için sIgE / Total IgE oranını incelemiştir <sup>114</sup>. Ayrıca, kuruyemiş alerjisi olan hastalarda tolerans gelişen hastalara göre daha yüksek sIgE / Total IgE oranı olduğunu gösterdiler <sup>114</sup>. Bu oran kuruyemişler ve yarfıstığı için OPT'deki reaktivitenin tahmin edilmesi için sadece sIgE değerlerine göre daha doğru olduğu bulunmuştur <sup>114</sup>. Çalışmamızda da, bu oranın alerjik kişilerde yüksek olduğunu ve ROC eğrisi analizine göre sadece sIgE değerlerinden daha değerli olduğunu gösterdik. Ne yazık ki, bu oran mevcut çalışmada antep fıstığı için >% 95 oranında reaktiviteyi tahmin edememiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre SPT, klinik reaktiviteyi öngörmeye tüm laboratuvar parametreleri arasında en iyisiydi.

Mevcut bildiriye en sık saptanan alerjik hastalık hem antep fıstığı hem de kaju alerjik çocuklarda AD idi. AD' in sıklıkla besin alerjileri ile ilişkili olduğu bilinmektedir <sup>115</sup>. Fleisher ve arkadaşları, AD ve kuruyemiş alerjileri arasında % 66 oranında birliktelik olduğunu göstermiştir <sup>25</sup> ve Sicherer ve arkadaşları, bu oranı kuruyemiş ve yarfıstığı alerjisi olan çocuklarda % 74 olarak belirlemiştir <sup>116</sup>. Ayrıca, AD ve kaju alerjisi birlikteliği % 75.8 olarak bulunmuştur <sup>101</sup>. Çalışmamızda, antep fıstığı alerjisi olan çocuklarda AD' in yaygınlığı % 66.7, kaju için % 84.6 olarak bulundu. Ayrıca kaju alerjisi olan çocuklarda antep fıstığı alerjisi olan çocuklardan daha fazla AD, daha şiddetli reaksiyon ve daha fazla OPT pozitifliği olduğunu gösterdik. Önceki çalışmalarda, AD ve besin provokasyon testlerindeki reaksiyonların şiddeti arasındaki ilişki belirlenmiştir <sup>103, 117</sup>. Daha şiddetli alerjik reaksiyonların kaju fıstığı alerjisi olan hastalarda görülmesinin nedeni bu hastalarda daha fazla AD birlikteliğinin olmasından kaynaklı olabilir.

Son on yılda kaju ve antep fıstığı OPT sırasında klinik reaktiviteyi tahmin eden alerjen protein bantlarıyla ilgili çalışmalar giderek artmaktadır. Kaju alerjisi olan hastaların% 81'inde Anao3 bandı tespit edilmiştir <sup>47</sup>. Son çalışmalar, Anao3'ün kaju alerjisi ve sadece duyarlılığı olan hastalar arasında net bir ayırım yapmak için en iyi parametre olduğunu göstermiştir <sup>91</sup>. Ancak biz çalışmamızda literatürün aksine, kajuya karşı tolerans veya reaktiviteye bakılmaksızın tüm hastalarda Anao3 tespit edildi. Lange ve arkadaşları, Anao3 sIgE'nin değerinin kaju ekstresi sIgE değerinden daha hassas olduğunu göstermiştir <sup>91</sup>. Anao3 sIgE'nin, kajuya alerjisi olanlarda sadece sensitizasyon olanlara göre istatistiksel olarak daha yüksek ve daha duyarlı olduğu bulunmuştur <sup>91</sup>. Ayrıca, Anao3 sIgE değerlerinin antep fıstığı alerjisi olan hastaların belirlenmesinde değerli olduğu gösterilmiştir <sup>100</sup>. Buna karşın, antep fıstığı alerjisi ve duyarlılığı olan hastalar arasında Anao3 bandı net bir ayırım yapamamıştır. Ancak bu çalışmada, Anao3 sIgE değerleri kantitatif olarak belirlenemedi ve Western Blot yöntemiyle sadece Anao3 antikörlerinin varlığı değerlendirildi. Daha önce yapılan bir çalışmada kajuya alerjisi olan hastaların % 62'sinin Anao2 için pozitif olduğu bildirilmiştir <sup>64</sup>. Kajuya duyarlı hastaların % 72.7'sinin ve dört adet kaju alerjisi olan hastanın Anao2 için pozitif olduğunu gözlemledik. Antep fıstığı alerjen protein bantları hakkında raporlar kajudan daha azdır. Antep fıstığı alerjen bantları üzerinde yapılan ayrıntılı bir çalışmada, antep fıstığı reaktif hastaların % 90.5'i Pisv5 için pozitif <sup>72</sup>. Bizim çalışmamızda, en sık pozitiflik Pisv1'de (% 81.8) bulundu ve bunu % 65.6 ile Pisv2 bandı izledi. Ek olarak, Pisv5 bandı sadece antep fıstığı duyarlı hastaların % 45.5'inde pozitif. Sonuç olarak, Anao3 bandının kaju / antep fıstığı duyarlı ve alerjik hastalar arasında güçlü ve net bir ayırım sağlayamadığını gördük. Ek olarak, bu bantların sadece pozitifliği klinik reaktiviteyi göstermek için yeterli değildir ve daha geniş çalışma gruplarında alerjen bantlarına spesifik IgE değerlerinin ölçümlerinin yapılması pozitif OPT tahminleri için yardımcı olabilir.

Mevcut çalışmanın verilerine göre, antep fıstığı ve kaju provokasyon testleri için pozitiflik riskini belirlemede doktorlara rehberlik edebilecek bir karar ağacı da oluşturduk. Sonuçlarımıza göre provokasyon pozitifliğinin belirlenmesinde, kaju ve antep fıstığı için DPT'nin en değerli parametre olduğunu gösterdik. Karar ağacında, provokasyon testlerindeki reaktivitenin yüzdesi en yüksek DPT kesme değerleri üzerinde çıkmıştır. Antep fıstığı ve kaju sIgE değerlerinin DPT kadar provokasyon

pozitifliğini artırmadığı da gözlenmiştir. Ancak, bu veriler ve oluşturulan karar ağacının daha ileri çalışmalar ile doğrulanması gerekmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada, antep fıstığı ve kaju duyarlılığı olan çocuklarda OPT sırasında klinik ve laboratuvar özellikleri ve alerjik reaksiyonu öngören parametreler gösterilmiştir. Önceki yıllarda, özellikle anaflaksisi olan kaju ve antep fıstığı ile alerjik reaksiyon gösteren hastalarda OPT'nin daha dikkatli yapılması gerektiğini belirtmekteyiz. DPT boyutu, hem antep fıstığı hem de kaju için reaktiviteyi tahmin eden en iyi parametredir. sIgE / Total IgE oranı ve ardından sIgE değeri, klinik reaktivitenin belirlenmesinde kullanılan diğer değerli tanısal testlerdir. Antep fıstığı ve kaju için doğru OPT zamanına karar verirken DPT, sIgE ve sIgE / Total IgE oranı için belirlenen eşik değerleri ve olasılık eğrilerinin kullanımını öneriyoruz. Günümüzde, alerjen protein bantlarını ortaya koyan popüler testler olan Western blot çalışmaları, OPT'de reaktivite öngörüsü için hastanın kliniği ve deri prik testleri kadar henüz güvenilir değildir.

## KAYNAKLAR

1. Tawde PD. Allergenic Cross-Reactivity between Cashew and Pistachio Nuts. 2004.
2. Tang ML, and Mullins RJ. Food allergy: is prevalence increasing? Internal medicine journal 2017; 47:256-261.
3. Prescott SL, Pawankar R, Allen KJ, et al. A global survey of changing patterns of food allergy burden in children. World Allergy Organization Journal 2013; 6:21.
4. Osborne NJ, Koplin JJ, Martin PE, et al. Prevalence of challenge-proven IgE-mediated food allergy using population-based sampling and predetermined challenge criteria in infants. Journal of Allergy and Clinical Immunology 2011; 127:668-676. e662.
5. Nowak-Wegrzyn A, and Sampson HA. Adverse reactions to foods. Medical Clinics 2006; 90:97-127.
6. Sampson HA. Food allergy. Part 1: immunopathogenesis and clinical disorders. Journal of Allergy and Clinical Immunology 1999; 103:717-728.
7. Soothill J, Stokes C, Turner M, et al. Predisposing factors and the development of reagenic allergy in infancy. Clinical & Experimental Allergy 1976; 6:305-319.
8. Husby S, Foged N, Høst A, et al. Passage of dietary antigens into the blood of children with coeliac disease. Quantification and size distribution of absorbed antigens. Gut 1987; 28:1062-1072.
9. Sudo N, Sawamura S-a, Tanaka K, et al. The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. The Journal of Immunology 1997; 159:1739-1745.
10. Lack G, Fox D, Northstone K, et al. Factors associated with the development of peanut allergy in childhood. New England Journal of Medicine 2003; 348:977-985.
11. Eigenmann PA. Mechanisms of food allergy. Pediatric Allergy and Immunology 2009; 20:5-11.
12. Longo G, Berti I, Burks AW, et al. IgE-mediated food allergy in children. The Lancet 2013; 382:1656-1664.

13. Caubet JC, Ford LS, Sickles L, et al. Clinical features and resolution of food protein–induced enterocolitis syndrome: 10-year experience. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2014; 134:382-389. e384.
14. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, et al. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy* 2014; 69:1008-1025.
15. Bischoff S, and Crowe SE. Gastrointestinal food allergy: new insights into pathophysiology and clinical perspectives. *Gastroenterology* 2005; 128:1089-1113.
16. Charlesworth E, Hood A, Soter N, et al. Cutaneous late-phase response to allergen. Mediator release and inflammatory cell infiltration. *Journal of Clinical Investigation* 1989; 83:1519.
17. Valenta R, Hochwallner H, Linhart B, et al. Food allergies: the basics. *Gastroenterology* 2015; 148:1120-1131. e1124.
18. Chu DK, Jimenez-Saiz R, Verschoor CP, et al. Indigenous enteric eosinophils control DCs to initiate a primary Th2 immune response in vivo. *Journal of experimental medicine* 2014; 211:1657-1672.
19. Campana R, Mothes N, Rauter I, et al. Non-IgE mediated chronic allergic skin inflammation revealed with rbet v 1 fragments. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2008; 63:338.
20. Gupta RS, Springston EE, Warrier MR, et al. The prevalence, severity, and distribution of childhood food allergy in the United States. *Pediatrics* 2011;peds. 2011-0204.
21. Bock SA, Muñoz-Furlong A, and Sampson HA. Fatalities due to anaphylactic reactions to foods. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2001; 107:191-193.
22. Turner PJ, Gowland MH, Sharma V, et al. Increase in anaphylaxis-related hospitalizations but no increase in fatalities: an analysis of United Kingdom national anaphylaxis data, 1992-2012. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2015; 135:956-963. e951.
23. Liew WK, Williamson E, and Tang ML. Anaphylaxis fatalities and admissions in Australia. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2009; 123:434-442.

24. Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, et al. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the united states: summary of the NIAID-sponsored expert panel report. *J Am Acad Dermatol* 2011; 64:175-192.
25. Fleischer DM, Conover-Walker MK, Matsui EC, et al. The natural history of tree nut allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2005; 116:1087-1093.
26. Clark AT, and Ewan PW. The development and progression of allergy to multiple nuts at different ages. *Pediatric allergy and immunology* 2005; 16:507-511.
27. McWilliam V, Koplin J, Lodge C, et al. The prevalence of tree nut allergy: a systematic review. *Current allergy and asthma reports* 2015; 15:54.
28. De Leon M, Drew A, Glaspole I, et al. IgE cross-reactivity between the major peanut allergen Ara h 2 and tree nut allergens. *Molecular immunology* 2007; 44:463-471.
29. Pastorello EA, Pravettoni V, Trambaioli C, et al. Lipid transfer proteins and 2S albumins as allergens. *Allergy* 2001; 56:45-47.
30. Hoffmann-Sommergruber K. Plant allergens and pathogenesis-related proteins. *International archives of allergy and immunology* 2000; 122:155-166.
31. Kleine-Tebbe J, Wangorsch A, Vogel L, et al. Severe oral allergy syndrome and anaphylactic reactions caused by a Bet v 1-related PR-10 protein in soybean, SAM22. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2002; 110:797-804.
32. Wensing M, Akkerdaas JH, van Leeuwen WA, et al. IgE to Bet v 1 and profilin: cross-reactivity patterns and clinical relevance. *Journal of allergy and clinical immunology* 2002; 110:435-442.
33. Ebo D, Hagendorens M, Bridts C, et al. Sensitization to cross-reactive carbohydrate determinants and the ubiquitous protein profilin: mimickers of allergy. *Clinical & Experimental Allergy* 2004; 34:137-144.
34. Roux KH, Teuber SS, and Sathe SK. Tree nut allergens. *International archives of allergy and immunology* 2003; 131:234-244.

35. Dunwell JM. Cupins: a new superfamily of functionally diverse proteins that include germins and plant storage proteins. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* 1998; 15:1-32.
36. Casey R. Distribution and some properties of seed globulins. *Seed proteins* 1999:159-169.
37. Breiteneder H, and Ebner C. Atopic allergens of plant foods. *Current opinion in allergy and clinical immunology* 2001; 1:261-267.
38. Yagami T, Haishima Y, Nakamura A, et al. Digestibility of allergens extracted from natural rubber latex and vegetable foods. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2000; 106:752-762.
39. Diaz-Perales A, Collada C, Blanco C, et al. Cross-reactions in the latex-fruit syndrome: A relevant role of chitinases but not of complex asparagine-linked glycans. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1999; 104:681-687.
40. Hirschwehr R, Valenta R, Ebner C, et al. Identification of common allergenic structures in hazel pollen and hazelnuts: a possible explanation for sensitivity to hazelnuts in patients allergic to tree pollen. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1992; 90:927-936.
41. Ferreira F, Hawranek T, Gruber P, et al. Allergic cross-reactivity: from gene to the clinic. *Allergy* 2004; 59:243-267.
42. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, et al. Lipid transfer protein: a pan-allergen in plant-derived foods that is highly resistant to pepsin digestion. *International archives of allergy and immunology* 2000; 122:20-32.
43. Egger M, Hauser M, Mari A, et al. The role of lipid transfer proteins in allergic diseases. *Current allergy and asthma reports* 2010; 10:326-335.
44. Sancho AI, Van Ree R, Van Leeuwen A, et al. Measurement of lipid transfer protein in 88 apple cultivars. *International archives of allergy and immunology* 2008; 146:19-26.
45. Fernández-Rivas M, Bolhaar S, González-Mancebo E, et al. Apple allergy across Europe: how allergen sensitization profiles determine the clinical expression of allergies to plant foods. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2006; 118:481-488.

46. Moreno FJ, and Clemente A. 2S albumin storage proteins: what makes them food allergens? *The open biochemistry journal* 2008; 2:16.
47. Robotham JM, Wang F, Seamon V, et al. Ana o 3, an important cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) allergen of the 2S albumin family. *Journal of allergy and clinical immunology* 2005; 115:1284-1290.
48. Barre A, Borges J-P, Culerrier R, et al. Homology modelling of the major peanut allergen Ara h 2 and surface mapping of IgE-binding epitopes. *Immunology letters* 2005; 100:153-158.
49. Teuber SS, Dandekar AM, Peterson WR, et al. Cloning and sequencing of a gene encoding a 2S albumin seed storage protein precursor from English walnut (*Juglans regia*), a major food allergen. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1998; 101:807-814.
50. Poltronieri P, Cappello M, Dohmae N, et al. Identification and characterisation of the IgE-binding proteins 2S albumin and conglutin  $\gamma$  in almond (*Prunus dulcis*) seeds. *International archives of allergy and immunology* 2002; 128:97-104.
51. Kleber-Janke T, Cramer R, Appenzeller U, et al. Selective cloning of peanut allergens, including profilin and 2S albumins, by phage display technology. *International archives of allergy and immunology* 1999; 119:265-274.
52. Yan Y-S, Lin X-D, Zhang Y-S, et al. Isolation of peanut genes encoding arachins and conglutins by expressed sequence tags. *Plant Science* 2005; 169:439-445.
53. Ahn K, Bardina L, Grishina G, et al. Identification of two pistachio allergens, Pis v 1 and Pis v 2, belonging to the 2S albumin and 11S globulin family. *Clinical & Experimental Allergy* 2009; 39:926-934.
54. Teuber SS, Jarvis KC, Dandekar AM, et al. Identification and cloning of a complementary DNA encoding a vicilin-like proprotein, Jug r 2, from English walnut kernel (*Juglans regia*), a major food allergen. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1999; 104:1311-1320.
55. Lauer I, Foetisch K, Kolarich D, et al. Hazelnut (*Corylus avellana*) vicilin Cor a 11: molecular characterization of a glycoprotein and its allergenic activity. *Biochemical Journal* 2004; 383:327-334.

56. Wang F, Robotham JM, Teuber SS, et al. Ana o 1, a cashew (*Anacardium occidentale*) allergen of the vicilin seed storage protein family. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2002; 110:160-166.
57. Viquez OM, Konan KN, and Dodo HW. Structure and organization of the genomic clone of a major peanut allergen gene, Ara h 1. *Molecular immunology* 2003; 40:565-571.
58. Tawde P, Venkatesh YP, Wang F, et al. Cloning and characterization of profilin (Pru du 4), a cross-reactive almond (*Prunus dulcis*) allergen. *Journal of allergy and clinical immunology* 2006; 118:915-922.
59. Müller U, Lüttkopf D, Hoffmann A, et al. Allergens in raw and roasted hazelnuts (*Corylus avellana*) and their cross-reactivity to pollen. *European Food Research and Technology* 2000; 212:2-12.
60. Barre A, Sordet C, Culerrier R, et al. Vicilin allergens of peanut and tree nuts (walnut, hazelnut and cashew nut) share structurally related IgE-binding epitopes. *Molecular immunology* 2008; 45:1231-1240.
61. Fæste CK, Christians U, Egaas E, et al. Characterization of potential allergens in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) using patient sera and MS-based proteomic analysis. *Journal of proteomics* 2010; 73:1321-1333.
62. Pastorello EA, Vieths S, Pravettoni V, et al. Identification of hazelnut major allergens in sensitive patients with positive double-blind, placebo-controlled food challenge results. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2002; 109:563-570.
63. Beyer K, Bardina L, Grishina G, et al. Identification of a new Brazil nut allergen-Ber e 2. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2008; 121:S247.
64. Wang F, Robotham JM, Teuber SS, et al. Ana o 2, a major cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut allergen of the legumin family. *International archives of allergy and immunology* 2003; 132:27.
65. Noorbakhsh R, Mortazavi SA, Sankian M, et al. Cloning, expression, characterization, and computational approach for cross-reactivity prediction of manganese superoxide dismutase allergen from pistachio nut. *Allergology International* 2010; 59:295-304.

66. Fernandez C, Fiandor A, Martinez-Garate A, et al. Allergy to pistachio: crossre activity between pistachio nut and other Anacardiaceae. *Clinical & Experimental Allergy* 1995; 25:1254-1259.
67. Ferdman RM, Ong PY, and Church JA. Pectin anaphylaxis and possible association with cashew allergy. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* 2006; 97:759-760.
68. Li H, Wang RQ, Cheng X, et al. Anaphylaxis to Pericarpium Zanthoxyli and Its Cross-Reactivity Between Nuts and Citrus. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2016; 137:AB143.
69. van der Valk JP, van Wijk RG, Dubois AE, et al. Multicentre double-blind placebo-controlled food challenge study in children sensitised to cashew nut. *PloS one* 2016; 11:e0151055.
70. Costa J, Silva I, Vicente AA, et al. Pistachio nut allergy: an updated overview. *Critical reviews in food science and nutrition* 2017:1-17.
71. AL-Saghir MG, and Porter DM. Taxonomic revision of the genus Pistacia L.(Anacardiaceae). *American Journal of Plant Sciences* 2011; 3:12.
72. Noorbakhsh R, Mortazavi SA, Sankian M, et al. Pistachio allergy-prevalence and in vitro cross-reactivity with other nuts. *Allergology International* 2011; 60:425-432.
73. Sicherer SH, Furlong TJ, Muñoz-Furlong A, et al. A voluntary registry for peanut and tree nut allergy: characteristics of the first 5149 registrants. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2001; 108:128-132.
74. Luyt DK, Vaughan D, Oyewole E, et al. Ethnic differences in prevalence of cashew nut, pistachio nut and almond allergy. *Pediatric Allergy and Immunology* 2016; 27:651-654.
75. Jeong K, Lee SY, Ahn K, et al. A multicenter study on anaphylaxis caused by peanut, tree nuts, and seeds in children and adolescents. *Allergy* 2017; 72:507-510.
76. Kaya A, Erkoçoğlu M, Civelek E, et al. Prevalence of confirmed IgE-mediated food allergy among adolescents in Turkey. *Pediatric Allergy and Immunology* 2013; 24:456-462.

77. Sicherer SH, Muñoz-Furlong A, Godbold JH, et al. US prevalence of self-reported peanut, tree nut, and sesame allergy: 11-year follow-up. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2010; 125:1322-1326.
78. Valk J, El Bouche R, van Wijk RG, et al. Low percentage of clinically relevant pistachio nut and mango co-sensitisation in cashew nut sensitised children. *Clinical and translational allergy* 2017; 7:8.
79. Willison L, Tawde P, Robotham J, et al. Pistachio vicilin, Pis v 3, is immunoglobulin E-reactive and cross-reacts with the homologous cashew allergen, Ana o 1. *Clinical & Experimental Allergy* 2008; 38:1229-1238.
80. Ayuso R, Grishina G, Ahn K, et al. Identification of a MnSOD-like protein as a new major pistachio allergen. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2007; 119:S115.
81. Beyer K, Grishina G, Bardina L, et al. Identification and cloning of 11S globulin, a new minor allergen from pistachio nut. submitted to the Allergen nomenclature sub-committee of the International Union of Immunological Societies, and to the EMBL/GenBank/DDBJ databases, <http://www.uniprot.org/uniprot/B7SLJ1> 2008.
82. Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, et al. Sensitization to the major allergen of Brazil nut is correlated with the clinical expression of allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1998; 102:1021-1027.
83. Goodman RE, Hefle SL, Taylor SL, et al. Assessing genetically modified crops to minimize the risk of increased food allergy: a review. *International archives of allergy and immunology* 2005; 137:153-166.
84. Finn RD, Coghill P, Eberhardt RY, et al. The Pfam protein families database: towards a more sustainable future. *Nucleic acids research* 2016; 44:D279-D285.
85. Shiraishi M, Ureshino K, and Shiraishi S. Phenotypic polymorphism for superoxide dismutase in grape. *Euphytica* 1996; 89:249-255.
86. Parra FM, Cuevas M, Lezaun A, et al. Pistachio nut hypersensitivity: identification of pistachio nut allergens. *Clinical & Experimental Allergy* 1993; 23:996-1001.

87. Shokraii EH, and Esen A. Composition, solubility and electrophoretic patterns of proteins isolated from Kerman pistachio nuts (*Pistacia vera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1988; 36:425-429.
88. Ologunde M, Omosebi M, Ariyo O, et al. Preliminary nutritional evaluation of cashew nuts from different locations in Nigeria. *Cont J Food Sci Technol* 2011; 5:32-36.
89. Van der Valk J, J Dubois A, Gerth van Wijk R, et al. Systematic review on cashew nut allergy. *Allergy* 2014; 69:692-698.
90. York M, Dunbar H, and Luyt D. Is ethnic background related to cashew nut allergy developing in children? A review of 241 children. *Clinical & Experimental Allergy* 2011; 41:1856-1857.
91. Lange L, Lasota L, Finger A, et al. Ana o 3-specific IgE is a good predictor for clinically relevant cashew allergy in children. *Allergy* 2017; 72:598-603.
92. Ito K, and Urisu A. Diagnosis of food allergy based on oral food challenge test. *Allergology international* 2009; 58:467-474.
93. Brożek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2010; 126:466-476.
94. Pedersen SE, Hurd SS, Lemanske RF, et al. Global strategy for the diagnosis and management of asthma in children 5 years and younger. *Pediatric pulmonology* 2011; 46:1-17.
95. Schneider L, Tilles S, Lio P, et al. Atopic dermatitis: a practice parameter update 2012. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2013; 131:295-299. e227.
96. Maloney J, and Nowak-Wegrzyn A. Educational clinical case series for pediatric allergy and immunology: allergic proctocolitis, food protein-induced enterocolitis syndrome and allergic eosinophilic gastroenteritis with protein-losing gastroenteropathy as manifestations of non-IgE-mediated cow's milk allergy. *Pediatric allergy and immunology* 2007; 18:360-367.
97. Valk J, Gerth van Wijk R, Flokstra-de Blok B, et al. No difference in health-related quality of life, after a food challenge with cashew nut in children

- participating in a clinical trial. *Pediatric Allergy and Immunology* 2016; 27:812-817.
98. Sicherer SH, and Sampson HA. Food allergy. *Journal of allergy and clinical immunology* 2010; 125:S116-S125.
  99. Nowak-Węgrzyn A, Assa'ad AH, Bahna SL, et al. Work Group report: oral food challenge testing. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2009; 123:S365-S383.
  100. Abrams EM, and Becker AB. Oral food challenge outcomes in a pediatric tertiary care center. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology* 2017; 13:43.
  101. Savvatanos S, Konstantinopoulos AP, Borgå Å, et al. Sensitization to cashew nut 2S albumin, Ana o 3, is highly predictive of cashew and pistachio allergy in Greek children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2015; 136:192-194.
  102. Inoue T, Ogura K, Takahashi K, et al. Risk Factors and Clinical Features in Cashew Nut Oral Food Challenges. *International archives of allergy and immunology* 2018.
  103. Couch C, Franxman T, and Greenhawt M. Characteristics of tree nut challenges in tree nut allergic and tree nut sensitized individuals. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* 2017; 118:591-596. e593.
  104. Pettersson M, Koppelman G, Flokstra-de Blok B, et al. Prediction of the severity of allergic reactions to foods. *Allergy* 2018.
  105. Davoren M, and Peake J. Cashew nut allergy is associated with a high risk of anaphylaxis. *Archives of disease in childhood* 2005; 90:1084-1085.
  106. O'B H, Harris H, Langton-Hewer S, et al. Clinical features of cashew allergy. *Allergy* 2001; 56:252-253.
  107. Ludman S, Ballabeni P, Eigenmann PA, et al. Predicting positive food challenges in children sensitised to peanuts/tree nuts. *Pediatric Allergy and Immunology* 2013; 24:276-281.
  108. Ho MH, Heine RG, Wong W, et al. Diagnostic accuracy of skin prick testing in children with tree nut allergy. *Journal of allergy and clinical immunology* 2006; 117:1506-1508.

109. Ling L, Ospina MB, Sideri K, et al. Retrospective analysis on the agreement between skin prick test and serum food specific IgE antibody results in adults with suspected food allergy. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology* 2016; 12:30.
110. Crespo J, Rodriguez J, James J, et al. Reactivity to potential cross-reactive foods in fruit-allergic patients: implications for prescribing food avoidance. *Allergy* 2002; 57:946-949.
111. O'Sullivan MD, and Somerville C. Cosensitization to orange seed and cashew nut. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* 2011; 107:282-283.
112. Goetz DW, Whisman BA, and Goetz AD. Cross-reactivity among edible nuts: double immunodiffusion, crossed immunoelectrophoresis, and human specific IgE serologic surveys. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* 2005; 95:45-52.
113. Horimukai K, Hayashi K, Tsumura Y, et al. Total serum IgE level influences oral food challenge tests for IgE-mediated food allergies. *Allergy* 2015; 70:334-337.
114. Gupta RS, Lau CH, Hamilton RG, et al. Predicting Outcomes of Oral Food Challenges by Using the Allergen-Specific IgE–Total IgE Ratio. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice* 2014; 2:300-305.
115. Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2001; 107:891-896.
116. Sicherer SH, Burks AW, and Sampson HA. Clinical features of acute allergic reactions to peanut and tree nuts in children. *Pediatrics* 1998; 102:e6-e6.
117. Roerdink EM, Flokstra-de Blok BM, Blok JL, et al. Association of food allergy and atopic dermatitis exacerbations. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* 2016; 116:334-338.