

## Przydatność oznaczania tryptazy w surowicy krwi w ocenie testu prowokacji u pacjentów z alergią pokarmową

### The usefulness of the tryptase estimation in serum in the assessment of food challenge in patients with food allergy

ZBIGNIEW BARTUZI, JACEK MUĆKA, MAGDALENA ŻBIKOWSKA-GOTZ, ANDRZEJ DZIEDZICZKO

Katedra i Klinika Alergologii i Chorób Wewnętrznych Szpitala Wojewódzkiego Collegium Medicum im. L. Rydgieira w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. Ujejskiego 75, 85-168 Bydgoszcz

**Wprowadzenie.** Obiektywne ustalenie rozpoznania alergii pokarmowej jest trudne i często wymaga wykonania prób prowokacyjnych. Dla zobiektywizowania ich oceny, próbuje łączyć się ich wykonanie z równoległym oznaczaniem niektórych markerów reakcji alergicznej w surowicy lub moczu.

**Cel pracy.** Celem badań było sprawdzenie przydatności oznaczania stężenia tryptazy – głównego enzymu zlokalizowanego w ziarnistościach komórek tucznych, dla oceny testu prowokacji alergenem pokarmowym metodą podwójnie ślepej, kontrolowanej placebo prowokacji (*Double Blind Placebo Controlled Food Challenge* – DBPCFC) u chorych z nadwrażliwością typu alergicznego na pokarmy.

**Materiał i metody.** Grupę badaną stanowiło 9 chorych z dobrze udokumentowaną IgE-zależną alergią na pokarmy, a grupę kontrolną 7 osób z dyspepsją. U wszystkich pacjentów przeprowadzono test prowokacji. Stężenie tryptazy w surowicy oznaczano metodą FEIA na automatycznym analizatorze UNICAP100. Oznaczenia prowadzono przed i po 90 minutach od zakończenia DBPCFC.

**Wyniki.** Wartości wyjściowe stężeń tryptazy w grupie badanej i kontrolnej nie wykazywały istotnych różnic statystycznych. Nie stwierdzono istotnych zmian stężeń tryptazy po prowokacji pokarmowej.

**Wnioski.** Wyniki badania potwierdzają, że pomiar stężenia tryptazy w surowicy nie jest przydatny w ocenie testu prowokacji pokarmowej. *Alergia Astma Immunologia, 2004, 9(4), 204-208*

**Słowa kluczowe:** *alergia pokarmowa, tryptaza, DBPCFC*

**Introduction.** Variability of symptoms and signs make the diagnosis of food allergy in adults difficult. The gold standard for the diagnosis of food intolerance remains a double blind placebo controlled food challenge (DBPCFC). The provocation tests (including DBPCFC), may be combined with estimation of mediators of allergic reaction in serum or in urine.

**Aim of the study.** The aim of the study was to assess the clinical usefulness of measurement of tryptase in serum in diagnosing of the food allergy by DBPCFC.

**Material and methods.** DBPCFC was conducted in 9 patients with food allergy and 7 non-allergic controls. The concentration of tryptase in the serum before and 90 min. after provocation was measured on the automatic UNICAP100 analyser.

**Results.** Tryptase levels before the challenge were similar in allergic and control patients. After food challenges the tryptase concentrations did not change significantly.

**Conclusions.** The concentration of tryptase in serum is not useful marker for the diagnosis of food allergy.

*Alergia Astma Immunologia, 2004, 9(4), 204-208*

**Key words:** *food allergy, tryptase, DBPCFC*

Obserwowany w ostatnich kilkadziesiąt latach ogromny wzrost chorób o podłożu alergicznym w znacznym stopniu dotyczy również schorzeń, u podstaw których leży nadwrażliwość alergiczna na pokarmy. Według dostępnych danych częstość występowania alergii na pokarmy oceniana jest u dzieci na około 5-6%, w populacji osób dorosłych na poziomie 1,9-2,4%, zaś nietole-

rancji dodatków do pokarmów w zakresie od 0,01% do 0,23% [1]. Mimo braku precyzyjnych raportów epidemiologicznych z poszczególnych regionów, w tym z Polski, nie ulega wątpliwości, że spostrzega się stały wzrost narastania częstości alergii pokarmowej, zarówno u dzieci, jak i dorosłych.

Cechą charakterystyczną alergenów pokarmowych jest ich zdolność do wyzwalania ostrych, względnie przewlekłych zaburzeń chorobowych w licznych narządach i tkankach. W większości przypadków pierwsze objawy alergii pokarmowej pojawiają się u małych dzieci nadwrażliwych na białka mleka krowiego. Historia alergii pokarmowej rozpoczyna się najczęściej, jakkolwiek nie zawsze, w pierwszym okresie życia, choć pierwsze objawy mogą pojawić się także w wieku dojrzałym i być pierwszą manifestacją alergii. W 400-osobowej grupie chorych opisanych przez Wuetricha i wsp., w 70% przypadków stwierdzono wystąpienie pierwszych objawów alergii między 11 a 40. rokiem życia [2].

Występowanie objawów ze strony różnych narządów i układów jest typowe dla alergii pokarmowej u młodzieży i osób dorosłych. Obiektywne ustalenie właściwego rozpoznania bywa niekiedy trudne i często bywa możliwe tylko dzięki wnikliwej i krytycznej łącznej analizie danych, uzyskanych na podstawie: wywiadów, testów skórnych, badań immunologicznych, diet eliminacyjnych i prób prowokacji. Wśród metod powszechnie stosowanych w rozpoznawaniu alergii na pokarmy są testy skórne. Ich czułość i swoistość jest różna, zależna od rodzaju testowanego alergenu. Zatem wynik ujemny nie daje pewności, że dany alergen pokarmowy nie jest odpowiedzialny za nadwrażliwość typu alergicznego np. tkanek przewodu pokarmowego. Wśród metod uznawanych jako zbliżone do doskonałości w rozpoznawaniu alergii na pokarmy uznaje się metody prowokacji bezpośredniej podejrzanym alergenem pokarmowym, a zwłaszcza podwójnie ślepa *placebo* kontrolowaną pokarmową próbę prowokacji (*Double Blind Placebo Controlled Food Challenge* – DBPCFC). Próby prowokacyjne mają na celu wykazanie związku przyczynowo-skutkowego między spożytym pokarmem a wystąpieniem objawów klinicznych, niezależnie od mechanizmów patogenetycznych prowadzących do ich wystąpienia. Mimo że DBPCFC uważana jest powszechnie za złoty standard w rozpoznawaniu alergii na pokarm, w ostatnich latach podkreśla się jej mankamenty, a także nie zawsze satysfakcjonującą swoistość i czułość. Celem zobiektywizowania jej oceny, próbuje się łączyć jej wykonanie z równoległym oznaczeniem niektórych markerów reakcji alergicznej, takich jak eozynofilowe białko kationowe (*Eosinophil Cationic Protein* – ECP) i histamina w surowicy krwi, leukotrieny i metylhistamina w moczu [3,4].

Celem badań było sprawdzenie, czy oznaczanie stężenia tryptazy – głównego enzymu zlokalizowanego w ziarnistościach komórek tucznych – może być przydatne przy ocenie testu prowokacji metodą DBPCFC u chorych z nadwrażliwością na pokarmy typu alergicznego.

## PACJENCI I METODY

### Pacjenci

Badaniem objęto 16 osób (13 kobiet i 3 mężczyzn). Grupę badaną stanowiło 9 chorych (7 kobiet i 2 mężczyzn w wieku 21-45 lat, średnio 32,44 lat) pacjentów Kliniki Alergologii i Chorób Wewnętrznych oraz Przyklinicznej Poradni Alergii Pokarmowej i Zaburzeń Odżywiania z dobrze udokumentowaną IgE-zależną alergią na pokarmy. Kryterium włączenia do grupy badanej były: IgE-zależna, potwierdzona testami skórnymi i/lub sIgE lub testami prowokacji, alergii na pokarmy. W wywiadzie w badanej grupie chorych występowała pokrzywka, sezonowy alergiczny nieżyt nosa, astma oskrzelowa, obrzęk Quinke'go, przewlekłe zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego w postaci biegunek i bólów brzucha. Najczęściej stwierdzanymi alergenami uczulającymi były: orzech laskowy (w 6 przypadkach), jabłko (w 3), seler (w 3), orzech ziemny (w 2), mąka pszenna (w 2), pomidor (w 2), brzoskwinia (w 2) oraz truskawka (w 1), jajo kurze (w 1), mleko krowie (w 1), kukurydza (w 1).

Grupę kontrolną stanowiło 7 osób (6 kobiet i 1 mężczyzna w wieku 24-25 lat, średnio 24,28 lat) z dolegliwościami ze strony przewodu pokarmowego o charakterze dyspepsji czynnościowej. Kryteriami włączenia do grupy kontrolnej były: brak osobniczych i rodzinnych cech nadwrażliwości typu alergicznego, brak związku przyczynowo-skutkowego występujących dolegliwości ze spożywanymi pokarmami i ujemny wywiad rodzinny w kierunku chorób atopowych. Kryteriami wyłączenia z badania dla obu grup były: wiek poniżej 18 lat i obecność innych chorób zapalnych ostrych i przewlekłych, zwłaszcza o podłożu immunologicznym. Pacjenci zobowiązani byli do odstawienia wszystkich przyjmowanych leków na minimum tydzień przed planowanym badaniem, a leków przeciwhistaminowych na minimum 3 tygodnie przed badaniem. W dniu badania pacjenci zgłaszali się na czczo.

### Prowokacja pokarmowa

U wszystkich pacjentów przeprowadzono podwójnie ślepa, kontrolowaną *placebo* prowokację alergenem pokarmowym (DBPCFC), używając alergenowo-swoistych liofilizatów substancji pokarmowych w kapsułkach (APIPOL®). Wybór pokarmu do próby prowokacyjnej w grupie badanej dokonano w oparciu o dane z wywiadu, wynik testów skórnych z alergenami pokarmowymi i/lub ocenę specyficznych przeciwciał pokarmowych we krwi. Doboru alergenu do prowokacji w grupie kontrolnej dokonano w sposób losowy. DBPCFC przeprowadzano na czczo, wg przyjętych standardów, wykonując jednakową liczbę prowokacji alergenem (*verum*) i *placebo*, zwiększając

dawkę podawanego pokarmu co 30-60 minut o 50-100%, aż do wystąpienia objawów klinicznych. Okres obserwacji chorych w warunkach szpitalnych wynosił 48 godzin.

### Oznaczanie tryptazy w surowicy

Pomiar tryptazy przeprowadzono z surowicy krwi żyłnej w dwóch punktach czasowych: próbki krwi pobierano bezpośrednio przed rozpoczęciem prowokacji oraz 90 minut po jej zakończeniu. Stężenie tryptazy w surowicy oznaczano metodą FEIA w oparciu o zestaw firmy Pharmacia-Upjohn Diagnostics AB na automatycznym analizatorze UNICAP100. Czułość metody wynosi  $<1 \mu\text{g/l}$ , a zakres oznaczalności na wykresie kalibracyjnym 1-200 ng/l. Stężenie tryptazy w każdej badanej próbce wyrażano jako średnią z dwóch pomiarów. Zestaw UniCap Tryptase cechuje się wysoką swoistością; stwierdza się jedynie możliwość wystąpienia krzyżowej reakcji z heparyną  $<0,01\%$ .

Zakres stężenia tryptazy u osób zdrowych (badanie przeprowadzone było przez producenta w grupie 129 dorosłych i dzieciach) wynosił: średnia geometryczna –  $5,6 \mu\text{g/l}$  ( $9,8 \mu\text{g/l}$ – $13,5 \mu\text{g/l}$ ).

### Analiza statystyczna

Badane parametry oceniane były testem Kołomogorowa-Smirnova i miały rozkład nienormalny, dlatego dane charakteryzowano przy pomocy mediany, wartości minimalnej i maksymalnej oraz dolnych (25%) i górnych (75%) kwartyli. Istotność różnic pomiędzy parametrami oceniano testem Kołomogorowa-Smirnova i U Manna-Whitney'a.

### WYNIKI

U wszystkich chorych z grupy badanej wynik prowokacji metodą DBPCFC, zgodnie z przyjętymi standardami (ocena w skali punktowej), był dodatni. Tylko w jednym przypadku grupy badanej osiągnięto wystąpienie re-

akcji dodatkowo przy podaniu 8 g alergenu pokarmowego. W pozostałych przypadkach uzyskano wystąpienie dolegliwości przy mniejszych dawkach, po których próbę przerywano. Dolegliwości występujące podczas prowokacji dotyczyły różnych narządów, zarówno przewodu pokarmowego, układu oddechowego, skóry, jak i układu nerwowego. Natomiast w grupie kontrolnej nie stwierdzono występowania żadnych dolegliwości.

W grupie badanej przed prowokacją mediana stężeń tryptazy w surowicy wynosiła –  $4,59 \mu\text{g/l}$  ( $1,26$ – $8,03 \mu\text{g/l}$ ), a w grupie kontrolnej –  $3,98 \mu\text{g/l}$  ( $2,26$ – $6,82 \mu\text{g/l}$ ).

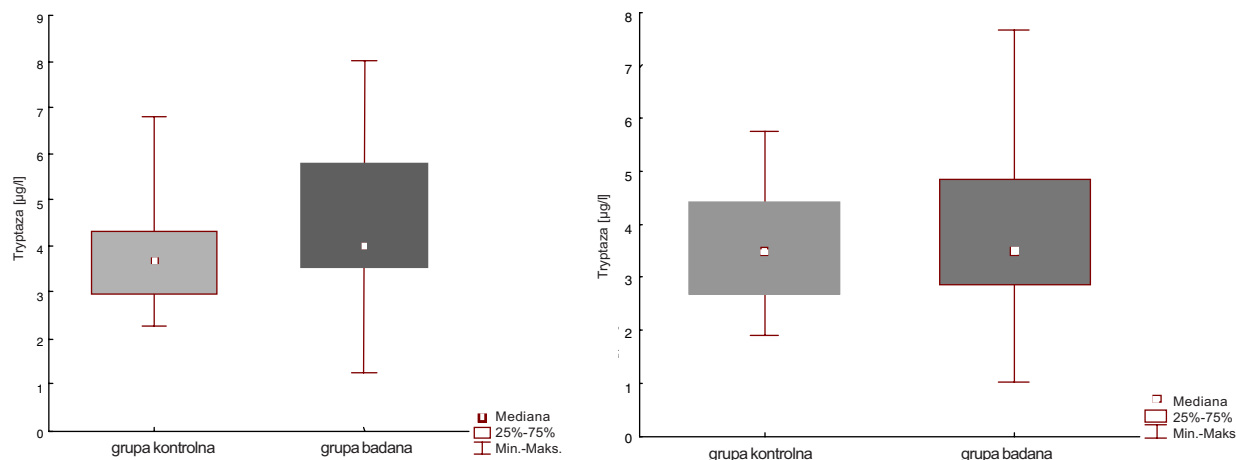
W 90 minucie po prowokacji wartości stężenia tryptazy wynosiły odpowiednio: w grupie badanej –  $4,001$  ( $1,02$ – $7,67 \mu\text{g/l}$ ), a w grupie kontrolnej –  $3,578$  ( $1,89$ – $5,75 \mu\text{g/l}$ ). W obu badanych grupach obserwowano spadek stężenia tryptazy w 90 minucie po prowokacji (ryc. 1).

W grupie chorych z alergią pokarmową obserwowano spadek stężeń u 8 na 9 badanych (max. o  $1,46 \mu\text{g/l}$ , min. o  $0,06 \mu\text{g/l}$ ), a w 1 przypadku odnotowano wzrost stężenia o  $0,41 \mu\text{g/l}$ . W grupie kontrolnej u wszystkich badanych odnotowano spadek stężenia tryptazy (max. o  $1,07 \mu\text{g/l}$ , min. o  $0,13 \mu\text{g/l}$ ). Porównanie wartości w obu grupach przedstawia rycina 2.

Wartości stężeń tryptazy między obiema grupami chorych, a także przed i po prowokacji, nie wykazywały istotnych różnic statystycznych.

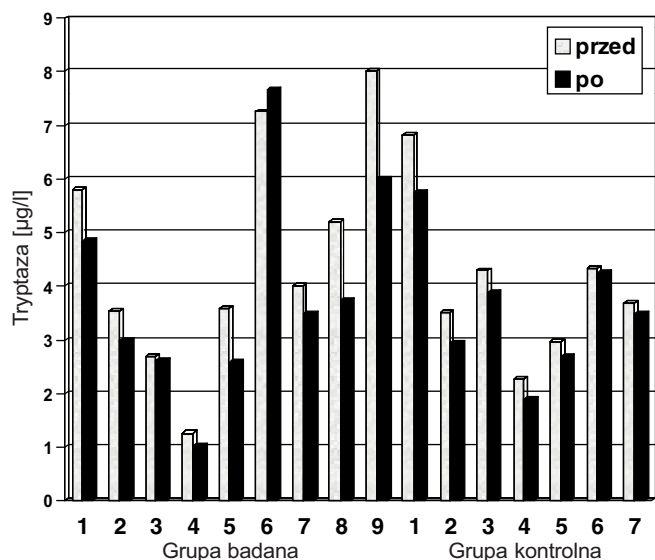
### DYSKUSJA

Wśród najczęstszych czynników odpowiedzialnych za zaburzenia chorobowe u osób atopowych, znaczące miejsce zajmuje alergologia pokarmowa. Symptomatologia alergii na pokarmy jest niezwykle zróżnicowana i złożona, co sprawia, że rozpoznanie związku przyczynowego dolegliwości ze spożywanym pokarmem jest często trudne. Objawy kliniczne mogą dotyczyć jednego narządu lub układu, częściej jednak równolegle manifestują się występowaniem dolegliwości ze strony wielu narządów



Ryc. 1. Wartości mediany stężeń tryptazy u pacjentów z alergią pokarmową i bez alergii przed i po prowokacji alergenem pokarmowym metodą DBPCFC





Ryc. 2. Porównanie stężeń tryptazy w obu grupach badanych przed i po prowokacji alergenem pokarmowym metodą DBPCFC

[5]. Dlatego niezwykle ważna dla prawidłowego rozpoznania alergii na pokarmy jest standaryzacja metod prowokacji. DBPCFC winna być przeprowadzona zgodnie z obowiązującymi standardami przez doświadczony personel medyczny w warunkach szpitalnych. Pamiętać również należy, że zbyt mała dawka pokarmu w kapsułce może być niewystarczająca do wywołania objawów klinicznych i potwierdzenia lub wykluczenia istniejącej nadwrażliwości. Wynik podwójnie ślepej doustnej próby kontrolowanej *placebo* uznaje się za dodatni w przypadku wystąpienia obiektywnych objawów na badany pokarm przy jednoczesnym braku objawów na *placebo*. I właśnie ta obiektywizacja oceny DBPCFC stanowi podstawę do działań podejmowanych przez różne ośrodki naukowe, zajmujące się problematyką nadwrażliwości alergicznej na pokarmy, do łączenia próby prowokacji z jednoczesnym oznaczaniem markerów degranulacji komórki tucznej [6,7,8].

Błona śluzowa przewodu pokarmowego, która jest miejscem pierwszego kontaktu szkodliwego pokarmu z organizmem człowieka, może reagować w różnorodny sposób, wywołując wiele objawów klinicznych. Ten niezwykle zróżnicowany obraz symptomatologii alergii pokarmowej dobrze ilustrują wyniki badań przedstawione w niniejszej pracy. W badanej grupie chorych z nadwrażliwością allergiczną na pokarm w wywiadzie dominowały objawy ze strony różnych narządów, takie jak: pokrzywka, alergiczny nieżyt nosa, astma oskrzelowa czy zespół atopowego zapalenia skóry. W wyniku prowokacji swoistym alergenem pokarmowym charakter występujących dolegliwości był niezwykle zróżnicowany i dotyczył różnych narządów. Były to objawy także ze strony górnego i dolnego odcinka układu oddechowego, skóry, narządów układu trawien-ego, a także układu nerwowego.

Objawy związane ze spożyciem uczulającego pokarmu mogą być nagłe, przebiegać gwałtownie i burzliwie. W części przypadków są łagodne, mało charakterystyczne i w miarę przedłużania czasu ekspozycji, stopniowo narastają. Powodem wzrostu ich natężenia jest pogłębiający się stan zapalny narządu. Ten charakterystyczny dla przewlekłej ekspozycji na uczulający pokarm alergiczny stan zapalny cechuje się obecnością w nacieku zapalnym szeregu komórek, takich jak eozynofile, leukocyty czy mastocyty. Te ostatnie odgrywają niezwykle istotną rolę w rozwoju zapalenia alergicznego. Ich degranulacja jest manifestacją zarówno pobudzenia zachodzącego za pośrednictwem bodźców zależnych, jak i niezależnych od IgE. Szczególnie duża ilość mastocytów znajduje się w błonie śluzowej żołądka i dwunastnicy. Już w latach 30. Chevalier zauważył, że żołądek jest typowym narządem wstrząsu. Liczne badania prowadzone w różnych ośrodkach potwierdziły, że błona śluzowa żołądka reaguje natychmiastową reakcją obrzękowo-krwotoczną na alergen wprowadzony fiberoskopowo. Wykazywano również znaczną aktywację mastocytów znajdujących się w błonie śluzowej żołądka, jelita cienkiego oraz obecność charakterystycznych dla tych komórek mediatorów w biopsji, perfuzyjnym płynie jelitowym czy w surowicy u chorych z potwierdzoną alergią na pokarmy [9,10]. U ludzi wyróżnia się dwa typy komórek tucznych w zależności od rodzaju enzymów znajdujących się w ich ziarnistościach: komórki tuczne typu  $MC_T$ , zawierające jedynie tryptazę i typu  $MC_{TC}$ , zawierające obok tryptazy szereg innych enzymów. W zależności od rozmieszczenia poszczególnych typów komórek MC dochodzi do zróżnicowanego wydzielania poszczególnych mediatorów pod wpływem swoistego alergenu. Liczbowy stosunek  $MC_T$  do  $MC_{TC}$  jest różny, zależy bowiem od rodzaju tkanki, inny też jest w warunkach zdrowia i choroby. Na ogół jednak  $MC_T$  przeważają w płucach i śluzówkach przewodu pokarmowego, zaś  $MC_{TC}$  dominuje w skórze. Tryptaza, należąca do mediatorów preformowanych, jest obojętną, tetrameryczną endoproteazą o ciężarze cząsteczkowym 134 kDa. Tryptaza między innymi degradowa-je wazoaktywny polipeptyd jelitowy (VIP), peptyd zależny od genu kalcytoniny (CGRP). Wykazuje także aktywność mitogenną w stosunku do fibroblastów oraz wzmacnia ekspresję pierwszej cząsteczki adhezyjnej śródbłonna naczyniowego (VCAM1). Tryptaza jest enzymem, który można określić jako typowy dla komórki tucznej. Zlokalizowany w rdzeniu ziarnistości komórek tucznych posiada aktywność trypsynopodobną. Występuje w dużych ilościach w mastocytach skórnych i płucnych, nie stwierdza się jej w bazofilach, eozynofilach, neutrofilach, monocytach i limfocytach [11]. Zatem podwyższenie stężenia tryptazy pozwala wnioskować o zachodzącej w organizmie degranulacji komórki tucznej.

Wyniki wielu badań nad przydatnością oznaczania stężenia tryptazy jako markera reakcji z nadwrażliwości typu

alergicznego nie są jednoznaczne i przekonywujące. Podwyższenie stężenia tryptazy w płynie pobranym z płukania pęcherzykowo-oskrzelikowego (BALT) wykazano po prowokacji swoistym alergenem u chorych na astmę przy jednoczesnym braku wzrostu u osób z grupy kontrolnej [12]. Stwierdzono również wzrost stężenia tryptazy w surowicy w trakcie prowokacji aspiryną u osób z astmą aspirynową. W badaniach Santosa i wsp. badających grupę 8 chorych z nadwrażliwością alergiczną na pokarm wykazano zwiększenie stężenia tryptazy, histaminy i innych markerów reakcji alergicznej w tkankach jelita pod wpływem prowokacji alergenem pokarmowym [8]. Podobne obserwacje poczynił Ohtsuka badając stężenie histaminy i tryptazy w surowicy krwi u chorych z alergią pokarmową poddanych próbie otwartej prowokacji pokarmowej [13].

W innych badaniach przeprowadzonych w grupie 32 dzieci z alergią pokarmową i zespołem atopowego zapalenia skóry nie stwierdzono istotnie statystycznie różnic w stężeniu tryptazy przed i po prowokacji uczulającym pokarmem [14]. Podobnie Vila i wsp. w grupie 12 cho-

rych atopowych z objawami systemowymi po spożyciu pokarmów oznaczali tryptazę i ECP w surowicy i ślinie przed i po prowokacji. Nie stwierdzili statystycznie istotnych różnic w ich stężeniu przed i po prowokacji, jak i w stosunku do grupy kontrolnej [15].

Wyniki tych badań dobrze korespondują z obserwacjami przedstawionymi w niniejszej pracy, w której nie stwierdziliśmy istotnych statystycznie różnic w stężeniu tryptazy przed i po prowokacji swoistym alergenem u chorych z alergią pokarmową. W końcowej ocenie przydatności pomiarów stężenia tryptazy jako istotnego elementu w rozpoznawaniu alergii pokarmowej należy zapewne wziąć pod uwagę stopień nasilenia reakcji alergicznej, jako że wzrost stężenia tryptazy w surowicy był obserwowany w trakcie silnych reakcji anafilaktycznych [15]. Pomijając jednak różnicowanie reakcji anafilaktycznej od innych reakcji systemowych w diagnostyce alergii pokarmowej, pomiary stężenia tryptazy do tej pory nie wykazują jednoznacznej, pozytywnej wartości klinicznej.

*Koncepcja pracy, materiał i metodyka uzyskały zgodę Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej w Bydgoszczy.*

## Piśmiennictwo

1. Bock SA, Munoz-Furlong A, Sampson HA. Fatalities due to anaphylactic reactions to foods. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 107: 191-193.
2. Wuthrich B, Schmid-Grendelmeier P. *Nahrungsmittelallergien*. Internist 1995; 36: 1052.
3. Romański B, Bartuzi Z. *Alergia pokarmowa. Problem lekarski i społeczny współczesnej cywilizacji*. Wydawnictwo Naukowe Śląsk 2004.
4. Bartuzi Z, Żbikowska-Gotz M, Staszyńska M i wsp. Przydatność testu Pharmacia Tryptase RAST w rozpoznawaniu IgE-zależnej alergii na pokarmy. *Pneumonologia i Alergologia Polska* 1994; 62 (Suppl. 2): 23-27.
5. Brostoff J, Challacombe SJ. *Food allergy and intolerance*. Wyd. Saunders. London 2002.
6. Tang AW. A practical guide to anaphylaxis *Am Fam Physician*. 2003; 68: 1325-1332.
7. Moneret-Vautrin DA, Kanny G, Fremont S. Laboratory tests for diagnosis of food allergy: advantages, disadvantages and future perspectives. *Allerg Immunol* 2003; 35: 113-119.
8. Sastre J, Lluch-Bernal M, Quirce S i wsp. A double-blind, placebo-controlled oral challenge study with lyophilized larvae and antigen of the fish parasite, *Anisakis simplex*. *Allergy* 2000; 55: 560-564.
9. Santos J, Bayarri C, Saperas E i wsp. Characterisation of immune mediator release during the immediate response segmental mucosal challenge in the jejunum of patients with food allergy. *Gut* 1999; 45: 553-558.
10. Fiorucci L, Ascoli F. Mast cell tryptase, a still enigmatic enzyme. *Cell Mol Life Sci* 2004; 61: 1278-1295.
11. He SH, Xie H, He YS. Induction of tryptase and histamine release from human colon mast cells by IgE dependent or independent mechanisms. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 319-322.
12. Onadoko BO, Khadadah ME, Ezeamzie CI i wsp. Changes in blood levels of eosinophil cationic protein and tryptase after exercise challenge in adolescents with exercise-induced asthma. *East Afr Med J* 2000; 81: 27-33.
13. Ohtsuka T, Matsumaru S, Uchida K i wsp. Time course of plasma histamine and tryptase following food challenges in children with suspected food allergy. *Ann Allergy* 1993; 71: 139-146.
14. Beyer K, Niggemann B, Schulze S i wsp. Serum tryptase and urinary 1-methylhistamine as parameters for monitoring oral food challenges in children. *Int Arch Allergy Immunol* 1994; 104: 348-351.
15. Vila L, Sanz ML, Sanchez-Lopez G. Variation of Serum eosinophil cationic protein and tryptase, measured in serum and saliva, during the course of immediate allergic reactions to foods. *Allergy* 2001; 56: 568-572.
16. Lin RY, Schwartz LB, Curry A i wsp. Histamine and tryptase levels in patients with acute allergic reactions: An emergency department-based study. *Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 65-71.