



POLINOSIS II

POLEN Y ALERGIA

POLINOSIS II

POLEN Y ALERGIA

EDITORES

ANTONIO LUIS VALERO SANTIAGO

ÁLVARO CADAHÍA GARCÍA

EDITORES:

Antonio Luis Valero Santiago, Álvaro Cadahía García.

© ILUSTRACIONES:

–Autores

–Fotos hoja *morus alba* y *figus carica*: Unitat de Botànica. Universitat Autònoma de Barcelona.

–Girasol: Josep Girbal Lladó

–*Crocus iridaciaperco*, *Spathiphyllum wallisii*, *Brassica oleracea*, *Diplotaxis erucoides*, *Ficus carica*,
Phoenix canariensis, *Phoenix flor.*: Jordina Belmonte Soler

–Mimosa, *figus benjamina*: Archivo mra ediciones

© AUTORES:

Alicia Armentia Medina, Miguel Ángel Baltasar Drago, María Basagaña Torrentó, Jordina Belmonte Soler, Álvaro Cadahía García, Blanca Cádaba, Victoria Cardona Dahl, M.^a A. Conde Alcañiz, E. M.^a Conde Alcañiz, José Conde Hernández, Ignacio Davila González, Teresa Dordal Culla, José Luis Eseverri Asín, Sara Fernández, Laia Ferré Ybarz, Mar Guilarte Clavero, Carlos Lahoz Navarro, Olga Luengo, Enric Martí Guadaño, Gema Martín, M. Miller Guerrero, Esther Moreno Rodilla, Esther Muñoz García, Roberto Pelta Fernández, César Picado Vallés, Susana Ranea Arroyo, Albert Roger Reig, Joan M. Roure Nolla, Juan A. Seoane-Cambra, Carlos Serrano Reyes, Maruxa Suárez-Cervera, Javier Subiza Garrido-Lestache, Antonio Luis Valero Santiago.

© **mra ediciones, S. L.**

© **LABORATORIOS MENARINI, S. A.**

Depósito Legal: B-13.377-2005

ISBN: 84-88865-97-X (obra completa)

ISBN: 84-88865-98-8 (volumen II)

Impreso en España.

Obra realizada bajo el patrocinio de **LABORATORIOS MENARINI, S. A.**

No está permitida la reproducción total o parcial de este libro, ni su tratamiento informático, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, por fotocopia, por registro u otros métodos, sin el permiso previo o por escrito de los titulares del Copyright.

Autores

EDITORES

- Antonio Luis Valero Santiago.
Unidad de Alergia ICPCT Hospital Clínic. Barcelona
- Álvaro Cadahía García.
Sección de Alergia. Hospital de la Vall d'Hebron. Barcelona

AUTORES

- César Picado Vallés, Carlos Serrano Reyes, Antonio L. Valero Santiago
Unidad de Alergia ICPCT Hospital Clínic. Barcelona
- María Basagaña Torrentó, Álvaro Cadahía García, Victòria Cardona Dahl, Mar Guilarte Clavero, Olga Luengo Sánchez, Esther Muñoz García
Sección de Alergia. Hospital de la Vall d'Hebron. Barcelona
- Roberto Pelta Fernández
Consulta alergológica privada. Madrid
- Jordina Belmonte Soler, Joan M. Roure Nolla
Unitat de Botànica. Universitat Autònoma de Barcelona
- Maruxa Suárez-Cervera, Juan A. Seoane-Camba
Unitat Departament de Botànica. Facultat de Farmàcia. UB
- Teresa Dordal Culla, Albert Roger Reig, Enric Martí Guadaño
Unitat d'Al·lèrgia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona
- José Conde Hernández
Servicio Regional de Inmunología y Alergia. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla
- M.^a A. Conde Alcañiz
Servicio de Alergia. Clínica Santa Isabel. Sevilla
- E. M.^a Conde Alcañiz
Centro de Salud El Juncal. Sevilla
- M. Miller Guerrero
Hospital Virgen de las Montañas. Villamartín. Cádiz
- Blanca Cárdbaba, Carlos Lahoz Navarro
Servicio de Inmunología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid
- Ignacio Davila González, Esther Moreno Rodilla
Servicio de Alergia. Hospital Universitario de Salamanca

- José Luis Eseverri Asín, Laia Ferré Ybarz
Unidad de Alergia Pediátrica. Hospital maternoinfantil de la Vall d'Hebron. Barcelona
- Alicia Armentia Medina, Sara Fernández, Gema Martín
Servicio de Alergia. Hospital Universitario Río Ortega. Valladolid
- Miguel Ángel Baltasar Drago
Unitat d'Al·lèrgologia. Hospital Verge de la Cinta. Tortosa
- Susana Ranea Arroyo, Antonio L. Valero Santiago
Unitat d'Al·lèrgia i Asma. Clínica Quirón. Barcelona
- Javier Subiza Garrido-Lestache
Centro de Asma y Alergia Subiza. Madrid

Contenido

PRÓLOGO	11
LA POLINOSIS EN LA HISTORIA	13
Roberto Pelta Fernández	
LA POLINOSIS A TRAVÉS DEL TIEMPO	25
Jordina Belmonte Soler, Joan M. Roure Nolla	
INTRODUCCIÓN A LA BIOLOGÍA MOLECULAR	33
José Conde Hernández, M. ^a A. Conde Alcañiz, E. M. ^a Conde Alcañiz, M. Miller Guerrero	
BIOLOGÍA CELULAR DEL POLEN: ORIGEN Y FUNCIÓN DE LOS ALERGENOS POLÍNICOS	39
Maruxa Suárez-Cervera, Juan A. Seoane-Camba	
BIOLOGÍA MOLECULAR Y POLINOSIS: ANTÍGENOS RECOMBINANTES DE PÓLENES	51
Olga Luengo, Blanca Cárdaña, Carlos Lahoz Navarro	
POLINOSIS Y CLASIFICACIÓN ARIA DE LA RINITIS	83
Albert Roger Reig, Teresa Dordal Culla, Enric Martí Guadaño	
POLINOSIS Y ALERGIA A ALIMENTOS	99
Victòria Cardona Dahl, Esther Muñoz García, María Basagaña Torrentó, Mar Guilarte Clavero	
POLINOSIS E INMUNOTERAPIA	109
Ignacio Davila González, Esther Moreno Rodilla	
ASMA Y POLINOSIS	123
Carlos Serrano Reyes, Antonio Valero Santiago, César Picado Vallés	
POLINOSIS Y PEDIATRÍA	141
Laia Ferré Ybarz, José Luis Eseverri Asín	
CONTAMINACIÓN AMBIENTAL Y SU INFLUENCIA SOBRE LA POLINOSIS	153
Alicia Armentia Medina, Gema Martín, Sara Fernández	
POLINOSIS INFRECIENTES	163
Miguel Ángel Baltasar Drago	
POLINOSIS Y ASMA LABORAL	183
Susana Ranea Arroyo, Antonio Luis Valero Santiago	
PÓLENES EN INTERNET. UNIDAD CLÍNICA DE WWW.POLENES.COM	197
Javier Subiza Garrido-Lestache	

Prólogo

Hace tres años, con el apoyo de Laboratorios Menarini, se realizó un libro de polinosis, con buena acogida por parte de nuestros compañeros. Hecho que nos motivó a solicitar de nuevo el apoyo de Menarini para completar dicha obra, intentando aportar nuevos conocimientos sobre otros ámbitos de la polinosis, contando con la colaboración de los autores que nos han parecido idóneos para esta labor.

La obra se inicia con un magnífico recuerdo histórico, importante siempre ya que, además de ilustrarnos, es una muestra de agradecimiento a nuestros predecesores que habían vislumbrado ya muchos de los hallazgos actuales.

El estudio de las intimidades del polen por parte de los botánicos, aúna el rigor científico más estricto con la exposición sencilla y de fácil lectura, a pesar de ser un temario sumamente especializado.

El futuro en el estudio de las reacciones alérgicas ha de pasar en breves años por el perfecto conocimiento de los diferentes alérgenos, ya que son una parte fundamental de la reacción alérgica. En esta línea, se contemplan dos capítulos de la obra, donde de una manera profunda podemos ver cuál es la situación científica a día de hoy, tanto en el estudio de las diferentes proteínas implicadas, como de la amplia distribución de éstas en los alimentos vegetales que habitualmente consumimos.

Así mismo, e intentando no olvidar otros aspectos importantes, se abordan temas específicos como las polinosis menos frecuentes, el importante papel que juega la contaminación ambiental potenciando las alergenidad de los pólenes, la consideración del polen como agente etiológico del asma bronquial incluso como causante de patología de origen laboral.

Siempre se ha considerado como infrecuente la polinosis en la infancia, pero en los últimos años se ha podido observar un aumento considerable en su prevalencia.

Desde el punto de vista terapéutico se ha contemplado el papel de la inmunoterapia en la polinosis, ya que es la única herramienta de la que disponemos para abordar el tratamiento etiológico del proceso, revisando sus características diferenciales, las diferentes vías de administración y su eficacia.

En el último capítulo constatamos la gran aportación de las nuevas tecnologías al mundo de la medicina, pudiendo disponer actualmente, a través de Internet, de datos aerobiológicos casi en tiempo real.

Sólo me queda dar las gracias a todos los colaboradores por el magnífico cumplimiento y desarrollo de la labor que se les ha encomendado, y dar infinitas gracias a Laboratorios Menarini por estar siempre al lado del progreso científico en medicina.

Álvaro Cadahía

La polinosis en la historia

ROBERTO PELTA FERNÁNDEZ

Doctor en Medicina. Especialista en Alergología
Historiador de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica

Actualmente la polinosis se ha convertido en la afección alérgica más frecuente entre los habitantes de los países industrializados, pero en el pasado se trataba de una rareza, cuyo origen era poco conocido por la clase médica, siendo etiquetados un gran número de pacientes alérgicos al polen de catarrosos. A continuación emprendemos un apasionante viaje a través del tiempo, para conocer cómo en el transcurso de los siglos se fueron adquiriendo una serie de nociones básicas en torno a la rinoconjuntivitis y el asma alérgico estacional desencadenados por la exposición ambiental a los pólenes. Curiosamente muchas de las observaciones clínicas y aerobiológicas sobre los elementos reproductores de las plantas como agentes causales de patología en los seres humanos, se las debemos a médicos que sufrieron en sus propias carnes los estragos de la polinosis.

LA HISTORIA COMIENZA CON LOS PRESOCRÁTICOS

Dichos filósofos griegos, así llamados por ser anteriores a Sócrates, vivieron desde finales del siglo VII hasta finalizar el siglo V antes de Jesucristo. Me ocuparé a continuación de dos de ellos, por su aportación al conocimiento de los pólenes.

Empédocles, natural de Agrigento (Sicilia), y que además de filósofo era también médico y poeta, vivió en el siglo VI a.C. Iba recorriendo su tierra natal y el Peloponeso haciendo curaciones, aunque algunos lo consideraban un mero charlatán; creía en la transmigración de las almas, afirmando:

Yo he sido en otro tiempo muchacho y muchacha, un arbusto y un ave, y un pez mudo en el mar.

Autor de dos poemas titulados *De la naturaleza* y *Las purificaciones*, su doctrina se basaba en la teoría de los cuatro elementos originarios (agua, aire, tierra, fuego). Creyó que en todas las plantas se daba el hermafroditismo, no sospechando que los vegetales, debido a su inmovilidad, pudieran reproducirse a través del polen.

Por su parte Anaxágoras de Clazomene o de Klazomenas (500-428 a.C.), así llamado por haber venido al mundo en dicha localidad, situada en el Asia Menor, vivió un siglo después de Empédocles y está considerado como el primer filósofo ateniense. Creó en Atenas una escuela filosófica a la que asistieron entre otros Pericles, Eurípides, Arquélao y también Sócrates. Anaxágoras reconoció que el viento era un factor de gran influencia en la dispersión de las semillas de los vegetales, favoreciendo su diseminación, aunque no llegó a vislumbrar el papel primordial desempeñado por el polen aerotransportado. En la Antigua Grecia se creía que el viento era capaz de causar enfermedades tanto en el hombre como en los animales, pudiendo afectar también a las cosechas. El propio Hipócrates de Cos (460-377 a.C.) defendía que el hombre era atacado por fie-



FIGURA 1. Claudio Galeno, natural de Pérgamo, sostuvo la errónea creencia de que el moco nasal característico de las rinitis tenía su origen en el cerebro.

bres epidémicas cuando inhalaba aire polucionado con *contaminantes que son hostiles a la raza humana*. Fue Hipócrates el que estableció por primera vez una relación entre el medio ambiente y los procesos respiratorios, sosteniendo que los inviernos poco bonancibles del sur helénico propendían al padecimiento de asma bronquial a algunos individuos. Pero, además de esta afección respiratoria, también dio cuenta en sus obras del “catarro”, un término derivado de “kata” (que significaba “para abajo”) y “rheo” (cuyo significado era fluir). Sin embargo, sostuvo una creencia errónea, perpetuada posteriormente por el médico de gladiadores Claudio Galeno de Pérgamo (figura 1), en función de la cual el asma estaba provocado por la llegada de flemas al cerebro, al pasar a través de la glándula pituitaria hacia las fosas nasales, condensándose en las mismas para luego alcanzar los bronquios y los pulmones.

Volviendo al asunto del polen como causante de patología cabe hacer alusión al historiador griego Herodoto (h. 484-h.420), que al igual que Hipócrates vivió en el siglo V a.C., observando en el transcurso de sus viajes a Asiria que las palmeras poseían dos sexos y que el árbol hembra era fertilizado por los indígenas al sacudir la copa del mismo con ramas del árbol macho, con lo cual el polen se espolvoreaba.

Fueron los romanos los que utilizaron el vocablo “polen” para designar el polvillo floral. Sin embargo, los botánicos de la Antigua Roma, no se interesaron en exceso por el estudio de la fisiología de las plantas, centrándose más en la estructura macroscópica de aquéllas y en sus usos terapéuticos y alimentarios. Es el caso de Pedacio Dioscórides (siglo I d.C.), nacido en Anazarbe y médico de Nerón, autor de una gran labor recopiladora de los conocimientos relativos a las plantas. Lo mismo sucedió con Cayo Plinio Segundo el Viejo (23-79 d.C.), continuador de la obra de Dioscórides, y autor de una magna obra titulada *Historia Naturalis*, aunque este sí reconoció al polen como un agente causal de determinados procesos respiratorios. Para su tratamiento recomendaba la “Ephedra” o “Anabis” disolviéndola en vino tinto y también la ingestión de sangre de animales salvajes. Sea por ayudar a sus congéneres, o bien por el atractivo de estudiar in situ una erupción que tuvo lugar en el Vesubio el año de su fallecimiento, acercóse tanto Plinio hasta el volcán que hubo de cubrirse la cabeza para evitar el impacto de la gran lluvia de piedras que aquél arrojaba. Pasó unas horas en casa de un amigo y, tras una posterior huida, necesaria y a la carrera para evitar una muerte segura, cayó, no se pudo levantar y murió. Téngase en cuenta que era obeso, pues como buen lector y escritor llevaba una vida muy sedentaria, pero además padecía de asma bronquial, factores ambos que pudieron condicionar su trágico final.

DE LA EDAD MEDIA AL SIGLO XVII

A partir del año 622 la Medicina bizantina se verá superada por el inicio y el gran auge de la llamada “era islámica”. Rhazes (cuyo verdadero nombre era Abû Bakr Muhhamad ibn Zakariya al-Rhazi), un afamado médico árabe de origen persa que vivió entre los años 865 y 925 y desarrolló su labor en el primer cuarto del siglo X, es la primera gran figura de la Medicina islámica y el más eminente de los médicos musulmanes medievales; además destacó como filósofo, cantante y por su dominio de la cítara, siendo denominado “El Hipócrates árabe”. Trabajó en el hospital Adudi de Bagdad, rodeándose de alumnos de todo el mundo islámico. En su obra titulada *Disertación sobre la causa del coriza que ocurre en la primavera, cuando las rosas liberan su perfume*, Rhazes (figura 2) hizo la primera descripción escrita de la “rinitis alérgica estacional”.

Centrémonos ahora en las aportaciones al conocimiento de la polinosis acontecidas durante el Renacimiento, un fértil período histórico para las Artes y las Letras, así como para la Medicina, que transcurrió entre el final del siglo XIV y mediados del XVI. Juan Monardi (1462-1536), que era médico del rey Ladislao de Hungría, comenzó a estudiar los estambres en las flores. En 1556 Amatus Lusitannus atribuyó la aparición de estornudos en algunos sujetos al perfume de las rosas. Asimismo, en 1565, el cirujano y anatomista de origen francés, aunque nacido en Pavía, Leonhardus Botallus (1519-1587), famoso por su descubrimiento del ductus arteriosus y del foramen oval del corazón, describió la presencia de estornudos, prurito nasal y cefalea en una paciente al oler el aroma de las rosas; también daba cuenta del caso de otra mujer a la cual el olor del almizcle le provocaba vómitos y dolor de cabeza, cayendo en un estado de inconsciencia. Recopiló sus observaciones en una obra titulada *Commentarioli duo alter de medici, alter de aegroti munere*.

Yatroquímica o química médica es la corriente de pensamiento, resultante de la fusión de la Alquimia, la Medicina y la Química, que practicaron los seguidores de Paracelso (1493-1541) en los siglos XVI y XVII. Los partidarios de la doctrina de Paracelso, un curioso médico suizo llamado en realidad Theophrastus Bombastus von Hohenheim, pero que adoptó aquél sobrenombre para significar que por sus saberes era



FIGURA 2. Rhazes, célebre médico árabe de origen persa, efectuó la primera descripción escrita de la polinosis.



FIGURA 3. El médico belga Johann Baptist Van Helmont (1577-1644), describió el “catarro de las rosas”.

“mayor que el médico romano Celso”, llegando a hacer una hoguera con los textos médicos clásicos y destacando por su aplicación de la Química a la Medicina, fueron denominados paracelsistas. El más destacado de todos ellos durante el siglo XVII fue el médico, alquimista y naturalista flamenco Johann Baptist Van Helmont (1577-1644), natural de Bruselas y que estudió en la Universidad de Lovaina, haciéndose famoso por su descubrimiento del anhídrido carbónico como producto de fermentaciones y por ser el creador del término gas, constatando además que algunas flores podían resultar nocivas para el organismo humano y dando a conocer las características del llamado “catarro de las rosas”. Van Helmont (figura 3) describió en su propia persona un tipo de respiración dificultosa que en forma de ataque le asaltaba con frecuencia, desencadenándose sus accesos tras la exposición al polvo doméstico. Se esforzó en hallar algún remedio eficaz para su enfermedad, pero hasta ese momento la Terapéutica estaba anclada en la “farmacopea galénica”, dándose el caso de que en Holanda se preconizaba por aquel entonces el uso de un remedio tan repugnante y carente de base científica como las heces de caballo semental para aliviar el asma, mientras que el Real Colegio de Médicos de Londres aconsejaba la utilización de preparados de pulmón de zorro. Van Helmont separó claramente el asma de la dificultad respiratoria de otro origen, dando cuenta de la existencia de una “disnea nerviosa o espasmódica”, aludiendo así al fenómeno del broncoespasmo como origen de las crisis asmáticas. Frente al concepto de “catarro” preconizado por Galeno, según el cual se originaba aquél por un flujo de humores que procedente del cerebro llegaba a las distintas partes del organismo, Van Helmont creyó que desde el exterior se introducía un semen productor de reacciones locales en la parte del cuerpo en la que se fijaba. Sin embargo dicho galeno sostuvo la idea errónea de que el asma era una enfermedad asimilable a la epilepsia, constatando en su propia persona la influencia del clima sobre la frecuencia de las crisis asmáticas, pues él presentaba episodios de broncoespasmo en Bruselas, mientras que permanecía asintomático en Oxford. El referido médico fue denunciado por la Universidad de Lovaina y también por la Inquisición a consecuencia de un folleto que había publicado en el que defendía la cura a distancia de las heridas, aplicando a las espaldas que las habían causado una receta de Paracelso, que incluía moho procedente de la calavera de un ahorcado.

A su vez Johannes Rhodius (1587-1659), natural de Padua, describió episodios de estornudos y epistaxis en algunos individuos al oler las rosas. Pero hubo que esperar hasta el siglo XVII para que se tuviera la sos-

pecha de que el órgano masculino de las flores era la antera. En concreto Nehemias Grew (1628-1711), un médico y botánico inglés, fue el que llevó a cabo las primeras descripciones morfológicas de los pólenes. El referido galeno contaba con un antecedente de gran interés, ya que en 1590 el fabricante holandés de anteojos Zacharias Janssen, natural de Middelburg, junto con su hijo Hans, había inventado el microscopio compuesto, constituido por dos tubos de unos 15 centímetros de longitud, que se podían introducir uno dentro del otro y que estaban fijados sobre una superficie, contando además con un sistema especial de iluminación. Dicho artilugio permitía observar las estructuras más diminutas con bastante precisión, aunque su resolución no lograba sobrepasar los diez aumentos, por lo que quizás no sirvió para visualizar pólenes.

Otro personaje que iba a contribuir al estudio de los pólenes fue el célebre anatomista boloñés Marcelo Malpighi (1628-1694), médico de cabecera del Papa Inocencio XII y autor de la primera visión al microscopio óptico de los capilares pulmonares (a los que se había referido previamente el inglés William Harvey, descubridor de la circulación mayor) y de los alvéolos pulmonares, así como de los glomérulos y corpúsculos renales que llevan su nombre, estudiando también los órganos del tacto y la epidermis (estrato mucoso de Malpighi). Pero además este médico se dedicó a ahondar en las características de los pólenes, reuniendo sus observaciones en dos tratados que tituló *Anatome de plantarum* y *Anatomes plantarum pars altera*, respectivamente.

En 1662 Konrad Víctor Schneider demostró que el catarro nasal se debía a una exudación de la mucosa, y que no estaba producido por una secreción procedente del cerebro como sostenían Hipócrates y Galeno. Posteriormente, en 1673, fue el médico suizo Johann Nikolaus Binninger (1628-1692) el que daba cuenta del caso de la esposa de un eminente personaje que padecía catarros sólo durante la época en que florecían las rosas. Aquél no estableció que la causa de la dolencia de la enferma fuera el olor de las rosas, sino que sus síntomas hacían acto de presencia al mismo tiempo que aquéllas florecían. Reunió sus apreciaciones en un libro que tituló *Observationum et curationum medicinallium*, el cual vio la luz el año 1673. Diez años después Samuel Ledelius, en su obra *Miscellanea Curiosa*, llamó la atención sobre el olor de las rosas, al que consideraba nocivo para la vista. Más tarde, en 1687, James Augustin Hunerwolff describió el catarro nasal por el olor de las rosas, basándose en las experiencias de un hombre que sufría una gran agitación al entrar en un jardín con rosas que se hallaban en plena floración. A su vez Jean Jacob Constant de Rebecque (1645-1732), que era un médico ginebrino, afirmó en 1691:

Creo más bien que las rosas emiten algo que me irrita mi nariz sensible y, como por la acción incesante, pero no advertida, de aguijones, provoca una secreción del color del agua.

Dicho galeno padecía un catarro estacional desde la edad de trece años. En 1693 fue Herlinus el que habló del caso peculiar de un cardenal romano, que era tan sensible al olor de las rosas que mantenía cerradas a cal y canto las puertas del palacio donde residía, para impedir la entrada de alguna persona que fuera portadora de dicha estirpe floral.

Van Riedlin (1656-1724), que era un médico alemán, describió una curiosa prueba de provocación en su libro *Ites medicum*; consistía en que para comprobar la veracidad de los síntomas respiratorios que le relataba un paciente le entregó durante el camino una bolsa de rosas, sin advertirle previamente de su contenido, reproduciéndose aquéllos. Tan arraigada estuvo entre los médicos la idea de que las rosas resultaban nocivas para la salud, que aún en el año 1700, Duvoisin, daba cuenta de los síntomas que desarrollaban los farmacéuticos al usar esas flores para la elaboración de sus fórmulas magistrales, considerando que se trataba de una enfermedad profesional.

P.A. Micheli (1679-1737), botánico de profesión y que trabajaba en el jardín público de Florencia, se dedicó a sembrar esporas de mohos en trozos de melón, membrillo y pera, logrando observar que dichos hongos se reproducían a lo largo de varias generaciones. Con ello llamaría la atención sobre un hecho de gran interés aerobiológico y clínico, al concluir que además de los pólenes también las esporas de los mohos eran capaces de ser dispersadas a través del aire.

ENTRAMOS EN LOS SIGLOS XVIII Y XIX

Fue William Heberden (figura 4), que había nacido en 1710 y falleció en 1801, el cual describió la angina de pecho, la ceguera nocturna y los nódulos que aparecen en la artrosis sobre las articulaciones interfalángicas distales, fue el autor de la primera observación de la afección periódica estacional que caracteriza a la polinosis, en los siguientes términos en su libro *History and Cure of Disease*:

Yo he visto la rinitis periódica reproduciéndose en cuatro o cinco personas en los meses de abril, mayo, junio o julio y persistir durante un mes con gran violencia. Una de ellas era afectada de catarro cada verano y, en cambio, en otra, ésta era la única parte del año en que curaban sus molestias.

Asimismo, José Teófilo Koelreuter (1733-1806), profesor de Historia Natural en Kalsruhe y director del Jardín Botánico de esa ciudad, descubrió la existencia de pólenes entomófilos, es decir, que son vehiculados por insectos como las abejas, en lugar de ser transportados por el viento como los de carácter anemófilo. Sus observaciones fueron corroboradas por un pastor teutón llamado Conrad Sprengel (1750-1816), que al referirse a la fertilización de los vegetales sostuvo que “el cruce es la regla del reino vegetal”.

El astrónomo y óptico italiano Juan Bautista Amici (1786-1863) estudió la fecundación de la calabaza y descubrió la formación del tubo polínico y su paso por el estigma.

El famoso fisiólogo y anatomista checo Johannes Evangelista Ritter von Purkinje (1787-1867), que descubrió el oftalmoscopio mucho antes que Hermann von Helmholtz y también las fibras del sistema de conducción que llevan su nombre en el interior del corazón de las ovejas, estudió los tejidos fibrosos de los sacos polínicos y otras estructuras de los pólenes, diferenciando los poros verdaderos de los falsos. Por su parte von Helmholtz (figura 5) fundó la llamada “teoría bacteriológica de la polinosis”, pues creyó hallar vibriones en su secreción nasal, mejorando del catarro que padecía al aplicarse quinina en las fosas nasales.

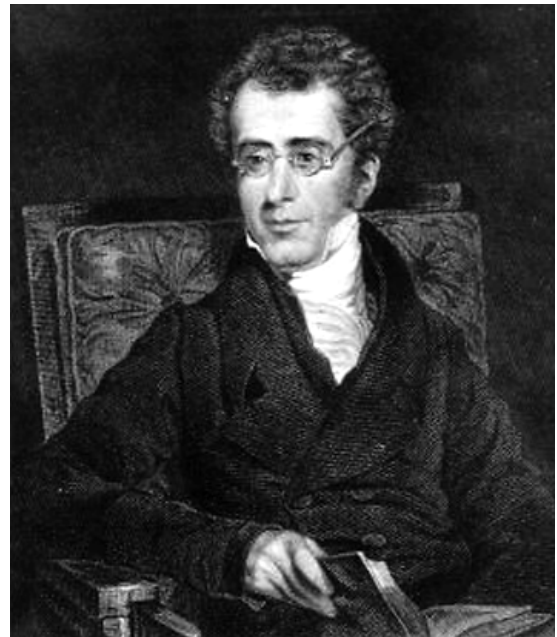


FIGURA 4. El galeno inglés William Heberden (1710-1801), dejó constancia en sus obras de las características clínicas de la polinosis.



FIGURA 5. El médico berlinés Hermann von Helmholtz (1821-1894) creyó que la polinosis era de origen bacteriano.

FIGURA 6. John Bostock (1774-1846), describió en su propia persona la polinosis como “Una afección periódica de los ojos y del pecho”.



Resulta curioso que hayan sido dos galenos ingleses, ambos homeópatas, alérgicos y asmáticos, los que impulsaron de manera decisiva el estudio de la polinosis. En efecto fue en 1819 cuando John Bostock (figura 6), natural de Liverpool donde nació en 1774 y catedrático de Fisiología de las Universidades de Liverpool y Londres, comunicó sus propios síntomas alérgicos en el transcurso de una reunión de la Sociedad Médico-Quirúrgica de Londres, bajo el título de *Case of a periodical affection of the eyes and chest* (“Un caso de afección periódica de los ojos y del pecho”); se trataba de un cuadro catarral, que a diferencia del coriza común únicamente se manifestaba durante la estación del heno en Inglaterra (junio y julio). Por la minuciosidad de su descripción merece la pena que transcribamos literalmente las palabras del médico inglés:

Los siguientes síntomas aparecen cada año a mediados de junio, con un mayor o menor grado de violencia. Se nota una sensación de calor y de plenitud en los ojos, primero a lo largo de los bordes de los párpados, y especialmente en los ángulos internos, pero después de algún tiempo afecta a todo el globo ocular. Al comienzo la apariencia externa del ojo se ve poco afectada, salvo por la existencia de un ligero enrojecimiento y lagrimeo. Este estado se incrementa gradualmente, hasta que la sensación se transforma en un picor y escozor más agudos, acompañada de una sensación de pequeñas punzadas en el interior de los ojos, mostrándose aquéllos muy inflamados y descargando un fluido mucoso copioso y espeso. Esta afección ocular tiene sus paroxismos, que se suceden a intervalos irregulares, desde la segunda semana de junio hasta mediados de julio. Los referidos accesos de síntomas oculares nunca aparecen más de dos o tres veces diarias, persistiendo una hora o dos cada vez, pero con respecto a su frecuencia y duración existe una gran incertidumbre.

Después de que los síntomas oculares se han ido aminorando en el plazo de una semana o diez días, aparece una sensación general de plenitud en la cara y particularmente sobre la frente; dichas manifestaciones se siguen de una irritación de la nariz, produciendo estornudos, que ocurren en forma de salvas de una extrema violencia, sucediéndose con intervalos inciertos. A los estornudos se suma una sensación de opresión torácica y dificultad para respirar, con una irritación general de las fauces y de la traquea. No existe dolor en ninguna zona de la caja torácica, pero surge una necesidad de buscar aire en la habitación para poder respirar mejor, volviéndose la voz ronca y existiendo una incapacidad para hablar de forma prolongada sin tener que pararse. A los referidos síntomas locales se añaden un malestar general, un gran decaimiento, una incapacidad para ejercitar los músculos, pérdida de apetito, emaciación, insomnio, a menudo con sudación profusa, aunque las extremidades se mantienen generalmente frías. El pulso se halla permanentemente acelerado, con una frecuencia en torno a 80 latidos por minuto de media, pudiendo llegar a 100 pulsaciones y al practicar un ejercicio considerable hasta 120

o más. Una idea ha prevalecido entre el vulgo sobre el origen de la enfermedad, creyendo que estaba producida por los efluvios del heno, dándosele por ello el nombre popular de fiebre del heno...

Fue en 1828 cuando Bostock publicó un interesante trabajo titulado *On the catarrhus aestivus or summer catarrhus*, donde reunía las observaciones de dieciocho casos similares al suyo, empleando por vez primera en la literatura médica el término de “hay-fever” o “fiebre del heno”, aunque rectificó entonces sus opiniones iniciales respecto al origen de la polinosis, rechazando la idea de que pudiera existir alguna relación entre tal afección y el calor, la radiación solar o la exposición al heno o pasto seco u otra planta cualquiera. Curiosamente Bostock creyó que la polinosis era más frecuente entre los aristócratas, llegando a ser considerada dicha afección por algunos nobles de la época como un signo de distinción. Con posterioridad sus observaciones cayeron en el olvido, siendo numerosos los médicos que siguieron confundiendo el “catarro de verano” con el coriza común, ya que ignoraban su característica más destacada: la recidiva de los síntomas en una época determinada del año.

Uno de los contemporáneos de Bostock, el Doctor Gordon, sostuvo que la referida enfermedad se debía al “aroma emitido por las flores y hierbas”, sobre todo por el procedente del *Anthoxantum odoratum*, ya que los pacientes aquejaban más molestias al pasear por el campo, donde abundaba dicha gramínea, que al permanecer en el interior de la vivienda; Gordon creyó que era mejor hablar de “grass-asthma”, que de “hay-asthma”, pues siguiendo las ideas de Bostock también defendió que el heno no guardaba relación alguna con el referido padecimiento. Otro médico inglés contemporáneo de Bostock, el Doctor John Elliotson (1791-1868), que al igual que aquél se había graduado en la Universidad de Edimburgo, atribuyó el origen de la “polinosis” a las emanaciones emitidas por algunas hierbas y flores frescas de los prados o por el heno, describiendo por primera vez una dermatitis de las manos debida a la manipulación de unas hierbas durante el período de floración de las mismas. Elliotson publicó sus observaciones en la prestigiosa revista *Lancet*, el año 1831. Por aquel entonces el farmacólogo alemán Philipp Phoebus creyó que factores tan dispares como el calor estival, el polvo, la luz, los cambios de temperatura y la exuberancia de la vegetación al comienzo del verano estaban relacionados con la rinitis periódica estacional.

En 1835 el Doctor Kirkman, que también sufría los efectos de la polinosis, había observado la reactivación de sus síntomas al aspirar y frotar sobre sus manos el polen procedente del pasto. Por su parte, el neurólogo norteamericano George Miller Beard (1839-1883) afirmó que la “fiebre del heno” era esencialmente una forma de neurosis, considerando que las personas de clase social elevada, que poseían un sistema nervioso muy irritable, eran una presa fácil para el desarrollo de la enfermedad. Fue en 1876 cuando Beard publicó en Nueva York un libro titulado *Hay Fever or Summer Catarrh: Its Nature and Treatment*, reuniendo las citadas observaciones y donde argumentaba que:

Como la enfermedad no es debida a ninguna causa específica animal ni vegetal, como se ha supuesto, nada específico se puede encontrar en ella.

Tendrían que pasar más de 40 años después de las observaciones de Bostock para que otro médico inglés, el Doctor Charles Harrison Blackley que nació el 5 de abril de 1820 en la localidad de Bolton, contribuyese con sus aportaciones al mejor conocimiento de la “polinosis”. Comenzó como aprendiz en un taller de grabado, asistiendo a clases nocturnas en el Mechanics Institute donde aprendió Química, Botánica, Física y Griego. A partir de 1858 se dedicó a la práctica de la Homeopatía en Manchester, tras ser tratado de la alergia al polen que padecía por un practicante de dicha disciplina llamado Doctor David, que le inculcó el interés por las teorías del Doctor Samuel Hahnemann, precursor de la doctrina homeopática. Blackley (figura 7), llegó a ser editor de una revista titulada *Manchester Homeopathic Observer*, pero posteriormente estudió Medicina en “The Pine Street Medical School”, graduándose en 1874 y llegando a ser un miembro destacado del “Royal College of Surgeons”. Preocupado por su reputación como homeópata, temiendo que algunos de sus contemporáneos le considerasen un charlatán, acudió a la Universidad de Bruselas para completar su

FIGURA 7. Charles Harrison Blackley (1820-1900), descubrió las pruebas cutáneas y efectuó los primeros estudios aerobiológicos.



formación postgraduada. Al igual que muchos de sus contemporáneos, Blackley sospechó inicialmente que la “polinosis” era debida al efecto del calor y eso explicaría que apareciese en verano, pero pronto de una forma casual, como ha sucedido con otros muchos descubrimientos científicos trascendentales, saldría de su error. Un buen día uno de sus hijos colocó en una habitación de la casa un florero con un ramo de grama (*Poa nemoralis*) y al ir a echarle un poco de agua observó que se desprendieron unas pequeñas cantidades de polen cerca de su cara, comenzando a parpadear y estornudar, pues se reprodujeron los mismos síntomas de la afección veraniega que padecía desde hacía años. A continuación decidió efectuar algunos experimentos en su propia persona y para ello en 1873 escarificó su piel y se frotó la misma con una gramínea humedecida, observando que en un breve lapso de tiempo aparecía un enrojecimiento de aquélla y que se formaba una pápula. Por su interés, reproduzco a continuación la propia descripción del autor:

*En el verano de 1865, sufriendo aún mi habitual ataque de fiebre de heno, me apliqué sobre el centro de la cara anterior del antebrazo todo el polen que se obtuvo de dos anteras de *Lolium italicum*; dicho punto había sido escarificado previamente de la manera habitual en que esto se realiza para practicar la vacunación. Se cubrió la región con un trozo de gutapercha fina y se mantuvo fijo todo ello mediante una tira de emplastro adhesivo. El centro del otro antebrazo fue tratado de idéntica manera, salvo que no se puso polen. La escarificación con la lanceta levantó un habón semejante a los de urticaria o a los producidos por el contacto de ortigas. Pocos minutos después de la aplicación del polen comenzó a picar intensamente toda la región; los bordes de las escarificaciones y las partes más próximas comenzaron a hincharse; pero todo ello daba la impresión de que no era debido a ninguna acción sobre el cutis vero...*

A fin de determinar la distribución ambiental del polen Blackley construyó un dispositivo dotado de un mecanismo de relojería, que le permitía exponer unas superficies adherentes durante un intervalo de tiempo dado en la atmósfera. Podríamos decir que se trataba del primer colector de pólenes de la historia, consistente en un barrilete a modo de cometa al que incorporó en su zona central un portaobjetos vertical, untado previamente con vaselina; logró elevar su ingenio a más de 500 metros de altura y cada 24 horas desmontaba el portaobjetos de la cometa y lo observaba al microscopio, para identificar y efectuar el conteo de los diversos pólenes. Efectuó mediciones tanto en el campo como en la ciudad y se apercibió de la influencia del viento, el calor y la humedad sobre la distribución del polen. Comprobó que en Manchester, durante los meses de

junio y julio, que era la época en que él y sus pacientes estaban con síntomas había elevadas concentraciones atmosféricas de pólenes de gramíneas. Pero curiosamente Blackley se percató de que los granjeros y otros sujetos expuestos crónicamente a elevados niveles de polen, no sufrían los síntomas de la polinosis. Asimismo halló mayores recuentos de polen en las jornadas calurosas que en los días fríos y nublados, sobre todo si lucía un sol brillante y además había viento. Evidenció que el polen abundaba más en el campo que en la ciudad, siendo a su vez más ubicuo en las afueras de aquella que en el interior. Al hilo de estos hallazgos Blackley trazó curvas estacionales de los niveles de polen, comprobando las variaciones diarias y los cambios relativos a cada estación. También logró reproducir los síntomas de la “polinosis” en sí mismo y en otros pacientes al olfatear el “polvillo” procedente de las flores, pero además se aplicó pólenes en sus propios sacos conjuntivales y en la mucosa nasal, observando que se reproducían los síntomas característicos; su empeño fue tal, que llegó a coleccionar polen de más de un centenar de flores y hierbas. Pero además llevó a cabo la nasorreacción en una época alejada de la polinización, comprobando que se reproducían los síntomas característicos de la rinitis ocasional de igual forma. Asimismo, logró protegerse de los efectos nocivos del polen con ayuda de un filtro de aire fabricado con capas de muselina y empleando unas almohadillas nasales, a modo de calzas, cuyas suelas estaban elaboradas con gasa. Las numerosas observaciones sobre la polinosis efectuadas por Blackley quedaron plasmadas en dos publicaciones: una que data de 1873 titulada *Experimental Researches on the Causes and Nature of Catarrhus Aestivus*, así como un segundo trabajo que apareció en 1880 con el título de *Hay Fever, Its Causes, Treatments and Effective Prevention*. Aunque Blackley era un médico de provincias, sus hallazgos no pasaron desapercibidos para sus contemporáneos. El propio Charles Darwin (1809-1882) le escribió una carta fechada el 5 de julio de 1873, recordándole que existían dos tipos de polen, el procedente de plantas entomófilas, que polinizan con ayuda de los insectos, mientras que el de plantas anemófilas se vale del viento para ser transportado. Un argumento erróneo defendido por Blackley fue la suposición de que toda “polinosis” estaba originada exclusivamente por la exposición al polen de hierbas, ignorando que los elementos reproductores de otras especies botánicas como los árboles y las malezas también debían ser tenidos en cuenta. Sin embargo, cabe resaltar que Blackley fue el primero que halló el modo de efectuar tests cutáneos mediante la escarificación o cutirreacción, que siguen empleándose actualmente en Alergología, aunque con ciertas modificaciones, estando considerados como una herramienta diagnóstica básica; sin embargo, dicha técnica cayó en desuso hasta 1907, cuando Von Pirquet, el pediatra vienes que en 1906 había acuñado el término “alergia”, comunicó a la comunidad médica su prueba cutánea intradérmica con tuberculina.

El médico norteamericano Morrill Wyman (1812-1903), coetáneo de Blackley y profesor de la Universidad de Harvard, publicó en 1872 un libro titulado *Autumnal Catarrh (Hay Fever)*, donde cita una serie de experiencias relativas al estudio de ochenta y un casos de “catarro de otoño”, que le llevan a la conclusión de que el polen de Ambrosía era la principal causa de la “polinosis” de aparición otoñal. Pero también llama la atención sobre el factor hereditario y sobre el hecho de que algunos de los pacientes pueden sufrir además el “resfriado de junio”. Wyman admite a su vez la influencia de otros agentes que pueden condicionar la aparición de la “polinosis”, como el polen de otras plantas, el polvo, las emanaciones procedentes de animales, etc.

El reverendo Jeremiah Lott Zabriskie (1835-1910), un científico que debido a su mala salud hubo de abandonar el pastorado que ejercía en Nueva York, influenciado por los hallazgos de Blackley se dedicó a estudiar al microscopio el llamado “catarro del melocotón”, descubriendo que sobre la cubierta de la mencionada fruta quedaban atrapados pólenes. Hoy en día tenemos constancia de que muchos pacientes polínicos cuando tocan el melocotón o lo comen sin pelar pueden desarrollar síntomas alérgicos.

El alcance de la “polinosis” comenzaba a ser notorio en algunos países y en septiembre de 1874 surgió en Bethlehem (New Hampshire) la llamada “U.S. Hay Fever Association”, que aglutinaba a personas con dicha afección para difundir entre ellas los principales remedios a fin de lograr su alivio. De hecho, el propio Doctor Beard, al que antes hice alusión, calculaba que en su época debían de estar afectados en los Estados Unidos por la “polinosis” entre 25.000 a 50.000 individuos. Se abría pues una etapa de búsqueda de soluciones terapéuticas eficaces para una afección que prometía ir en aumento. A este respecto fue William Philipps Dunbar

(1863-1922), un médico estadounidense establecido en Alemania, el cual tuvo conocimiento de los trabajos de Charles Harrison Blackley, uno de los primeros investigadores que iba a dirigir sus empeños en este sentido. Sin embargo, creyó erróneamente que la aparición de la rinitis alérgica estacional dependía de la presencia de cierta toxina en los pólenes (toxalbumina). Por ello intentó efectuar una inmunización pasiva mediante la administración parenteral de una “antitoxina”, que denominó *Pollantina*, obtenida del suero de caballos y conejos inmunizados contra el polen de gramíneas. Al no alcanzar unos resultados satisfactorios, Dunbar probó la “inmunización activa” administrando a los pacientes alérgicos extractos de polen, pero sus preparados producían reacciones sistémicas de tipo anafiláctico al contener unas dosis excesivas. El propio Dunbar sufrió un episodio grave de asma y presentó un shock anafiláctico tras recibir una inyección subcutánea de *Pollantina*. No dándose por vencido, este inquieto galeno puso en práctica una técnica mixta de inmunización activa y pasiva, pero sus resultados no pudieron ser reproducidos por otros investigadores. En 1913 Dunbar publicó sus observaciones en un trabajo titulado *Zur Ursache und spezifischen Heilung des Heufiebers* (“Estado actual de nuestros conocimientos sobre la fiebre del heno”).

Mucho más extraña iba a resultar la proposición de Weichardt de tratar a los pacientes con “polinosis” a base de “Graminol”, un producto elaborado con suero de animales herbívoros, pues su autor creía que estaban autoinmunizados por haberse alimentado de gramíneas.

EN PLENO SIGLO XX

Las aportaciones de Dunbar tuvieron su continuidad en los trabajos de Leonard Noon (1878-1913) y su colaborador John Freeman (1877-1962), que en 1911 prepararon determinadas dosis de extractos de polen y establecieron el término “Unidad Noon”. Noon y Freeman observaron que los animales sensibilizados a un alérgeno dado pueden llegar a tolerar su presencia, tras la administración cautelosa y progresiva de dosis elevadas. Mediante el empleo de diluciones seriadas de un extracto de polen de hierba, Noon cuantificó la respuesta de la conjuntiva humana frente a aquél, apreciando una disminución de la sensibilidad conjuntival tras una serie de inyecciones del referido extracto, por lo que acuñó el término “desensibilización” para hacer alusión a tal fenómeno biológico. Otros expertos atribuyen la creación de dicho vocablo a los investigadores Alexander Besredka, discípulo de Metchnikoff, así como a su colega Weil, al observar que las inyecciones repetidas de pequeñas cantidades de antígeno hacían que los animales de experimentación tolerasen dosis mayores, que de otro modo inducirían un shock anafiláctico. Tanto Noon como Freeman publicaron en el mismo año de 1911 en la prestigiosa revista *Lancet*, los resultados obtenidos en sus pacientes alérgicos tras inocularles polen por vía hipodérmica; sus artículos constituyen los primeros que sobre dicha cuestión surgieron en la literatura médica. De forma simultánea pero independiente de las investigaciones de Noon y Freeman, los norteamericanos Ransom Claude Lowdermilk (1872-1948), en Kansas, así como Karl K. Koessler (1880-1925), en Chicago, publicaron los resultados de algunas experiencias similares. Lowdermilk se inyectó en su propia persona extractos de polen y también obtuvo buenos resultados al probar dichos productos en otros sujetos alérgicos. Por su parte, Koessler, que compartía con Dunbar la errónea creencia de que el polen era portador de toxinas y no de proteínas potencialmente alérgicas, llevó a cabo experiencias similares de “desensibilización” en sujetos que padecían de “polinosis”. Pero habría que esperar unos años más, hasta 1919, que fue cuando Robert Anderson Cooke (1880-1960) y Albert Van der Veer (1879-1959) rechazaron definitivamente la llamada “Teoría de Dunbar”, para que el empleo de extractos alérgicos tomase carta de identidad entre los médicos. Los referidos investigadores estudiaron a un total de 621 pacientes con alergopatías, incluyendo gemelos idénticos y monocigóticos, observando que la dotación genética juega un gran papel predisponente para el padecimiento de procesos alérgicos, con independencia de la exposición ambiental. Investigaciones ulteriores demostraron que tras el empleo de extractos alérgicos en sujetos sensibilizados, la reactividad cutánea frente a aquéllos persistía, por lo que Cooke propuso en 1922 sustituir el término

“desensibilización” por el de “hiposensibilización”, al considerar que hacía una referencia más exacta de los objetivos buscados con dicha modalidad terapéutica. Fue también Cooke quien en el año 1935 descubrió los llamados “anticuerpos bloqueantes” en la sangre de los pacientes que habían recibido extractos hiposensibilizantes, los cuales correspondían a unas proteínas capaces de inhibir la llamada reacción de P-K. En concreto se trataba de Inmunoglobulinas de la clase IgG, capaces de combinarse con el alérgeno libre, con lo cual podían impedir la fijación de aquél a la IgE presente en la superficie de los mastocitos y de los basófilos. Respecto a la técnica de P-K, ideada en 1921 por Carl Prausnitz y Heinz Küstner, fue descubierta cuando el primero de estos investigadores se inyectó en la piel un poco de suero de su colega, que era alérgico a la carne guisada de cierto pescado, y en el mismo punto se inoculó una pequeña dosis del extracto elaborado con el producto marino. A las 24 horas pudo constatar una marcada reacción local, pues había tenido lugar un “Fenómeno de transferencia cutánea pasiva”.

En los años 30 Fred C. Meier acuñó el término “Aerobiología”, para denominar los estudios que se venían realizando sobre los granos de polen, las esporas de mohos y las bacterias presentes en la atmósfera. En 1945 Hyde y Williams, dos grandes investigadores del polen atmosférico, propusieron el término “Palinología” para denominar a la disciplina que se ocupaba de estudiar los pólenes.

El primer estudio controlado sobre la eficacia de la “hiposensibilización” fue publicado por Bruun, en 1949. Unos años más tarde, en 1954, Franckland y Austin confirmaron los buenos resultados del procedimiento, después de efectuar un estudio doble ciego controlado con placebo, para el cual emplearon extractos de polen de gramíneas en sujetos afectados de “polinosis”. En el año 1971 dos investigadores, los Doctores Norman y Lichtenstein, abogaron por dejar atrás definitivamente los términos “desensibilización e hiposensibilización”, empleando en su lugar el concepto más amplio de “Inmunoterapia”.

BIBLIOGRAFÍA

1. AYUSO ARROYO, PP, DÍAZ-RUBIO GARCÍA, M^a P *El asma: Crónica y Protagonistas*. Madrid: Editorial Médica Internacional, S.A., 1990.
2. JIMÉNEZ DÍAZ, C. *El asma y otras enfermedades alérgicas*. Madrid: Ed. España, 1932.
3. JIMÉNEZ DÍAZ, C. *El asma y afecciones afines (Normas prácticas de diagnóstico y tratamiento)*. Madrid: Ed. Paz Montalvo, 1953.
4. LÓPEZ PIÑERO JM. *La Medicina en la Historia*. Madrid: La Esfera de los Libros. 2002.
5. PELTA, R. *Desarrollo histórico de la Alergología en España. 75 años de Historia (1912-1988)*. Barcelona: Ancora, S.A., 1989.
6. PELTA, R. *La rinitis alérgica a través de la Historia*. Capítulo 1: 1-11. Barcelona: Edika Med, 1996.
7. PELTA, R. *Inmunología y Alergia, Historia y protagonistas: Sinopsis histórica de la Alergología*. Madrid: You&Us, S.A., 1997.
8. SAURET VALET, J. *To breathe or not to breathe*. Barcelona: Ancora, S.A., 1995.
9. SIMONS, F, ESTELLE R, ED. *Ancestors of Allergy*. New York, Global Medical Communications Ltd., Publishers, 1994.
10. VARIOS. *Crónica de la Medicina*. Barcelona: Plaza & Janés Editores, S.A., 1995.

La polinosis a través del tiempo

JORDINA BELMONTE SOLER, JOAN M. ROURE NOLLA

Unitat de Botànica, Facultat de Ciències,
Universitat Autònoma de Barcelona

INTRODUCCIÓN

Polinosis es la palabra utilizada para referirse a la reacción alérgica del cuerpo debida al polen¹. Esta íntima relación entre polen y polinosis fue descrita por primera vez en 1873 por Blackley². Aunque esta definición de Polinosis no habla de las reacciones alérgicas originadas por esporas de hongos, también hay que incluirlas, como bien demostró Cadham³ en 1924 y como han seguido evidenciando numerosos estudios.

CHARLES H. BLACKLEY

Tomando prestadas palabras de Comtois⁴, el trabajo de Charles H. Blackley *Experimental researches on the causes and nature of Catarrhus Aestivus*, publicado en 1873, se acepta generalmente como el primer texto que evidencia que el polen aerovagante es la causa de la fiebre del heno tanto en trabajos de pneumología, como de alergología y de aerobiología. Blackley (1820-1900) realizó diversos experimentos con productos químicos y con olores antes de centrarse en los pólenes como causantes de la fiebre del heno o, como lo describió Bostock en 1819⁵, el catarro estival. Finalmente, y después de algunas casualidades que le llevaron a reaccionar violentamente al respirar involuntariamente, en una ocasión, pólenes de *Poa nemoralis* y, en otra, esporas de *Penicillium glaucum*, Blackley diseñó un experimento en el que probó sobre él mismo el efecto del polen de 76 especies de plantas con flores. Concluyó que, con raras excepciones, el polen de las plantas producía síntomas, que la intensidad de los síntomas variaba, y que la severidad y continuidad de los síntomas dependían de la cantidad y el número de exposiciones^{2,4}. También investigó sobre la cantidad de polen presente en el aire y su relación con la intensidad de los síntomas. Para ello utilizó diversos métodos de muestreo gravimétricos de diseño propio que describió junto con los resultados que le han dado merecida fama².

OTROS PIONEROS

Aunque habitualmente los trabajos aerobiológicos y médicos que hacen referencia a la historia de la polinosis y/o de la aerobiología restringen sus referencias a Blackley, hubo otros importantes investigadores, algunos previos y otros coetáneos, que estudiaron la presencia de partículas biológicas en el aire e incluso en algunos casos las relacionaron con manifestaciones alérgicas y que merecen ser citados. Casi todos ellos fueron médicos.

LAZZARO SPALLANZANI (1729-1799) investigó el desarrollo de vida microscópica en medios de cultivo y con ello contrarrestó la teoría de la generación espontánea defendida por Needham.⁶

Los estudios de Spallanzani facilitaron las posteriores investigaciones de LOUIS PASTEUR⁶ (1822-1895) quien demostró la existencia inequívoca de esporas atmosféricas⁷ transportadas por el aire y diseminadas desde la fuente⁸ y propuso que debían hacerse estudios de manera regular⁷ y comparar diferentes estaciones en un mismo lugar y diferentes lugares en un mismo período⁸. Pasteur, que llamó micrografía a lo que Meier propuso llamar en 1930 aerobiología, descubrió algunos principios considerados hoy en día básicos en aerobiología:

1. La absoluta necesidad del muestreo volumétrico.
2. La heterogeneidad de las esporas en el aire
3. La ruta aerobiológica (arranque, dispersión, deposición)⁷.

Los trabajos de Pasteur inspiraron a PIERRE MIQUEL (1850-1922), farmacéutico y médico francés considerado el primer aerobiólogo profesional⁹. Sus investigaciones más importantes en la disciplina que llamaba micrografía atmosférica las hizo usando métodos volumétricos y estaban relacionadas con la influencia del tiempo en los bioaerosoles atmosféricos y su impacto en las enfermedades epidémicas⁹. Sus trabajos incluyen gráficas de concentraciones de partículas a lo largo del tiempo y curvas de temperaturas medias o curvas de muertes y mapas de la ciudad de París con referencia al número de partículas por metro cúbico de aire según la dirección del viento.¹⁰

En este recorrido por la historia de la polinosis y, paralelamente, de la aerobiología debe darse cabida a JOHN TYNDALL (1820-1893), un eminente científico formado en ingeniería civil y más conocido por sus investigación no aerobiológica (matemáticas, electromagnetismo, termodinámica, bacteriología...) pero también importante en este campo. Tyndall propuso una metodología para mapear la distribución de la materia invisible flotante del aire y demostró que su distribución tenía una sorprendente similitud con la propagación de epidemias en la población, reforzando su convicción de una directa relación entre aerobiología y enfermedades, y de que los gérmenes eran arrastrados en grupos o “nubes”. Tyndall fue probablemente el primero en poner en mente del público en general la existencia de “la materia flotante del aire” y los problemas que estas partículas pueden causar a la humanidad.¹¹ Contemporáneo de Pierre Miquel, éste le discutía el uso del término “nubes” para referirse a las esporas atmosféricas^{9,11}.

Más adelante, especialistas en biología, normalmente botánicos y micólogos, irrumpieron también en los estudios aerobiológicos, en algunos casos con estudios destinados a una aplicación médica y otros a estudios de biología de especies, a estudios agronómicos y a interpretaciones paisajísticas. Un importante impulsor de los estudios de la diversidad de agentes alérgicos en la atmósfera y biólogo de formación fue PHILIP HERRIES GREGORY (1907-1986)¹². Su obra *The microbiology of the atmosphere*^{13,14} ha sido un libro de cabecera de muchos aerobiólogos actuales. Gregory trabajó diversos aspectos de la micología, aplicada a la agricultura y a la medicina, especialmente aspectos ligados a la biología y a la producción y la dispersión de esporas de algunas especies fúngicas. Gregory dirigió, entre otros estudiantes, a JIM M. HIRST, quien desarrolló, para resolver algunos de los problemas que se planteaban en el estudio de la epidemiología del mildiu de la patata (*Phytophthora infestans*), el captador de esporas automático y volumétrico¹⁵ que aún hoy se utiliza en los estudios aerobiológicos y que se ha establecido como estándar en las redes españolas y europeas.

LA PALINOLOGÍA, UN INSTRUMENTO PARA EL ESTUDIO DE LA POLINOSIS

HYDE¹⁶ describió la palinología como el estudio de las esporas de las plantas y su dispersión y aplicaciones. En un principio, la palinología estaba dedicada a estudios de historia de la vegetación y de análisis de pólenes retenidos en los sedimentos turbosos y minerales y se conocía con el nombre de paleopalinología.

Pronto surgió otra rama, la aeropalinología, o estudio de pólenes y esporas aerovagantes o de difusión a través del aire. En la última década del siglo XX, el término aeropalinología tendió a ser sustituido por un término, aerobiología, que había sido propuesto por Fred Campbell Meier¹⁷ hacía ya sesenta años y que empezó a divulgarse, de momento con poca aceptación, en el *Symposium on extramural and intramural aerobiology* celebrado en la década de los años 40 del siglo XX. Edmonds y Benninhoff¹⁸ y Edmonds¹⁹, en la década de los 70 del siglo XX, incidieron en que resurgiera con gran fuerza el término aerobiología y la investigación en este ámbito científico. En el año 1974 se creó la *International Association for the Aerobiology*, IAA, (HYPERLINK: <http://www.isac.cnr.it/aerobio/>) y a partir de este momento empezaron a constituirse también redes nacionales (locales y autonómicas) en diversos países europeos.

LA ACTUALIDAD DE LOS ESTUDIOS AEROBIOLÓGICOS

Tradicionalmente, los estudios aerobiológicos destinados a una aplicación clínica se proponen catalogar la diversidad de pólenes y/o esporas de hongos alergénicos y cuantificar cada uno de los táxones reconocidos. Los estudios se prolongan a lo largo de uno o más ciclos anuales para así establecer calendarios que evidencien los períodos de presencia en la atmósfera y la sucesión de los diversos alérgenos atmosféricos a lo largo del año.

Una de las hipótesis que promulgan muchos estudios aerobiológicos de las últimas décadas es que se pueden elaborar modelos de previsión del inicio y de la importancia (concentraciones alcanzadas) de la polinización. Estos modelos, cuando establecidos para pólenes y esporas alergógenos, deben ser de gran utilidad para la prevención de la aparición de las alergias y su tratamiento en el momento preciso. El hecho de que los modelos de previsión incluyen necesariamente parámetros meteorológicos en sus fórmulas y la conocida variabilidad de los mismos explican que la aplicación de los modelos tenga carácter local. En el momento de redactar este capítulo debe hacerse constar que falta aún mucha investigación en este sentido.

A inicios del siglo XXI y delante la creciente preocupación por el cambio climático y el calentamiento global, algunos estudios aerobiológicos intentan también evidenciar o deducir estos procesos de las series de datos obtenidos en diversos años de estudio y también prever cómo puede afectar a las alergias respiratorias.

Desde los primeros trabajos hasta los que se desarrollan hoy en día se ha dado distintos nombres (micrografía, aeropalinología, aerobiología) a estudios con los mismos fines. Lo que ciertamente ha facilitado muchísimo las posibilidades de ejecución de estos trabajos son, no sólo la cantidad de especialistas que pueden dedicarse a este tipo de estudios y su diversa formación, sino también los medios técnicos que se han ido desarrollando a lo largo del tiempo. En el campo de la microscopía, los avances en microscopía óptica y la aparición de la microscopía electrónica de barrido o *scanning* permiten la observación de las partículas aerotransportadas en condiciones muy buenas y, por tanto, una identificación más precisa. También se están desarrollando técnicas inmunoquímicas que se han incorporado al reconocimiento de los pólenes y esporas y al diagnóstico de las patologías.

Hoy en día podemos también pensar que en un futuro no muy lejano los estudios aerobiológicos estarán aun más extendidos, especialmente si progresan las investigaciones que se están llevando a cabo y que persiguen el reconocimiento automático o semiautomático de pólenes y esporas aplicando técnicas de tratamiento de imágenes o la identificación de los mismos a partir de técnicas inmunológicas.

ESTUDIOS AEROBIOLÓGICOS EN ESPAÑA

Un estudio reciente de Fernández-González et al.²⁰ hace referencia, basándose en Berton (1930)²¹, a que los primeros trabajos realizados en España, fueron de patología vegetal más que aerobiológicos, siendo

sus autores González Frago y Unamuno. También cita que el pionero español en la observación del papel alérgico de las esporas de hongos fue Jiménez Díaz, en el año 1924. Sus investigaciones coincidieron en el tiempo con las de los precursores de esta ciencia en el resto del mundo.^{20,21}

La tesis doctoral presentada en 1988 por J Belmonte²², realizada bajo la dirección de JM Roure, los dos autores de este capítulo, presentaba una recopilación de los autores que habían publicado sobre aerobiología en España hasta la década de los 80 del siglo XX.

Con base en los trabajos de Fernández y Belmonte citados anteriormente puede reconstruirse la historia de los trabajos aerobiológicos en España. Esta relación histórica, que corresponde a trabajos publicados en el siglo XX, se presenta por décadas y se ha realizado hasta la década de los 80. Por razones que resultan evidentes cuando se observa la gran cantidad de trabajos publicados en la década de los 80 y se sabe que en las décadas siguientes las publicaciones crecieron y siguen creciendo notable e ininterrumpidamente, la historia de las publicaciones abarca hasta 1989.

La relación que se presenta hace evidente que los precursores de los estudios aerobiológicos en España fueron primordialmente médicos y que los biólogos, mayoritariamente especialistas en Botánica, empezaron a trabajar en esta especialidad científica más adelante y con gran intensidad a partir de la década de los años 80 del siglo XX. Muchos de estos botánicos derivaron sus trabajos hacia la aerobiología partiendo de una formación inicial en el campo de la palinología.

También puede observarse en esta relación cómo el auge de las publicaciones científicas de estudios aerobiológicos en España se ve ligada, en sus comienzos, a la celebración de congresos y simposios de ámbito español. Más adelante, cuando los equipos de investigadores se han ido consolidando, ha aumentado considerablemente la participación en congresos y simposios internacionales y el número de publicaciones en revistas también internacionales.

Desde el punto de vista de los autores, el trabajo conjunto de especialistas en aerobiología (sean de formación biológica o médica) y en medicina de las enfermedades respiratorias es imprescindible para avanzar rápida y provechosamente. No debe olvidarse que ya es también imprescindible contar con la colaboración de especialistas en meteorología, climatología, bioquímica, estadística, epidemiología, informática, tratamiento de imágenes.

Reunidos en las décadas correspondientes, se cita el autor o autores de los trabajos ordenados según año de publicación del trabajo y, dentro del año, con ordenación alfabética.

Década años 30 siglo XX

Jiménez Díaz (1932)²³, Sánchez Cuenca (1934)²⁴ y Darder y Duran (1936)²⁵

Década años 40 siglo XX

Barrios (1942)²⁶, Díaz Rubio y Barrios (1942)²⁷, Alemany (1943)²⁸, Vieitez (1945)²⁹, Sanjuán (1946)³⁰, Vieitez (1946)^{31,32}, Posse (1946)³³, Vieitez (1947)³⁴, Muñoz Medina (1949)³⁵, Surinyach (1949)³⁶.

Década años 50 siglo XX

Surinyach (1950)^{37,38}, Cruz Auñón (1951)³⁹, Montserrat (1951)⁴⁰, Montserrat (1953)^{41,42,43}, Alemany (1954)⁴⁴, Canto (1954)⁴⁵, Gavilanes y Montserrat (1954)⁴⁶, López Barrantes (1954)⁴⁷, Montserrat (1954)^{48,49}, Posse (1954)⁵⁰, Surinyach (1954)⁵¹, Font (1955)⁵², Alemany (1956)⁵³, Surinyach, Montserrat y Font (1956)⁵⁴, Pla (1958)^{55,56}.

Década años 60 siglo XX

Surinyach (1960)⁵⁷, Pla (1961)⁵⁸, López Botet, Mansanet y Espacio (1965)⁵⁹.

Década años 70 siglo XX

Izco, Ladero y Sáenz (1972)⁶⁰, Charpin y Surinyach (1974)⁶¹, Álvarez (1978)⁶².

Década años 80 siglo XX

Subiza (1980)⁶³, Cambon (1981)⁶⁴, Candau, Conde & Chaparro (1981)⁶⁵, Cambon (1983)⁶⁶, Gorgues y Olivé (1983)⁶⁷, Linares, Gómez y Andi6n (1983)⁶⁸, Pérez de Zabalza y 6lvarez (1983)⁶⁹, S6enz y Guti6rrez (1983)⁷⁰, Su6rez y Seoane (1983)⁷¹, Belmonte, Botey, Cadah6a y Roure (1984)⁷², Chaparro y Conde (1984)⁷³, Dom6nguez, 6bera y Gal6n (1984)⁷⁴, Ferreira y Font6n (1984)⁷⁵, Linares y Blanco (1984)⁷⁶, P6rez de Zabalza, 6lvarez y L6pez Fern6ndez (1984)⁷⁷, Subiza (1984)^{78,79}, Belmonte (1985)⁸⁰, Belmonte y Roure (1985)⁸¹, G6lvez y 6bera (1985)⁸², Belmonte, Botey, Cadah6a y Roure (1984)⁸³, Ma6as (1986)⁸⁴, Seoane (1986)⁸⁵, Belmonte (1987)^{86,87}, Gal6n (1987)⁸⁸, Id6goras (1987)⁸⁹, Infante (1987)⁹⁰, Ma6as y Belmonte (1987)⁹¹, Roure y Belmonte (1987)^{92,93}, Subiza (1987)⁹⁴, Subiza y Jerez (1987)⁹⁵, Belmonte (1988)²², Mart6n (1988)⁹⁶, Iglesias, Jato y Izco (1988)⁹⁷, Infante, Gal6n, Dom6nguez y Ruiz de Clavijo (1988)⁹⁸, Portillo (1988)⁹⁹.

BIBLIOGRAFÍA

1. DIVERSOS AUTORES. *Gran Enciclopedia Catalana*. Enciclopedia Catalana S.A., 1978; 11: 754.
2. BLACKLEY CH. *Experimental researches on the causes and nature of Catarrhus Aestivus (Hay fever or Hay asthma)*, 1873: 1-202. (Reprinted by Dawson's. London. 1959).
3. CADHAM FT. ASTHMA DUE TO GRAIN RUST. J. Amer. Med. Ass., 1924; 83: 27-32.
4. COMTOIS P. *Historical biography. The experimental research of Charles H. Blackley*. Aerobiologia, 1995; 11: 63-68.
5. BOSTOCK J. *Case of a periodical affection of the eyes and chest*. Med. Chir. Trans., 1919; 10:161.
6. ARIATTI A., MANDRIOLI P. *Lazzaro Spallanzani: a blow against spontaneous generation*. Aerobiologia, 1993; 9: 101-107.
7. ARIATTI A., COMTOIS P. *Louis Pasteur: the first experimental aerobiologist*. Aerobiologia, 1993; 9: 5-14.
8. PASTEUR L. *M6moire sur les corpuscules organis6s qui existent dans l'atmosph6re. Examen de la doctrine des g6n6rations spontan6es*. Annales des Sciences Naturelles (partie Zoologique), 4e s6rie, 1861; XVI, 5-68.
9. COMTOIS P. *Historical biography. Pierre Miquel: the first professional aerobiologist*. Aerobiologia, 1997; 13: 75-82.
10. MIQUEL P. *Les organismes vivants dans l'atmosph6re*. Gauthier-Villars, Paris, 1883: 310 pp.
11. COMTOIS P. *John Tyndall and the floating matter of the air*. Aerobiologia, 2001; 17: 193-202.
12. HIRST, JM. *Biography of an aerobiologist*. PH. Gregory 24.7.1907-9.2.1986. Aerobiologia, 1992; 8: 209-218.
13. GREGORY PH. *The microbiology of the atmosphere*. Leonard Hill, London, 1961: XV+251 pp.
14. GREGORY PH. *The microbiology of the atmosphere. 2nd edition*. Leonard Hill, Aylesbury, 1973: XIX+277 pp.
15. HIRST JM. *An automatic volumetric spore trap*. Ann. Appl. Biol., 1952; 39: 257-265.
16. HYDE HA. *Pollen analysis and the museums*. Museums journal, 1944; 44: 145-149.
17. HASKELL RJ, BARSS HP. *Fred Campbell Meier, 1893-1938*. Phytopathology, 1939; 29E: 293-302.
18. EDMONDS RL, BENNINGHOFF WS. *Aerobiology and its modern applications*. US/IPB Aerobiology Report n6 3. Botany Department, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, 1973: 1-18.
19. EDMONDS RL. (ED). *Aerobiology. The ecological system approach*. Dowden, Hutchinson & Ross, Stroudsburg, 1979.
20. FERN6NDEZ-GONZ6LEZ D, JATO V, GAL6N C. *La aerobiolog6a en Espa6a: desarrollo de la REA/AEA. Libro homenaje al profesor Moreno Clavel*. Ed. Universidad de Murcia, 1999; volumen 6nico: 389-396.
21. BERTON P. *Asthma due to mold Aspergillus fumigatus*. J. Amer. Med. Ass., 1930; 189-195.
22. BELMONTE J. *Identificaci6, estudi i evoluci6 anual del contingut pol6nic a l'atmosfera de Catalunya i Balears*. Tesi Doctoral. Universitat Aut6noma de Barcelona, 1988.
23. JIM6NEZ D6AZ C. *El asma y otras enfermedades al6rgicas*. Edit. Espa6a, Madrid, 1932: 1-999.
24. S6NCHIZ CUENCA B. *Polinosis. Estudio bot6nico y cl6nico del problema*. Ed. Cient6fico/M6dica, Barcelona, 1934, 1-232.
25. DARDER JB, DURAN JORDA F. *Estudios del factor pol6nico del aire de Barcelona*. Rev. Med. Barcelona, 1936: 101-132.
26. BARRIOS GUTI6RREZ J. *Estudio pol6nico primaveral del campo de Sanl6car de Barrameda y sus deducciones para la cl6nica*. Rev. Clin. Esp., 1942; 6: 29-33.
27. D6AZ RUBIO M, BARRIOS GUTI6RREZ J. *Las polinosis en C6diz*. Rev. Cl6n. Esp., 1942; 4: 344-348.
28. ALEMANY R. *Contribuci6n al estudio de las gram6neas de Barcelona como aplicaci6n a la alergia respiratoria*. Med. Cl6nica, 1943; 1: 54-57.
29. VIEITEZ E. *Polen y clima de Santiago de Compostela*. Anal. Inst. Bot. Cavanilles, 1945; 6: 159-171.
30. SANJU6N FUENTES J. *La primavera pol6nica en la zona de T6nger*. La Medicina colonial.1946.
31. VIEITEZ E. *Estudios bot6nicos sobre la flora alerg6gena y contenido pol6nico de la atm6sfera de la comarca de Santiago de Compostela*. Tesis Doctoral. 1946. Madrid.
32. VIEITEZ E. *Estudios bot6nicos sobre la flora alerg6gena y contenido pol6nico de la atm6sfera de la comarca de Santiago de Compostela*. Anal. Inst. Edaf. Ecol. y Fisiol. Veget., 1946; 5: 308-39.
33. POSSE JM. *Contribuci6n al estudio de la alergia respiratoria en Vizcaya*. Archivos del Hospital Civil de Basurto, 1946; 2: 25-87. Bilbao.
34. VIEITEZ E. *An6lisis pol6nico atmosf6rico de Pontevedra y estudio de la flora alerg6gena de su comarca*. Anal. Inst. Edaf. Ecol. y Fisiol. Veget., 1947; 13: 191-244.

35. MUÑOZ MEDINA J. *Una introducción al estudio de los alérgenos polínicos de Granada*. Real Academia de Medicina de Granada, 1949; 13: 36 pp.
36. SURINYACH R. *Unificación de técnicas para el estudio de las condiciones botánicas en relación con el asma en España*. I Congreso Nacional de Alergia, 1949: 60 pp. Madrid.
37. SURINYACH R. *Aerobiología aplicada a la Alergia. Condiciones botánicas para la polinosis en España y Países Iberoamericanos*. Antihistamínicos de síntesis. 1950; 29 pp. Apéndices a la traducción española de Urbach E, Gottlieb PH M: Allergy. Salvat Editores. Barcelona.
38. SURINYACH R. *Observaciones sobre el contenido en polen del aire de Cardó en relación con la fiebre del heno y asma polínicos*. In Font Quer P Flórula del Cardó, 1950 ; 48-51. Barcelona.
39. CRUZ AUÑÓN J. *Influencia del clima sobre la alergia*. Ponencia al II Congreso Nacional de Alergia, 1951. Sevilla.
40. MONTSERRAT P. *Análisis polínico del aire de Barcelona I*. Public. Inst. Biol. Aplic., 1951; 8: 209-221.
41. MONTSERRAT P. *Análisis polínico del aire de Barcelona II*. Public. Inst. Biol. Aplic., 1953; 13: 115-120.
42. MONTSERRAT P. *El polen atmosférico del aire de Barcelona en 1951*. Public. Inst. Biol. Aplic., 1953; 13: 121-128.
43. MONTSERRAT P. *La polinosis en Canarias. Plantas susceptibles de producir polinosis, su distribución y épocas de polinización*. El Museo Canario, 1953: 45-48. Las Palmas.
44. ALEMANY R. *Polinosis*. Edit. Paz Montalvo, Madrid, 1954.
45. CANTO BORREGUERO G. *Aportación botánica al tapiz vegetal de la duna de Castilla la Vieja y a sus relaciones con la fiebre del heno*. Publicación del III Congreso Nacional de Alergia, 1954: 271-280.
46. GAVILANES CR, MONTSERRAT P. *La polinosis en Canarias*. Publicación del III Congreso nacional de Alergia, 1954: 299-302.
47. LÓPEZ BARRANTES V. *Aportación personal al estudio de las polinosis en la zona central de la Península*. Publicación del III Congreso nacional de Alergia, 1954: 259-269.
48. MONTSERRAT P. *Flora alergógena de Canarias*. III Congreso Nacional de Alergia. 1954.
49. MONTSERRAT P. *Observaciones sobre el polen de la atmósfera marina*. Collect. Bot., 1954; 4: 161-172.
50. POSSE JM. *Las polinosis en Vizcaya*. Publicación del III Congreso nacional de Alergia, 1954: 291-298.
51. SURINYACH R. *Contribución a la ponencia Polinosis*. Publicación del III Congreso nacional de Alergia, 1954: 280-284.
52. FONT R. *El polen atmosférico de Barcelona en 1953*. Public. Inst. Biol. Aplic. 1955. Barcelona.
53. ALEMANY R. *Casos de polinosis en 1954-55*. Med. Clínica, 1956; 26: 100-108.
54. SURINYACH R, MONTSERRAT P, FONT R. *Epidemiología de la polinosis en Barcelona*. Anales de Medicina (Secc. Med.), 1956; 42: 36-62.
55. PLA JM. *Nueva técnica para la valoración del polvo atmosférico especialmente útil en determinaciones palinológicas*. Pharmacia mediterránea, 1958; 2: 201-216.
56. PLA JM. *Aeropalinología gerundense*. Anales Instituto Estudios Gerundenses, 1958; 12: 63-88.
57. SURINYACH R. *Observations on some aerobiological standards in North-East Spain*. Acta allergologica, 1960; 15: 151-157.
58. PLA JM. *Polen*. Talleres gráficos D.C.P., Girona, 511 pp., 1961.
59. LÓPEZ BOTET E, MANSANET J, ESPACIO L. *Las polinosis en el Levante español*. Medicamenta, 1965; 417:14-17.
60. IZCO J, LADERO M, SÁENZ C. *Flora alergógena de España. Distribución, descripción e interés médico-alergológico de las especies responsables de síndromes alérgicos*. Anal. Real Acad. Farmacia, 1972; 38: 521-570.
61. CHARPIN J, SURINYACH R. *Atlas Européen des pollens allergisants*. Sandoz ed. Paris, 1974.
62. ÁLVAREZ R. *Estudio del polen atmosférico primaveral de la ciudad de Pamplona*. Tesis de Licenciatura. Universidad de Navarra, Pamplona, 1978.
63. SUBIZA E. *Incidencia de granos de pólenes en la atmósfera de Madrid*. Método volumétrico. Allergol. et Immunopatol., 1980; Suplementum VII.
64. CAMBON G. *Rélations entre le contenu pollinique de l'atmosphère et le couvert vegetal en Méditerranée occidentale à Montpellier (France), Valencia (Espagne) et Oran (Algerie)*. Tesis Doctoral. Université Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 1981.
65. CANDAU P, CONDE J, CHAPARRO A. *Palinología en Oleaceae, incidencias de su polen en el aire de Sevilla, clínica de la polinosis*. Bot. Macar., 1981; 8-9: 89-102.
66. CAMBON G. *Caractères du spectre pollinique de l'atmosphère de Valencia*. Actas IV Simposio de Palinología, 1983; 223-232. Barcelona.
67. GORGUES RM, OLIVÉ A. *Estudios aerovolumétricos del polen de interés alergénico en Barcelona*. In: Solé N, Suarez M (eds). Actas IV Simposio Palinología. Publicacions i edicions de la Universitat de Barcelona, 1983; 309-313.
68. LINARES P, GÓMEZ JA, ANDION R. *Estudio aerobiológico mediante método volumétrico de la atmósfera de Valladolid, durante los años 1982, 1983*. In: Solé N, Suarez M (eds). Actas IV Simposio Palinología. Publicacions i edicions de la Universitat de Barcelona, 1983; 261-267.
69. PÉREZ DE ZABALZA AI, ÁLVAREZ R. *Estudio anual del polen atmosférico de la ciudad de Pamplona*. In: Solé N, Suarez M (eds). Actas IV Simposio Palinología. Publicacions i edicions de la Universitat de Barcelona, 1983; 251-260.
70. SÁENZ C, GUTIÉRREZ M. *El contenido polínico de la atmósfera de Madrid*. Anales Jardín Botánico Madrid, 1983; 39: 433-463.
71. SUÁREZ M, SEOANE JA. *Estudio del contenido polínico de la atmósfera de Barcelona según un nuevo método de filtración*. Collect. Bot., 1983; 14: 587-615.
72. BELMONTE J, BOTEY J, CADAHÍA A, ROURE JM. *Estudio polínico de la atmósfera de Catalunya. Avance de resultados 1983*. Laboratorios Leti SA. Barcelona, 1984.
73. CHAPARRO A, CONDE J. *Estudio y comentarios de las estaciones mediterráneas costeras*. XIV Congreso Nac. Soc. Esp. Alergia e Inmunología clínica, Alergia e Inmunología Abelló, S.A., 1984: 44-49.
74. DOMÍNGUEZ E, ÚBERA JL, GALÁN C. *Polen alergógeno de Córdoba*. Publicaciones Monte de Piedad y Caja de Ahorros de Córdoba. Córdoba. 149 pp., 1984.
75. FERREIRO M, FONTÁN J. *Estudio y comentarios de las estaciones atlánticas y cantábricas costeras*. XIV Congreso Nac. Soc. Esp. Alergia e Inmunología clínica, Alergia e Inmunología Abelló, S.A., 1984: 51-56.
76. LINARES P, BLANCO A. *Estudio y comentarios de las estaciones de clima continental*. XIV Congreso Nac. Soc. Esp. Alergia e Inmunología clínica, Alergia e Inmunología Abelló, S.A., 1984: 57-76.

77. PÉREZ DE ZABALZA AI, ÁLVAREZ R, LÓPEZ FERNÁNDEZ ML. *Contenido polínico anual de la atmósfera de Pamplona y su relación con las variables climatológicas diarias*. Anales Asoc. Pal. Lengua Esp., 1984; 1: 77-86.
78. SUBIZA E. *Informe de 17 estaciones de España (método volumétrico). Incidencia de pólenes*. XIV Congreso Nac. Soc. Esp. Alergia e Inmunología clínica, Alergia e Inmunología Abelló, S.A., 1984: 41-43.
79. SUBIZA E. *Resumen y conclusiones al mapa polínico de España*. XIV Congreso Nac. Soc. Esp. Alergia e Inmunología clínica, Alergia e Inmunología Abelló, S.A., 1984: 77-86.
80. BELMONTE J. *Aeropalinología, estudi de l'àrea de Bellaterra*. In El Medi Natural del Vallès, I Col·loqui de Naturalistes vallesans. Annals del C.E.E.M., 1985; 1: 49-53.
81. BELMONTE J, ROURE JM. *Contenido polínico de la atmósfera de Catalunya. Resultados año 1983*. An. Asoc. Palinol. Lengua Esp. 1985; 2: 319-328.
82. GÁLVEZ C, ÚBERA JL. *Nuevas aportaciones al catálogo aeropalinológico de Córdoba; plantas exóticas*. An. Asoc. Palinol. Lengua Esp. 1985; 2: 215-225.
83. BELMONTE J, BOTEY J, CADAHÍA A, ROURE JM. *Estudio polínico de la atmósfera de Catalunya. Avance de resultados 1983*. Laboratorios Leti SA. Barcelona, 1986.
84. MAÑAS A. *Estudi de la variació del contingut pol·l·nic a l'atmosfera de l'alta muntanya*. Tesina. Universitat Autònoma de Barcelona. 1986.
85. SEOANE C. *Estudio aeropalinológico del área de Sabadell (1978-1979)*. Tesina. Universitat Autònoma de Barcelona. 1986.
86. BELMONTE J. *Datos para el estudio de la dinámica de la circulación del polen aerovagante en Cataluña*. Actas VI Simposio de palinología, 1987; 177-182.
87. BELMONTE J. *Mapa polínico de Catalunya*. Monografía Societat Catalana d'Al·lèrgia i Immunologia Clínica sobre Jornada Internacional de Alergia Alimentaria y III Reunión Conjunta con alergólogos e Inmunólogos del Sur, 1987; 129-143.
88. GALÁN C. *Catalogación y modelos de variación de polen aerovagante de la ciudad de Córdoba*. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba. 1987.
89. IDÍGORAS I. *Estudio del método de filtración activa en aerobiología en la ciudad de Barcelona*. Tesina. Facultad de Farmacia, Universitat de Barcelona. 1987.
90. INFANTE F. *Identificación, cuantificación y variación estacional de microhongos aerovagantes de interiores y exteriores de hogares de la ciudad de Córdoba*. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba. 1987.
91. MAÑAS A, BELMONTE J. *Evolución de la dinámica anual del espectro polínico del pirineo catalán (Alt Urgell)*. Actas VI Simposio de palinología, 1987; 199-204.
92. ROURE JM, BELMONTE J. *Relaciones entre la producción polínica y la producción en biomasa en las comunidades forestales*. Actas VI Simposio de palinología, 1987; 205-210.
93. ROURE JM, BELMONTE J. *Mecanismos de previsión de la polinización*. Monografía Societat Catalana d'Al·lèrgia i Immunologia Clínica sobre Jornada Internacional de Alergia Alimentaria y III Reunión Conjunta con alergólogos e Inmunólogos del Sur, 1987; 145-155.
94. SUBIZA E. *Curvas aerobiológicas en España de Urticáceas*. Monografía Societat Catalana d'Al·lèrgia i Immunologia Clínica sobre Jornada Internacional de Alergia Alimentaria y III Reunión Conjunta con alergólogos e Inmunólogos del Sur, 1987; 157-169.
95. SUBIZA E, JEREZ M. *Consideraciones aerobiológicas del polen de Gramíneas y su interés en la epidemiología y la clínica de la polinosis en España*. Actas VI Simposio de palinología, 1987; 211-220.
96. MARTÍN J. *Estudi del pol·len aerovagant de Barcelona*. Tesis Doctoral. Universitat de Barcelona. 1988.
97. IGLESIAS I, JATO V, IZCO J. *Contenido polínico e la atmósfera de la ciudad de Orense, primeros resultados (marzo 1986-marzo 1987)*. An. Asoc. Palinol. Leng. Esp., 1988; 4: 54-63.
98. INFANTE F, GALÁN C, DOMÍNGUEZ E, RUIZ DE CALVIJO E. *Contribución al estudio aeromicológico de la atmósfera de la ciudad de Córdoba*. Género Cladosporium Link ex Fr. Revista Iberoamericana de Micología, 1988; 5: 118-126.
99. PORTILLO JR. *Estudio palinológico y micológico en Zaragoza. Su contribución para el conocimiento del perfil etiopatogénico del asma bronquial*. Tesis Doctoral. Facultad de medicina. Universidad de Zaragoza. 1988.

Introducción a la biología molecular

J. CONDE HERNÁNDEZ

Servicio Regional de Inmunología y Alergia.
Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

M.^a A. CONDE ALCANIZ

Servicio de Alergia
Clínica Santa Isabel. Sevilla

E. M.^a CONDE ALCANIZ

Centro de Salud El Juncal
Sevilla

M. MILLER GUERRERO

Hospital Virgen de las Montañas
Villamartín. Cádiz

La Biología Molecular es una ciencia cuyo objetivo fundamental es la comprensión de todos aquellos procesos celulares que contribuyen a que la información genética se transmita eficientemente de unos seres a otros, y se exprese en los nuevos individuos.

Este conocimiento ha permitido cruzar barreras naturales entre especies y colocar genes de cualquier organismo en un organismo huésped no relacionado, mediante el empleo de técnicas de ingeniería genética. Una de las consecuencias importantes derivadas fue la producción de fragmentos de ácidos nucleicos a gran escala, abriendo las puertas a la secuenciación de los ácidos nucleicos, y por ende a nuevas disciplinas como el diagnóstico molecular, la terapia génica o la obtención de organismos superiores recombinantes.

Cronológicamente podemos citar una serie de hitos que contribuyeron decisivamente en su desarrollo: la historia de su conocimiento comienza en el año 1866 cuando Mendel publica sus experimentos conducentes a los principios de segregación y clasificación independiente de los genes. En 1869, el científico suizo Frederick Miescher descubrió en el núcleo de las células una sustancia de carácter ácido a la que llamó nucleína. En los años 20, el químico alemán Robert Feulgen, utilizando una tinción específica, descubrió que el DNA estaba situado en los cromosomas. A partir de este descubrimiento todo sucedió muy rápidamente. En 1944, Avery, McCleod y McCarty comprueban que el DNA es el portador de la información genética. En 1953, Watson y Crick revelan la estructura del DNA como una doble hélice complementaria que recuerda la estructura de una escalera de caracol. A partir de entonces y de manera exponencial, se suceden los descubrimientos (enzimas de restricción, polimerasas, etc...) que conducirán a lo que se conoce como tecnología del DNA recombinante.

La miscelánea de formas biológicas visibles descansa sobre una marcada identidad: todos los sistemas biológicos se componen de los mismos tipos de moléculas y emplean principios de organización similares a nivel celular.

El estudio de las peculiaridades de las moléculas de la vida, se basa en conceptos y técnicas experimentales derivadas de la bioquímica, la genética y la biología, sentando las bases de una nueva disciplina llamada biología celular y molecular, que investiga el desarrollo, funcionamiento, comunicación y control de actividades a nivel celular.

Parece razonable tomar como punto de partida la biología de las células, ya que un organismo puede considerarse compuesto por células en interacción, las cuales son lo más cercano que existe a unidades biológicas autónomas.

El origen de la biología molecular comienza con el descubrimiento de la molécula maestra de la célula, el ácido desoxirribonucleico (DNA), por James D. Watson y Francis H. C. Crick en 1953. Hoy sabemos que los genes, compuestos desde el punto de vista químico por DNA, definen en última instancia la estructura biológica y mantienen la integración de la función celular.

Podemos considerar el DNA o ácido desoxirribonucleico como el *cerebro* celular que regula el número y naturaleza de cada tipo de estructura y composición celular, transmitiendo la información hereditaria y determinando la estructura de las proteínas que, a través de enzimas, determinará el resto de funciones celulares.

A finales del siglo pasado, se descubrió también la existencia de una segunda clase de ácido nucleico, denominado ácido ribonucleico (RNA). El RNA se encuentra tanto en el núcleo (concretamente en el nucleolo) como en el citoplasma de las células, de manera abundante.

Ambos tipos de ácido nucleico, DNA y RNA, se encuentran simultáneamente en organismos eucariotas (con células de núcleo diferenciado) y procariotas (bacterias, etc.), y sólo uno de ellos en los virus.

Los ácidos nucleicos contienen la información que determina la secuencia de aminoácidos en las proteínas, intervienen en las distintas estructuras celulares que seleccionan los aminoácidos de una cadena proteica y posteriormente los unen en el orden correcto.

El ácido desoxirribonucleico (DNA), es el soporte físico que contiene toda la información genética de un organismo. Esta información se dispone en unidades hereditarias que controlan los rasgos identificables de un organismo, denominadas genes.

En el proceso de transcripción, la información almacenada por el DNA es copiada por el ácido ribonucleico (RNA). Esta información se transcribe a varios tipos de ácido ribonucleico (RNA): RNA mensajero (mRNA), RNA de transferencia (tRNA) y RNA ribosómico (rRNA), que intervienen en la síntesis de proteínas.

El DNA y el RNA, son polímeros lineales compuestos por monómeros, denominados nucleótidos. Los cuatro nucleótidos que componen el DNA y el RNA tienen una estructura común, un grupo fosfato unido por un enlace fosfoester a una pentosa que, a su vez, se une a una base orgánica. En el DNA, la pentosa es la desoxirribosa y en el RNA es la ribosa. Los nucleótidos difieren además en una de las cuatro bases orgánicas de los dos polímeros.

Las bases púricas adenina (A) y guanina (G) y la pirimidínica citosina (C) se encuentran en el DNA y RNA. La pirimidínica timina (T) se localiza en el DNA remplazándose por la pirimidínica uracilo (U) en el RNA.

La secuencia lineal de los nucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster constituye la estructura primaria de los ácidos nucleicos. Los polinucleótidos se repliegan para adoptar conformaciones tridimensionales.

La estructura tridimensional del DNA, es una molécula de doble hélice regular con giro hacia la derecha, compuesta por dos hebras complementarias unidas por enlaces entre las bases. La estabilización de la estructura se debe al apareamiento de las bases, formando a menudo los pares de bases de Watson-Crick, adeninatimina, guaninacitosina.

Durante la replicación, las dos hebras simples se separan formando cada una de ellas una hebra complementaria mediante la incorporación de bases, la adenina se une a la timina de la hebra molde, la guanina se une a la citosina y así sucesivamente. Con esto se obtiene una molécula de DNA idéntica a la original, duplicándose su material genético. Esta estructura es decisiva para el fenómeno de la herencia y la transferencia de una generación a otra de las características determinadas genéticamente.

Como dijimos anteriormente, el DNA está formado por dos hélices complementarias unidas por enlaces débiles de puentes de hidrógeno que pueden romperse y volverse a formar simplemente calentando y enfriando. A estos procesos se les llama respectivamente desnaturalización y renaturalización del DNA.

Partiendo de este concepto y de manera muy esquemática, la replicación del DNA en la naturaleza consiste en:

1. Separación de las dos cadenas que forman la doble hélice, de lo cual se encargan enzimas y proteínas que se encuentran en la célula eucariótica.
2. Unión de los cebadores (*primers* o iniciadores) de RNA en una de las hebras separadas. (3'→5')
3. Unión de la polimerasa a los lugares donde se encuentra el *primer* para comenzar a copiar de manera progresiva la hebra de DNA, ya que la polimerasa necesita un cebador que le indique dónde empezar, por ser incapaz de copiar DNA monocatenario.

El sentido de la síntesis es siempre $5' \rightarrow 3'$.

4. Constitución de las nuevas copias siempre formadas por una hebra madre y otra hija, por lo que al proceso se le denomina replicación semiconservativa del DNA.

De esta forma, de un DNA parental, tras su replicación, se obtienen dos moléculas hijas exactamente iguales.

La transcripción o formación de una sola cadena de RNA a partir de DNA es el siguiente paso para la comprensión de este proceso. Al igual que en la replicación del DNA, la adicción de bases complementarias transcribe de forma fiel la información genética al RNA mensajero (mRNA), que la transporta del DNA al citoplasma en código de tres bases o tripletes, cada una de las cuales especifica un aminoácido en particular. Cada aminoácido es codificado por una o más secuencia de tres bases o codones en el mRNA. Cada codón especifica un aminoácido, pero la mayoría de los aminoácidos son codificados por varios codones. El mRNA accede al citoplasma ubicándose en los ribosomas.

A partir del método de absorción de Southern, se descubrió la existencia en los organismos eucariotas de dos tipos de regiones de DNA, los exones, que contienen información para la codificación de proteínas y los intrones, que no expresan, no contienen información. Ambos se transcriben a las moléculas de mRNA, siendo eliminados los intrones, obteniéndose un mRNA maduro sin interrupciones. Este es el mRNA que se traslada al citoplasma celular y se une a los ribosomas, donde tiene lugar la traducción o síntesis de proteínas.

En la traducción, el RNA de transferencia (tRNA) es la clave para descifrar el código del mRNA, cada molécula específica de tRNA, contiene una secuencia de tres bases que se aparea con el código complementario en el mRNA. Cada tipo de aminoácido tiene su propio tRNA, que lo transporta hacia el extremo creciente de la cadena polipeptídica. En cada molécula de tRNA existe una región llamada anticodón que consta de un triplete de nucleótidos que cuya combinación de bases determina cual de los 20 aminoácidos posibles sea el que transporta. Las cadenas polipeptídicas sintetizadas pueden experimentar transformaciones después de la traducción hasta convertirse en proteínas funcionales. Las proteínas son polímeros lineales de aminoácidos unidos entre sí mediante enlaces peptídicos e interacciones entre aminoácidos en la secuencia lineal, estabilizan una estructura tridimensional plegada, específica para cada una de ellas. Los 20 aminoácidos diferentes que se encuentran en las proteínas naturales se agrupan por conveniencia en tres categorías, sobre la base de la naturaleza de los grupos laterales.

Las proteínas, funcionalmente versátiles, son las moléculas operadoras de la célula y llevan adelante el programa de actividades codificado por los genes. Los genes codifican proteínas. Las alteraciones en la estructura y organización de los genes proveen así la variación aleatoria que promueve el cambio evolutivo en la estructura y función biológicas.

Desentrañada la estructura del DNA y el código genético, quedó claro que muchos secretos biológicos profundos estaban encerrados en las bases del DNA. El descubrimiento de dos tipos biológicos de enzimas permitió el desarrollo de la clonación del DNA. Las denominadas enzimas de restricción cortan el DNA de cualquier organismo en secuencias específicas de unos pocos nucleótidos para generar un conjunto reproducible de fragmentos.

Las DNA ligasas insertan fragmentos de DNA de restricción en moléculas de DNA en proceso de replicación produciendo DNA recombinante.

Las moléculas de DNA recombinantes pueden introducirse dentro de moléculas adecuadas, por lo general bacterianas, todas las descendientes de una de estas células aisladas, denominadas clon, portan la misma molécula de DNA recombinante. Una vez aislado un clon de células portadoras de un segmento de DNA buscado, se pueden preparar cantidades ilimitadas de este DNA. La unión entre los abordajes bioquímico y genético mediante la tecnología de DNA recombinante proporciona una estrategia de enorme poder para el estudio del papel que desempeñan las proteínas particulares en los procesos celulares.

La tecnología de DNA recombinante comprende un gran número de técnicas, siendo las más relevantes las siguientes:

- Fragmentación, separación, secuenciación e identificación de moléculas de DNA.
- Hibridación de ácidos nucleicos.
- Clonación génica
- Aislamiento de genes
- Mapeado genético
- Ingeniería de DNA
- Genómica y proteómica
- Interferencia de RNA y silenciamiento de RNA

Las aplicaciones actuales de la biología molecular para el diagnóstico clínico son muy variadas:

Genética

1. Diagnóstico prenatal
2. Tipaje de HLA
3. Reordenamientos genéticos
4. Detección de espermatozoides aneuploides
5. Creación de mapas genéticos

Diagnóstico Microbiológico

1. Diagnóstico rápido de infecciones víricas
2. Detección de microorganismos en células infectadas/transformadas
3. Determinación de la relación genética entre varios tipos de microorganismos similares
4. Correlacionar la presencia/expresión de agentes virales/infecciosos en tejidos neoplásicos.
5. Determinar la resistencia a los antibióticos de las bacterias.
6. Epidemiología de las infecciones
7. Detectar y cuantificar microorganismos difíciles de cultivar o para los que no existen reactivos serológicos
8. Detectar regiones transformantes específicas en virus

Diagnóstico y clasificación de neoplasias y establecimiento de un pronóstico

1. Detectar reordenamientos de genes
2. Detectar reordenamientos en tumores humanos con anomalías consistentes cariotípicas
3. Detectar reordenamientos moleculares/anomalías de expresión genética en ausencia de alteraciones del cariotipo
4. Estudio de la estructura/expresión de oncogenes
5. Detección de amplificación genética/resistencia a drogas
6. Diagnóstico de *cell lineage* en base a la expresión genética

Laboratorio clínico/endocrinología

1. Detectar la producción de hormonas ectópicas

El impacto de la biología molecular en la inmunoquímica de alérgenos queda bien demostrado por el elevado número de alérgenos que han sido clonados y secuenciados en los tres últimos años. En 1988 Thomas y cols. Clonaron y expresaron como proteína recombinante, por primera vez, un alérgeno mayor de dermatofagoides *pteronyssinus*, Der p I. Desde entonces, se han obtenido mediante estas técnicas alérgenos derivados de Dermatofagoides, pólenes de árboles, malezas, gramíneas, epitelio de gato, hongos, veneno de himenópteros y alimentos, siendo el camino para abundar en el conocimiento de los alérgenos que pueden modificar la aptitud ante los enfermos alérgicos tanto en el terreno diagnóstico como en el terapéutico.

BIBLIOGRAFÍA

1. WATSON J, CRICK FH: *Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid*, Nature 171:737, 1953.
2. HOLLEY RW, APGAR J, EVERETT GA, ET AL: *Structure of a ribonucleic acid*, Science 147:1462, 1965.
3. MCCAIN WH: *Transfer RNA identity*, FASEB J 7:72, 1993.
4. WATSON JD: *The involvement of RNA in the synthesis of proteins*, Science 140:17, 1963.
5. STEM S, POWERS T, CHANGCHEN L-M, ET AL: *RNA-protein interactions in 30S ribosomal subunits: folding and function of 16S rRNA*, Science 244:783, 1989.
6. SO AG, DOWNEY KM: *Eukaryotic DNA replication*, Crit Rev Biochem Mol Biol 27:129, 1992.
7. MESELSON M, STAHL FW: *The replication of DNA in Escherichia coli*, Proc Natl Acad Sci USA 44:671, 1958.
8. LINN S: *How many pols does it take to replicate nuclear DNA?* Cell 66:185, 1991.
9. MERRICK WC: *Mechanism and regulation of eukaryotic protein synthesis*, Microbiol Rev 56:219, 1992.
10. PABO CO, SAUER RT: *Transcription factors: structural families and principles of DNA recognition*, Annu Rev Biochem 61:1053, 1992.
11. WEST SC: *Enzymes and molecular mechanisms of genetic recombination*, Annu Rev Biochem 61:603, 1992.
12. SHARP PA: *RNA interference*, Genes Dev 15:485, 2001.
13. HANNON GJ: *RNA interference*, Nature 418:244, 2002.
14. International Human Genome Sequencing Consortium: *Initial sequencing and analysis of the human genome*, Nature 409: 860, 2001.
15. VENTER JC, ADAMS MD, MYERS EW, ET AL: *The sequence of the human genome*, Science 291:1304, 2001.
16. SHARP PA: *RNA interference*, Genes Dev 15:485, 2001.
17. HANNON GJ: *RNA interference*, Nature 418:244, 2002.

Biología celular del polen: origen y función de los alergen^{os} polínicos

MARUXA SUÁREZ-CERVERA, JUAN A. SEOANE-CAMBA

Unidad Departamental de Botánica. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona

INTRODUCCIÓN

El grano de polen constituye la espora masculina, o microspora, de las plantas con flores, que incluyen tanto gimnospermas como angiospermas. Es el vehículo de los gametos masculinos o de sus células progenitoras, por lo que contiene toda la información genética necesaria para la unión con el gameto femenino. El proceso reproductivo en las plantas es muy complejo y en él intervienen proteínas y enzimas características. Los granos de polen de gimnospermas y muchas angiospermas que son liberados en la atmósfera para la polinización anemófila, forman parte natural de la misma y pueden provocar polinosis y asma en personas sensibles. Por ello, es importante conocer no solo la distribución de los granos de polen en el aire y las características moleculares de los alergen^{os} que ellos contienen, sino también el papel que estas moléculas, altamente interactivas, juegan en el desarrollo y germinación del polen, para poder diseñar estrategias preventivas y curativas eficaces.

ONTOGENIA DE LOS GRANOS DE POLEN Y EVOLUCIÓN DE LAS CÉLULAS DEL TAPETE

El proceso ontogénico del grano de polen o gametogénesis masculina, comienza en el saco polínico de la antera con la división de unas células esporofíticas diploides que reciben el nombre de células madres. La pared del saco polínico está formada por cuatro capas: epidermis, endotecio, capa intermedia y tapete. La capa mas interna es el tapete que constituye un tejido directamente implicado en la formación de los granos de polen^{1,2}.

Al inicio del proceso, las células madres se rodean de una envuelta especial de calosa (1-3, β glucano) que les proporciona un aislamiento parcial ya que permite el paso selectivo de moléculas provenientes del tapete (figura 1). Cada una de las células madres experimenta una división meiótica; como resultado de la cual se forma una tétrada haploide, que se mantiene unida durante un tiempo por la envuelta de calosa (figura 2). Seguidamente, y gracias a la acción de una calasa producida por las células del tapete, la pared de calosa se disuelve y las microsporas quedan libres en el lóculo del saco polínico. Al mismo tiempo, durante esta secuencia se va depositando la pared del grano de polen, mediante la influencia directa de las células del tapete. Las microsporas experimentan una transformación continuada en su contenido citoplasmático, sufriendo una mitosis que da lugar a dos células: una responsable de la fecundación (célula generativa) y otra de la nutrición (célula vegetativa)³. Se considera que la secuencia de hechos en el progreso ontogénico es el siguiente (ver gráfico página 40):

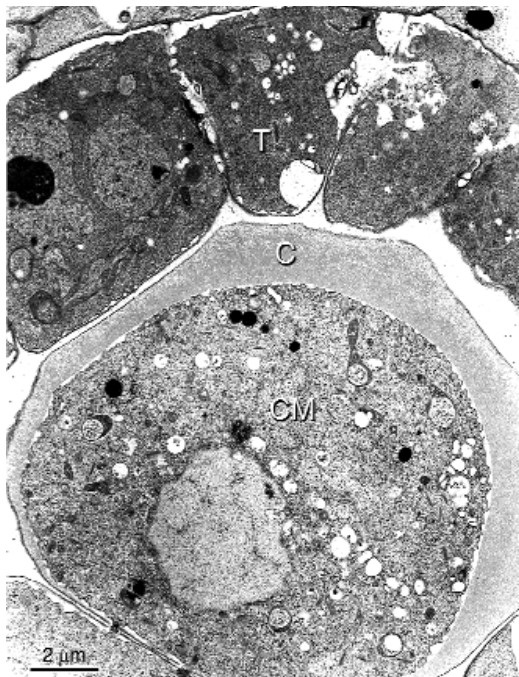


FIGURA 1. Células madres (CM) rodeadas de la pared especial de calosa (C). Células del tapete tapizando la pared del saco polínico (T). Microscopio electrónico de transmisión (MET).

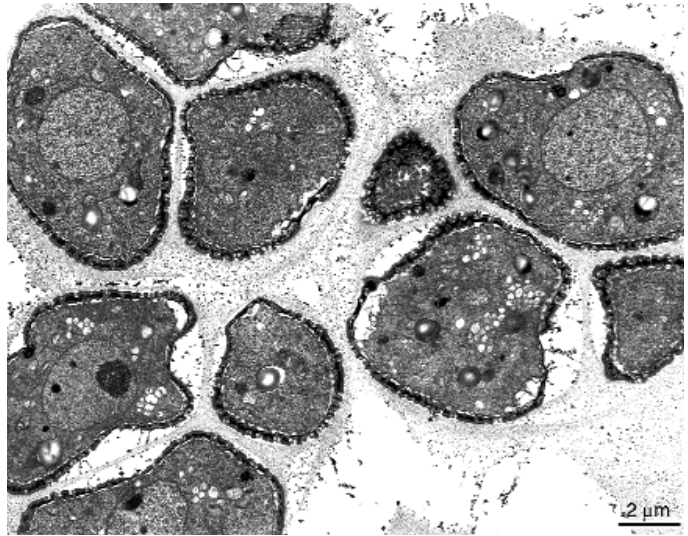
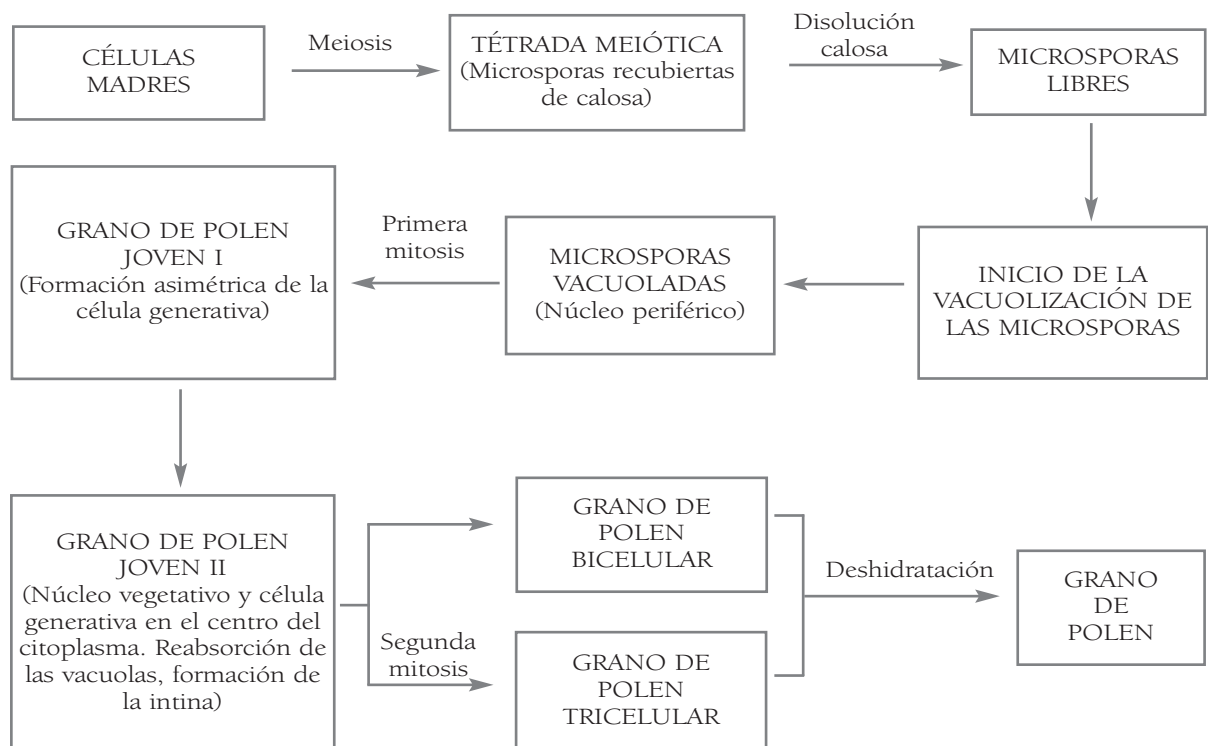


FIGURA 2. Microsporas agrupadas en tétradas. Fase de inicio de disolución de la capa de calosa. MET.



Durante el desarrollo de los granos de polen se establece un patrón de organización de la pared polínica, esporodermis, básicamente relacionado con la posición de las aperturas y estratificación y ornamentación de las dos capas principales: la *exina*, o capa más externa, formada a su vez por dos subcapas, ectexina y endexina (figura 3) y la *intina* o capa mas interna. La diversidad y complejidad de la pared polínica está directamente relacionada con las numerosas funciones que ésta tiene que llevar a cabo: proporciona protección física al contenido citoplasmático, determina las rutas de transferencia de agua y participa en el transporte de proteínas y enzimas involucradas en la interacción entre el polen y la superficie estigmática. Por otra parte, presenta una estructura muy elaborada, con un diseño específico, determinado genéticamente, que aporta caracteres taxonómicos de gran utilidad en el reconocimiento de los distintos tipos de polen.

Las capas principales de la esporodermis se depositan de manera secuencial en la superficie de la microspora. Se inicia con la formación de la primexina o glycocalix, que se sitúa entre la pared de calosa y la membrana plasmática. Es una capa de naturaleza mayoritariamente polisacárida, que se deposita centrípeta-mente y que actúa como una plantilla, con regiones receptivas y no receptivas, del material precursor de la exina, llamado esporopolenina. Los precursores de este material se sintetizan en las células del tapete y también en la microspora, de tal manera que ambas colaboran en la formación de la pared del polen. La capa más externa de la exina, ectexina, consiste inicialmente en estructuras de esqueleto sobre las que se produce un depósito continuado de esporopolenina que las van transformando en una pared consistente, compleja y resistente. Seguidamente, en la cara interna de la ectexina, se deposita la endexina, que lo hace sobre estruc-tures tri-lamela-res que se colmatan con depósitos de esporopolenina, de manera que, en los granos de polen maduros de las angiospermas, solo son observables en las regiones aperturales. Sin embargo en los granos de polen maduros de las gimnospermas la endexina se caracteriza por tener numerosas lamelas ordenadas.

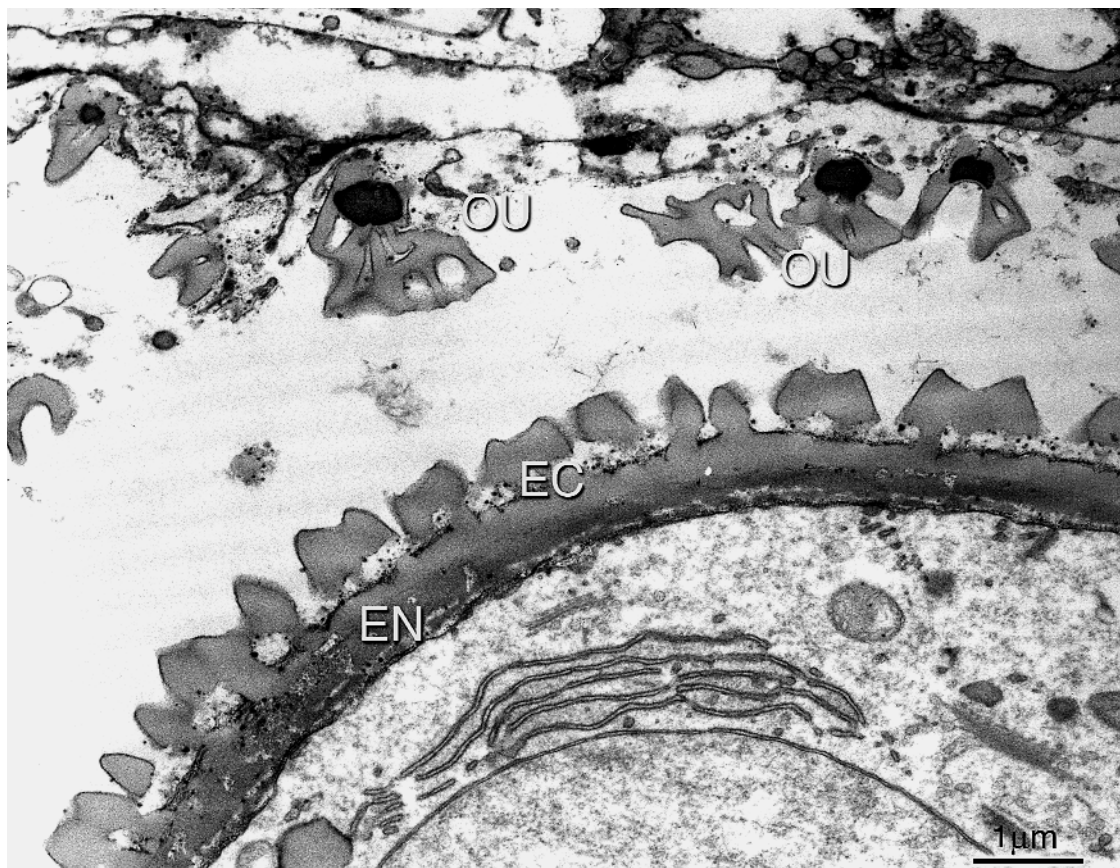


FIGURA 3. Grano de polen joven I. Corte transversal de un saco polínico de *Platanus acerifolia*. Polen mostrando las dos capas principales la exina, ectexina (EC) y endexina (EN). Células del tapete degeneradas, orbículos tapetales (OU) alineados en el saco polínico. MET.

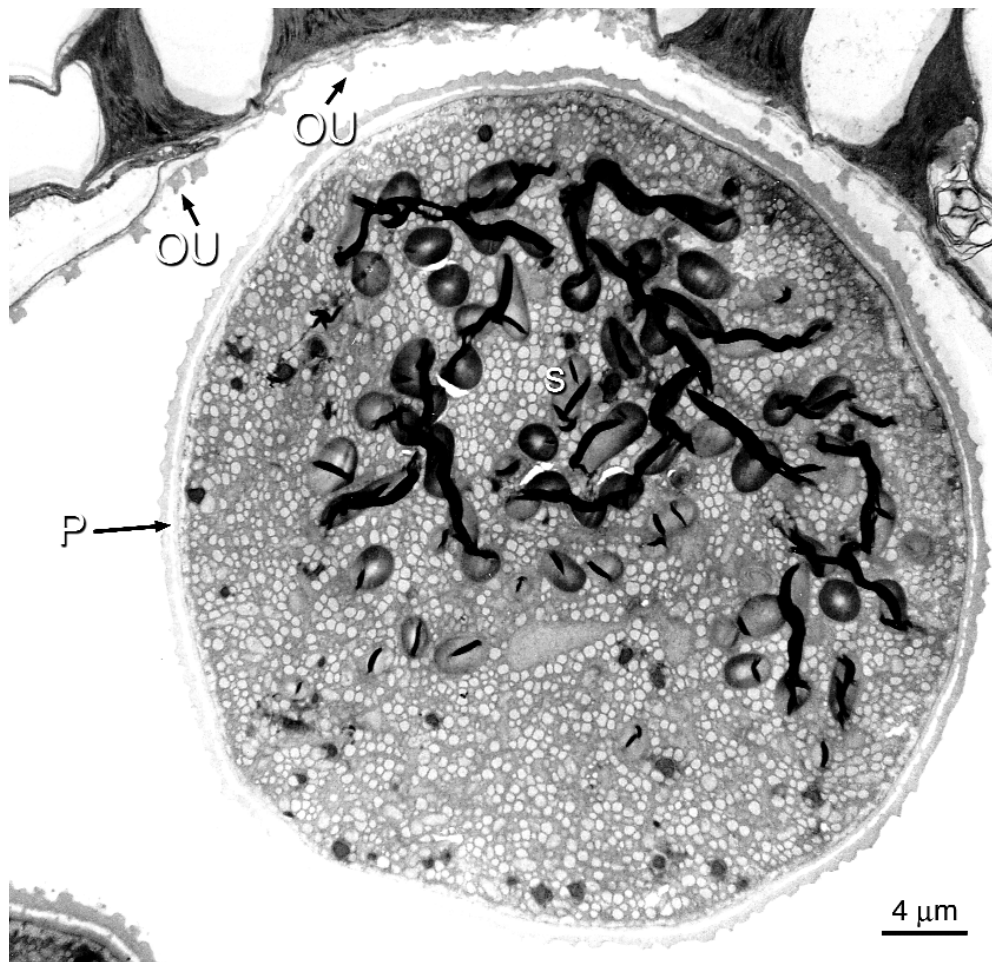


FIGURA 4. Grano de polen joven II. Corte transversal de un saco polínico de *Bromus catharticus*. Polen con intina (P), citoplasma no vacuolado y con numerosos granos de almidón (S). Células del tapete degeneradas, orbículos tapetales (OU) alineados en el saco polínico. MET.

Finalmente, después de que la capa externa, exina, se haya consolidado y la microspora haya sufrido la mitosis, se deposita la intina (figura 4). En este momento se considera que la microspora se ha convertido en grano de polen joven. La intina es una capa de naturaleza polisacárida formada por pectinas, celulosa y diversos azúcares, así como proteínas y enzimas características. Tiene un papel fundamental en la protección del citoplasma frente a los intercambios de agua, regulando los cambios de presión osmótica, para preservar intactas las células gaméticas y vegetativa, con el fin de que puedan llevar a cabo con éxito la fecundación.

Durante todo el período ontogénico las células más internas de la pared de la antera, las células del tapete, juegan un papel relevante en el desarrollo de los granos de polen. Se conocen dos tipos fundamentales de tapete: el secretor, también llamado parietal, glandular o celular no sincitial, y el ameboide, sincitial invasivo o periplasmodial. En los tapetes secretores las células se mantienen *in situ* hasta su degradación final, mientras que en los tapetes ameboides, los protoplastos tapetales invaden el lóculo, formando un plasmodio que está en contacto directo con las microsporas en desarrollo. Las células del tapete pasan por diferentes ciclos de actividad secretora y de degradación. Su papel en el desarrollo de las microsporas incluye la producción y liberación de proteínas, la formación de precursores de la pared (esporopolenina), y el depósito de sustancias lipídicas que al final del desarrollo recubren exteriormente la pared de los granos de polen, como la trifina y el *pollenkitt*.

El *pollenkitt* está formado por ceras, lípidos, pequeñas moléculas aromáticas y proteínas. Se acumula en plastidios que en la madurez se degradan y dejan en libertad masas o gotas de *pollenkitt* que recubren los gra-

nos de polen maduros. Es muy denso y abundante en granos de polen entomófilos y menos en los anemófilos. Al *pollenkitt* se le atribuyen diversas funciones:

- Éxito en la dispersión de los granos de polen.
- Modulación del intercambio de agua entre los granos de polen y el ambiente.
- Protección frente a las radiaciones solares y la falta de agua.
- Determinación del color del polen.
- Atracción de polinizadores.
- Mantenimiento de las proteínas esporofíticas en las cavidades de la exina.

En este último caso, el *pollenkitt* favorece la dispersión de proteínas esporofíticas de la antera⁴ que se transportan situadas en el exterior del polen, por lo que podrían inducir la respuesta alérgica a proteínas no específicamente gaméticas.

Los tapetes secretores producen además los orbículos tapetales (cuerpos u orbículos de Ubisch). Son partículas de esporopolenina que se encuentran alineadas en las paredes tangenciales y radiales del tapete (figuras 3, 4). Son resistentes a la acetólisis y reaccionan de forma similar que la exina a diferentes tinciones histoquímicas, evidenciando que su componente mayoritario es esporopolenina. Presentan un corazón o parte interna formado por lípidos, polisacáridos y proteínas. Estas últimas que en algunos casos, como por ejemplo cupresáceas y gramíneas, se ha visto que son proteínas alergénicas (figura 5). Las funciones de los orbículos o cuerpos de Ubisch están relacionadas con el mecanismo de transporte de la esporopolenina del tapete a las microsporas en desarrollo, así como con el transporte de proteínas esporofíticas⁵, protección de material sensible a los componentes del fluido locular y dispersión de los granos de polen. Son pauci-partículas y su presencia en la atmósfera libres o unidas a los granos de polen constituyen un elemento más en el transporte y difusión de los alérgenos en la atmósfera⁶.

Los granos de polen maduros de las angiospermas están formados por una célula vegetativa de gran tamaño, que contiene abundantes metabolitos, necesarios para el rápido crecimiento del tubo polínico, y una célula generativa pequeña, completamente incluida en la anterior que dará lugar a las dos células esper-

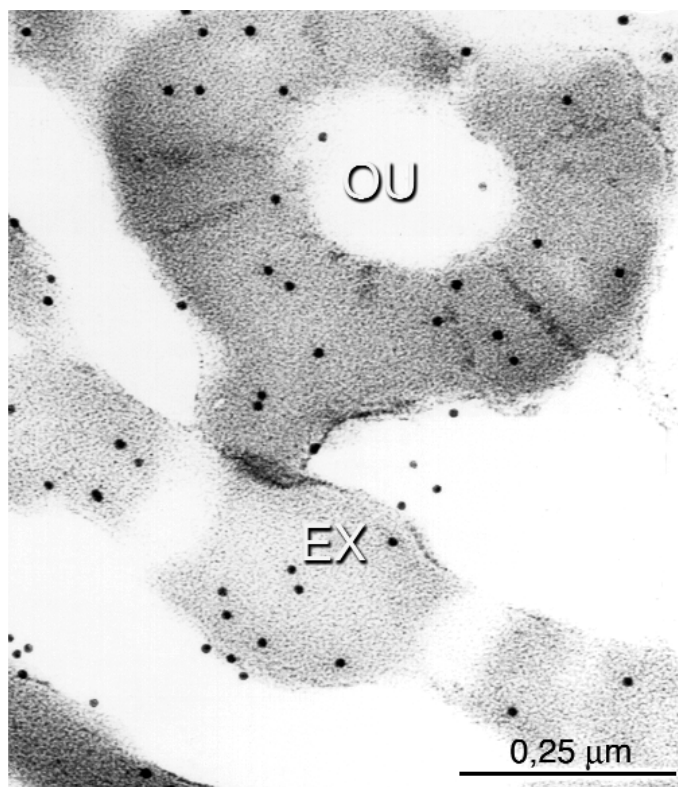


FIGURA 5. Polen maduro. Orbículo tapetal (OU) situado sobre la exina (EX) de *Bromus catharticus*. Nótese las abundantes partículas de oro que indican la localización de los epítomos de proteínas alergénicas, mediante técnicas inmunocitoquímicas, con suero de un paciente sensibilizado a gramíneas. MET.

máticas o gametos (figura 6). Ambas están rodeadas por la pared que las protege de los daños mecánicos y ambientales.

Durante la dehiscencia de las anteras, los granos de polen sufren una deshidratación rápida que reduce el volumen del polen un 35% (figura 7). Cuando llegan a un estigma receptor o a un medio húmedo, como puede ser la mucosa de las personas sensibles, experimentan una hidratación considerable (figura 8). Una vez hidratados los granos de polen, transfieren proteínas y enzimas al medio. Estas proteínas del polen serán las que intervengan en el proceso germinativo, pero también en la respuesta alérgica de las personas sensibles. Los alérgenos polínicos son rápidamente liberados al ponerse en contacto con las mucosas nasal u ocular y pueden inducir la aparición de polinosis en pacientes sensibilizados (figura 9).



FIGURA 6. Grano de polen maduro de *Platanus acerifolia*. Citoplasma de la célula vegetativa con abundante material de reserva y con su núcleo (NV) rodeando a la célula generativa (CG), ambos en disposición central. Pared (P) completa con exina e intina. MET.

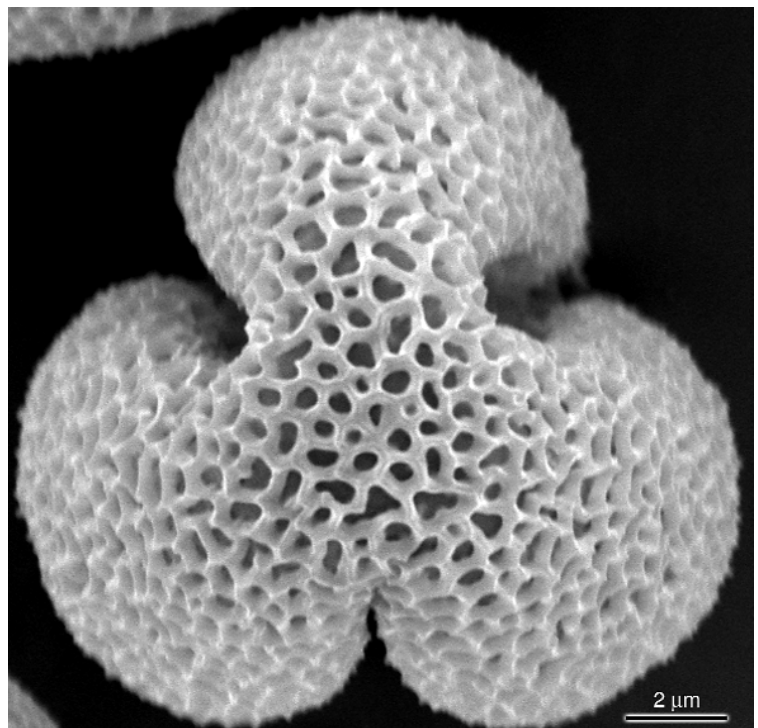


FIGURA 7. Grano de polen deshidratado de *Platanus acerifolia*. Microscopio electrónico de barrido (MEB).

FIGURA 8. Grano de polen hidratado de *Platanus acerifolia*. Nótese la protuberancia en la apertura germinativa (flecha). MEB.

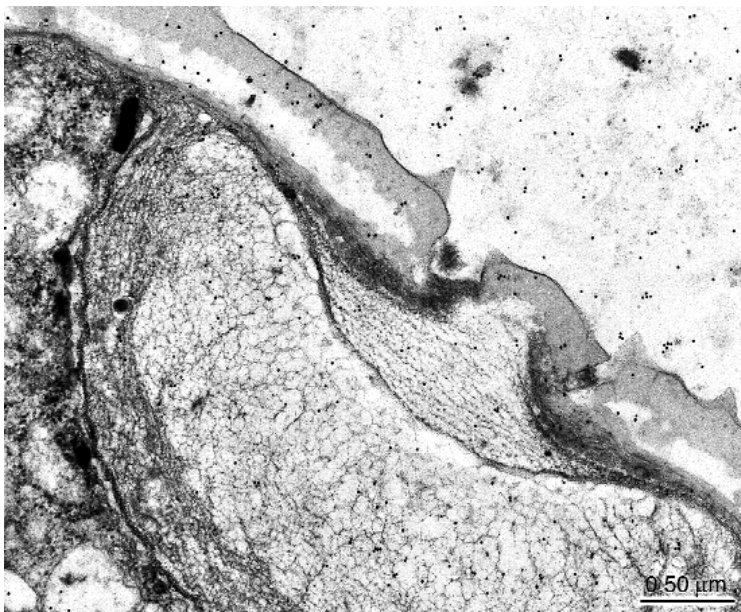


FIGURA 9. Difusión de alérgenos en granos de polen hidratados de *Parietaria judaica*. Nótese las numerosas partículas de oro que indican la localización de los epítomos correspondientes. MET.

LOCALIZACIÓN CELULAR DE LOS ALERGENOS POLÍNICOS

Los alérgenos polínicos son proteínas, glucoproteínas o lipoproteínas de bajo peso molecular, intracelulares, que se difunden a través de la pared del polen cuando está en contacto con un medio húmedo o acuoso^{7,8}. Se han localizado también alérgenos en zonas extracelulares, como cavidades de la exina, intina y orbículos de Ubisch^{9,10}. Los primeros esfuerzos para la localización subcelular de los alérgenos del polen, constituyeron la primera aplicación de la técnica de inmunofluorescencia en plantas¹¹. Posteriormente, con técnicas de inmunocitoquímica y, gracias a la alta resolución del microscopio electrónico, se localizaron en distintos

compartimentos celulares Bet v 1, Bet v 2¹² y Lol p 1¹³, así como diversos alérgenos de *Parietaria judaica*⁸ y diferentes gramíneas^{14,15}, comprobándose que, en contacto con un medio húmedo, difunden rápidamente al exterior. Existe pues una relación directa entre la solubilidad y la alérgenicidad de los alérgenos polínicos¹⁶.

Cupressaceae

Uno de los alérgenos mayoritarios de *Cryptomeria japonica*, Cry j 1, que presenta reacción cruzada con Cup a 1, alérgeno mayoritario de *Cupressus arizonica*¹⁷ ha sido localizado en el citoplasma del polen de *C. arizonica* y *C. sempervirens*, ligado al complejo de Golgi y a vacuolas de almacenaje de proteínas. Es muy abundante en las paredes del grano de polen y difunde rápidamente al exterior durante el proceso de hidratación¹⁰.

Este alérgeno se ha detectado también en los orbículos tapetales que son muy numerosos y se liberan en la atmósfera, tanto libres como débilmente asociados a los granos de polen¹⁰. Constituyen un vehículo importante de los alérgenos de las cupresáceas, ya que fácilmente pueden interaccionar con las mucosas de los pacientes.

Platanaceae

Los alérgenos mayoritarios de *Platanus acerifolia*, Pla a 1 y Pla a 2, se han localizado en el citoplasma de los granos de polen maduros y activados¹⁸. Pla a 1 es una proteína no glucosilada¹⁹ y se encuentra situada en las cisternas del retículo endoplásmico, mientras Pla a 2 es una glucoproteína²⁰ que se ha observado en las cisternas y vesículas del Golgi. Ambas proteínas difunden al exterior intensamente durante el proceso de hidratación¹⁸. Las células tapetales secretan abundantes orbículos de Ubisch que, en el momento de la dispersión de polen, aparecen intactos en la pared del saco polínico². Su mecanismo de liberación a la atmósfera no es conocido, pero la resistencia de su pared los hace candidatos a una presencia en el aire, posterior al período de polinización, manteniendo su potencial alérgico.

Poaceae

Un número considerable de alérgenos ha sido localizado en el citoplasma de los granos de polen de diversas especies de gramíneas, frecuentemente asociadas con los granos de almidón^{13,14}. La difusión de estas proteínas durante su hidratación-activación a través de la pared polínica pone de manifiesto su facilidad de difusión y su potencial como alérgenos. Además se ha visto que Lol p 1, uno de los alérgenos mayoritarios de los granos de polen de *Lolium perenne*, es expulsado asociado con los granos de almidón que se liberan cuando se produce un cambio osmótico brusco²¹. Las gramíneas también tienen un tapete secretor y orbículos tapetales en los que se han detectado proteínas alérgicas^{5,14,15} (figura 5). Estos orbículos no se liberan activamente como en el caso de las cupresáceas, pero la posibilidad de su paso a la atmósfera después de la senescencia de las anteras podrían hacerlos responsables de reacciones alérgicas fuera de su estación de floración.

Zygophyllaceae

Zygophyllum fabago, es una planta que vive en Oriente Medio, Norte de África y en las zonas áridas de la región Mediterránea. Se considera una planta invasora, que se extiende rápidamente y se ha detectado de manera aislada en el centro de la Península Ibérica y abundantemente en las costas de California. Se trata de matorrales muy ramificados de 60-80 cm. de alto, que florecen desde finales de mayo a principios de agosto. Se

caracteriza por tener polinización intermedia, al comienzo la polinización es entomófila, pero la disposición exhera de sus estambres y la abundancia de granos de polen por antera facilitan su presencia en la atmósfera²². Este polen representa un 6% del total del polen anemófilo recogido en la atmósfera de Cartagena durante el período de polinización, donde cerca de un 15% de los pacientes polinósicos tienen pruebas cutáneas positivas, altos niveles de IgE en suero y responden positivamente al test de provocación con extractos de este polen^{23,24}.

Sus granos de polen son de pequeño tamaño y, cuando están maduros, una parte de ellos están agrupados y rodeados por abundantes masas de pollenkitt, probablemente los que serán transportados por los insectos, mientras que otros solamente tienen pequeñas gotas de esta sustancia lipídica que no les impide dispersarse normalmente en la atmósfera. Los alérgenos polínicos reconocidos por sueros de pacientes alérgicos, se sitúan fundamentalmente en las cisternas del retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi²². La característica más significativa de estos granos de polen es el tiempo realmente muy corto, entre pocos segundos y 2 minutos, en el que sus alérgenos se liberan en un medio de germinación²².

Urticaceae

El polen de *Parietaria judaica* constituye uno de las causas más comunes de los síntomas de alergia respiratoria en las regiones costeras mediterráneas²⁵. La intina característica de la pared de sus granos de polen, con un oncus muy desarrollado debajo de sus aperturas, hace que la liberación de sus proteínas pueda realizarse de una manera explosiva^{8,26}, o suave y continuada en el tiempo²⁷. En ambos casos su potencial alérgico es evidente. La difusión de las proteínas de *P. judaica* reconocidas por las IgE de sueros de pacientes sensibles y por las IgE de sueros de conejos sensibilizados, puede mantenerse durante 20 ó 30 minutos, en un medio de germinación tamponado (figura 9). Las anteras de *P. judaica* tienen un tapete de tipo secretor que forma numerosos orbículos tapetales, por lo que su posible presencia en la atmósfera los hace candidatos a inducir respuestas alérgicas.

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA ASOCIADA CON LOS ALÉRGENOS POLÍNICOS

El proceso de hidratación del grano de polen, que de manera natural tiene lugar en la superficie del estigma, está especialmente diseñado para alcanzar el éxito en los primeros momentos de la germinación. Para ello la mayor parte de las proteínas que actúan en este proceso tienen actividad enzimática. Se han descrito alérgenos que presentan actividad ribonucleasa^{28,29}, son inhibidores de la tripsina o están relacionados con el transporte de proteínas³⁰. También se han purificado profilinas en pólenes de diferentes familias de plantas^{31,32,33,34}. Recientemente se ha clonado un alérgeno mayoritario en el polen de *C. arizonica*, Cup a 3, que es una proteína relacionada con la defensa frente a patógenos, PR-5, que se expresa solamente en pólenes de zonas polucionadas³⁵. La expresión de esta proteína en respuesta al estrés de la contaminación, se iniciará probablemente durante el desarrollo del grano de polen.

Algunos de estos alérgenos polínicos, de gran incidencia en los problemas de polinosis, presentan actividad enzimática relacionada con el inicio del crecimiento del tubo polínico. Entre ellos destacamos la actividad pectato-liasa y poligalacturonasa, inhibidora de la invertasa y proteínas transportadoras de lípidos.

Pectato-liasa y poligalacturonasa

La hidratación de los granos de polen va acompañada de cambios estructurales importantes^{26,36,37}. Estos cambios afectan mayoritariamente a la capa interna de la pared del grano de polen, la intina, que tiene como

componentes mayoritarios pectinas y celulosa. Estas pectinas en el momento de la hidratación experimentan una rápida gelificación con el fin de facilitar la salida de enzimas de reconocimiento polen-estigma y permitir el crecimiento del tubo polínico. La degradación de la capa pectídica^{38,39} probablemente tiene lugar gracias a la enzima pectato-liasa. Al tratarse de una enzima muy común en los granos de polen, serán posibles las reacciones cruzadas entre pectato liasas de diferentes plantas⁴⁰. La actividad pectato-liasa ha sido reconocida en Cry j 1⁴¹ y Cup a 1¹⁷, ambos son alérgenos de polen de *Cryptomeria japonica* y *Cupressus arizonica*, respectivamente, pertenecientes a dos familias botánicamente emparentadas, Taxodiaceae y Cupressaceae. Sus granos de polen tienen una intina muy desarrollada, con un componente elevado de pectinas, que experimenta una dilatación considerable cuando es sometida a un medio germinativo acuoso¹⁰. Durante el proceso germinativo se han localizado en la intina de *C. arizonica* y *C. sempervirens* numerosos epítomos de Cry j 1 que actúa degradando la intina para permitir la posterior salida del tubo polínico¹⁰. La intina especial de las Cupressaceae hace que esta enzima, con actividad pectato-liasa, sea el alérgeno mayoritario de este grupo de plantas, con lo cual la reactividad cruzada tiene una explicación botánica y funcional.

Por su parte, uno de los alérgenos mayoritarios de *Platanus acerifolia*, Pla a 2, tiene actividad poligalacturonasa²⁰. Con técnicas de inmunocitoquímica y microscopía electrónica de transmisión, se han localizado numerosos epítomos de Pla a 2 difundiendo abundantemente a través de la pared del polen, probablemente relacionados con la interacción y modificación de las pectinas, tanto de la intina como del estigma¹⁸. La expulsión y difusión de alérgenos con actividad poligalacturonasa también se ha observado en granos de polen de diversas gramíneas⁴².

Inhibidora invertasa

Recientemente se ha visto que Pla a 1, otro alérgeno de *Platanus acerifolia*, tiene actividad enzimática relacionada con los inhibidores de la invertasa⁴³. Se ha podido comprobar su localización en el retículo endoplásmico de granos de polen maduros y su rápida salida en los primeros minutos de la hidratación-activación, sin que durante el resto del proceso germinativo este alérgeno se vuelva a localizar¹⁸. Desde el punto de vista de la fisiología del polen, podemos entender que, durante el proceso de hidratación, es más conveniente conservar el azúcar como sacarosa, dada sus propiedades como protector de membranas frente a cambios osmóticos que podrían romper el incipiente tubo polínico y abortar el proceso germinativo. Por otra parte, está demostrado que durante la germinación la actividad invertasa es muy fuerte, favoreciendo la formación de azúcares simples, glucosa y fructosa, necesarios para la nutrición del tubo polínico⁴⁴. De ahí que Pla a 1, alérgeno inhibidor de la actividad invertasa, solamente exista al inicio de la hidratación, no obstante, su activa liberación justifica su papel como alérgeno.

Trasferencia de lípidos

LTPs (Lipid transfer proteins) son proteínas abundantes en plantas. Se han sugerido diferentes papeles sobre la participación de las LTPs en plantas tales como formación de la cutina, embriogénesis, reacciones de defensa frente a fitopatógenos, simbiosis y adaptación a las condiciones ambientales^{45,46}. Recientemente se ha visto que los dos alérgenos mayoritarios de *P. judaica* (Par j 1 y Par j2), muestran un alto grado de identidad en su secuencia de aminoácidos y que pertenecen a la familia de las proteínas transportadoras de lípidos^{47,48}. Estas LTPs han sido localizadas en granos de polen maduros y activados-hidratados de *P. judaica* aplicando una combinación de las técnicas de microscopía electrónica de transmisión con las de inmunocitoquímica²⁷. El contenido de las LTPs en los granos de polen cambia durante el proceso de hidratación. En granos de polen maduros las LTPs de *P. judaica* se localizan en el citoplasma y en lípidos asociados con vacuolas. Sin embargo, la exposición de los granos de polen a un medio germinativo, induce su difusión al exterior a través de las

paredes de los granos de polen. Se ha sugerido que tendrán un papel relevante en el mecanismo de transferencia de lípidos entre las sustancias lipídicas del polen y las del estigma²⁷. La naturaleza de estas proteínas plantea la posibilidad de que estemos frente a un panalergeno responsable de reacciones cruzadas.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

- Durante el desarrollo, activación y germinación de los granos de polen, tiene lugar la expresión de diferentes proteínas y glucoproteínas difusibles, relacionadas con el reconocimiento polen-estigma. Muchas de ellas son las responsables de la sensibilización alérgica.
- El polen contiene genes de expresión esporofítica, originados por las células del tapete y genes de expresión gametofítica originados por las células vegetativa y generativa. El conocimiento de los mecanismos de transferencia de proteínas durante el desarrollo del polen será cada vez más necesario para controlar el enorme abanico de proteínas del polen o de fracciones de la antera que son susceptibles de dispersarse en la atmósfera.
- Encontrar patrones de marcaje de diferentes epítomos de proteínas alergénicas, durante el desarrollo, activación y germinación de los granos de polen, permitirá profundizar en el conocimiento de los mecanismos de liberación de las proteínas difusibles y su incidencia en los procesos de sensibilización, así como en las reacciones cruzadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. KNOX RB. *The pollen grain*. En: Johri BM ed. *Embryology of Angiosperms*. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag, 1984: 197-271.
2. SUÁREZ-CERVERA M, MÁRQUEZ J, SEOANE-CAMBA JA. *Pollen grain and Ubisch body development in Platanus acerifolia*. *Rev Palaeobot Palynol* 1995; 85: 63-84.
3. SUÁREZ-CERVERA M, SEOANE-CAMBA JA. *Ontogénese des grains de pollen de Lavandula dentata L. et évolution des cellules tapétales*. *Pollen Spores* 1986; 28: 5-28.
4. ROSS JHE, MURPHY D. *Characterization of anther-expressed genes encoding a major class of extracellular oleosin-like proteins in the pollen coat of Brassicaceae*. *Plant J* 1996; 9: 625-637.
5. WANG A, XIA Q, WENSHUANG X, DATLA R, SELVARAJ G. *The classical Ubisch bodies carry a sporophytically produced structural protein (RAFTIN) that is essential for pollen development*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003; 100: 14487-14492.
6. VINCKIER S, SMETS E. *The potential role of orbicules as a vector of allergens*. *Allergy* 2001; 56: 1129-1136.
7. KNOX RB, SUPHIOGLU C. *Environmental and molecular biology of pollen allergens*. *Trends Pl Sci* 1996; 1: 156-163.
8. CASAS C, MÁRQUEZ J, SUÁREZ-CERVERA M, SEOANE-CAMBA JA. *Immunocytochemical localization of allergenic proteins in Parietaria judaica L. (Urticaceae)*. *Eur J Cell Biol* 1996; 70: 179-188.
9. MIKI-HIROSIGE H, NAKAMURA S, YASUEDA H, SHIDA T, TAKAHASHI Y. *Immunocytochemical localization of the allergenic proteins in the pollen of Cryptomeria japonica*. *Sex Plant Reprod* 1994; 7: 95-100.
10. SUÁREZ-CERVERA M, TAKAHASHI Y, VEGA-MARAY AM, SEOANE-CAMBA JA. *Immunocytochemical localization of Cry j 1, the major allergen of Cryptomeria japonica (Taxodiaceae) in Cupressus arizonica and Cupressus sempervirens (Cupressaceae) pollen grains*. *Sex Plant Reprod* 2003; 16: 9-15.
11. KNOX RB, HESLOP-HARRISON J. *Pollen-wall proteins: cytochemical localization and enzymatic activity*. *J Cell Sci* 1970; 6: 1-27.
12. GROTE M, VRTALA S, VALENTA R. *Monitoring of two allergens, Bet v I and profilin, in dry and rehydrated birch pollen by immunogold electron microscopy and immunoblotting*. *J Histochem Cytochem* 1993; 41: 745-750.
13. TAYLOR PE, SINGH M, KNOX RB. *Localization of the two major allergens in rye-grass pollen using specific monoclonal antibodies and quantitative analysis of immunogold labelling*. *Histochem J* 1994; 26: 392-401.
14. MÁRQUEZ J, SEOANE-CAMBA JA, SUÁREZ-CERVERA M. *Allergenic and antigenic proteins released in the apertural sporoderm during the activation process in grass pollen grains*. *Sex Plant Rep* 1997; 10: 269-278.
15. MÁRQUEZ J, SEOANE-CAMBA JA, SUÁREZ-CERVERA M. *The role of the intine and cytoplasm in the activation and germination processes of Poaceae pollen grains*. *Grana* 1997; 36: 328-342.
16. VRTALA S, GROTE M, DUCHÊNE M, VAN REE R, KRAFT D, SCHEINER O, VALENTA R. *Properties of tree and grass pollen allergens: reinvestigation of the linkage between solubility and allergenicity*. *Int Arch Allergy Immunol* 1993; 102: 160-160.
17. ACEITUNO E ET AL. *Molecular cloning of major allergen from Cupressus arizonica pollen: Cup a 1*. *Clin Exp Allergy* 2000; 30:1750-1758
18. SUÁREZ-CERVERA M ET AL. *Immunocytochemical localization of Pla a 1, Pla a 2 and profiling allergens in Platanus acerifolia pollen by transmission electron microscopy*. *Amsterdam, XXIII EAACI Congress* 2004: 176

19. ASTURIAS JA, BARTOLOME B, OJEDA I, MALET A, MARTINEZ A. Purification and characterization of Pla a 1, a major allergen from *Platanus acerifolia* pollen. *Allergy* 2002; 57: 221-227.
20. IBARROLA I, ARILLA MC, MARTÍNEZ A, ASTURIAS JA. Identification of a polygalacturonase as a major allergen (Pla a 2) from *platanus acerifolia* pollen. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 1185-1191.
21. GROTE M, VRTALA S, NIEDERBERGER V, VALENTA R, REICHELT R. Expulsión of allergen-containing materials from hydrated rye grass (*Lolium perenne*) pollen revealed by using immunogold field emission scanning and transmission electron microscopy. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 1140-1145.
22. CASTELLS T ET AL. Immunocytochemical localization of allergenic proteins from mature to activated *Zygophyllum fabago* L. (*Zygophyllaceae*) pollen grains. *Eur J Cell Biol* 2002; 81: 107-115.
23. BELCHÍ J, MORENO S, BAYO J, ROSIQUE C, BARTOLOMÉ B, MORENO JM. *Zygophyllum fabago* L.: a new source of allergenic pollen. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 493-496.
24. BELCHÍ J ET AL. Sensitisation to *Zygophyllum fabago* L. pollen. A clinical and immunologic study. *Allergy* 1998; 53: 241-248.
25. D'AMATO G ET AL. Pollen-related allergy in Europe. *Allergy* 1998; 53:567-578.
26. SEOANE-CAMBA JA, SUÁREZ-CERVERA M. On the ontogeny of the oncus in the pollen grain of *Parietaria officinalis* ssp. *judaica* (*Urticaceae*). *Can J Bot* 1986; 64: 3155-3167.
27. VEGA-MARAY A, FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, D, VALENCIA-BARRERA R, POLO, F, SEOANE-CAMBA JA, SUÁREZ-CERVERA M. Lipid transfer proteins in *Parietaria judaica* L. pollen grains: immunocytochemical localization and function. *Eur J Cell Biol* 2004; 83: 493-497.
28. BUFE A, SCHRAMM G, KEOWN MB, SCHLAAK M, BECKER WM. Major allergen Phl p 5b in timothy grass is a novel pollen RNase. *FEBS Lett* 1995; 363: 6-12.
29. BUFE A, SPANGFORT MD, KAHLERT H, SCHLAAK M, BECKER WM. The major birch pollen allergen Bet v 1, shows ribonuclease activity. *Planta* 1996; 199: 413-415.
30. Steward GA, Thomson PJ. The biochemistry of common aeroallergens. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 1020-1044.
31. VALENTA R. ET AL. Identification of profilin as a novel pollen allergen; IgE autoreactivity in sensitized individuals. *Science* 1991; 253: 557-560.
32. ASTURIAS JA ET AL. Sequence polymorphism and structural analysis of timothy grass pollen profilin allergen (Phl p 11). *Biochim Biophys Acta* 1997; 26: 253-257.
33. ASTURIAS JA ET AL. Cloning and high level expression of *Cynodon dactylon* (Bermuda grass) pollen profiling (Cyn d 12) in *Escherichia coli*: purification and characterization of the allergen. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 1307-1313.
34. MARÍNEZ A, ASTURIAS JA. Relevancia alérgica de las profilinas. *Alergol Inmunol Clin* 2000; 15: 114-134.
35. CORTEGANO I ET AL. Cloning and expression of a major allergen from *Cupressus arizonica* pollen, Cup a 3, a PR-5 protein expressed under polluted environment. *Allergy* 2004; 59: 485-490.
36. VEGA-MARAY AM, FERNÁNDEZ GONZÁLEZ D, VALENCIA BARRERA RM, SEOANE-CAMBA JA, SUÁREZ-CERVERA M. Ultrastructural modifications in the apertural intine of *Parietaria judaica* L. (*Urticaceae*) pollen during the early stages of hydration. *Grana* 2003; 42: 220-226.
37. CASTELLS T, SEOANE-CAMBA JA, SUÁREZ-CERVERA M. Intine wall modifications during germination of *Zygophyllum fabago* (*Zygophyllaceae*) pollen grains. *Can J Bot* 2003; 81: 1267-1277.
38. SUÁREZ-CERVERA, M, ARCALÍS E, LE THOMAS A, SEOANE-CAMBA JA. Pectin distribution pattern in the apertural intine of *Euphorbia peplus* L. (*Euphorbiaceae*) pollen. *Sex Plant Reprod* 2002; 14: 291-298.
39. WING RA, YAMAGUCHI J, LARABELL SK, URSIN VM, MCCORMICK S. Molecular and genetic characterization of two pollen-expressed genes that have sequence similarity to pectate lyases of the plant pathogen. *Erwinia Plant Mol Biol* 1986; 14:17-28.
40. AALBERSE RC, AKKERDAAS JH, VAN REE R. Cross-reactivity of IgE antibodies to allergens. *Allergy* 2001; 56:478-490.
41. TANIGUCHI Y ET AL. Cry j 1, a major allergen of Japanese cedar pollen, has pectate lyase enzyme activity. *Allergy* 1995; 50:90-93.
42. SWOBODA ET AL. Molecular characterization of polygalacturonases as grass pollen-specific marker allergens: expulsion from pollen via sub-micronic respirable particles. *J Immunol* 2004; 172:6490-6500.
43. ASTURIAS JA, IBARROLA I, ERASO E, ARILLA MC, MARTÍNEZ A. The major *Platanus acerifolia* pollen allergen Pla a 1 has sequence homology to invertase inhibitors. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 978-985.
44. YLSTRA B, GARRIDO D, BUSSCHER J, VAN TUNEN AJ. Hexose transport in growing *Petunia* pollen tubes and characterization of a pollen-specific, putative monosaccharide transporter. *Plant Physiol* 1998; 118: 197-304.
45. KADER JC. Lipid transfer proteins in plants. *Plant Mol Biol* 1996; 47: 627-654.
46. GUERBETTE F, GROSBOIS M, JOLLIOT-CROQUIN A, KADER JC, ZACHOWSKI A. Lipid transfer proteins from plants: structure and binding properties. *Mol Cell Biochem* 1999; 192: 157-161.
47. COLOMBO P ET AL. The allergens of *Parietaria*. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 130: 173-179.
48. ASTURIAS JA, GÓMEZ-BAYÓN N, ESEVERRI JL, MARTÍNEZ A. Par j 1 and Par j 2, the major allergens from *Parietaria judaica* pollen, have similar immunoglobulin E epitopes. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 518-524.

Biología molecular y polinosis: antígenos recombinantes de pólenes

OLGA LUENGO

Servicio de Alergia, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona

BLANCA CÁRDABA, CARLOS LAHOZ

Servicio de Inmunología, Fundación Jiménez Díaz, Madrid

INTRODUCCIÓN

Los extractos alérgicos convencionales que provienen de fuentes naturales son mezclas heterogéneas que pueden contener además de los propios alérgenos otras proteínas y sustancias que no son propiamente sensibilizantes y que, en ocasiones, pueden interferir con la respuesta *in vivo*. A partir de los años 80 y con los avances de la inmunoquímica, se han perfeccionado los extractos y se ha conseguido una adecuada estandarización, de manera, que con la utilización de anticuerpos monoclonales y antígenos naturales purificados utilizados como estándar, se ha llegado a un buen uso y medida de los extractos comerciales, utilizando unidades que, aunque no siempre son equivalentes, nos permiten hacer estudios comparativos entre los preparados de diferente origen y distintos laboratorios.

En los últimos 10 años se han realizado enormes progresos en la obtención de antígenos recombinantes, de forma que muchos alérgenos de diferentes orígenes vegetal y animal y que son considerados mayores y menores, han sido clonados y expresados por medio de distintos vectores de expresión, dando lugar a un profundo conocimiento de la secuencia y estructura y función de esas proteínas (i.e. sitios activos de enzimas, estudios de RMN, formas y plegamientos espaciales, etc.)¹⁻³. Además, la expresión de los antígenos recombinantes en bacterias, levaduras, insectos, virus y plantas ha permitido explicar muchas reactividades cruzadas en antígenos procedentes de fuentes no relacionadas⁴. Otra de las ventajas de los recombinantes, es la disección de la molécula, de forma que es posible conocer los epítomos secuenciales que son reconocidos por los linfocitos T cuando son presentados por la célula presentadora, generalmente un linfocito B, en el contexto de las moléculas de Clase II del sistema Mayor de Histocompatibilidad. También se han localizado los residuos de aminoácidos que interaccionan con la unión al sitio combinante del anticuerpo y otros motivos secuenciales y conformacionales importantes en la inducción de la respuesta alérgica^{5,6}.

El gran desarrollo de esta tecnología recombinante ha llevado a que hoy en día hayan registradas en el GenBank más de cuatrocientas secuencias proteicas o nucleotídicas de alérgenos. Lógicamente, estos antígenos se están utilizando para el diagnóstico y el tratamiento en forma de mezclas de varios antígenos o en modificaciones recombinantes hipoalérgicas, cuando ello fuera necesario⁷.

La escuela de Viena ha acuñado dos términos para estas herramientas, según se utilicen en el diagnóstico o en el tratamiento y que se hacen a la medida de cada uno: "Component-Resolved Diagnosis" (CRD) y "Component-resolved Immunotherapy" (CRIT) que en definitiva traducen la posibilidad de utilizar los antígenos aislados recombinantes en el diagnóstico o en la inmunoterapia en lugar de los extractos antigénicos polivalentes, de forma que cumplan con las necesidades individuales de cada paciente⁸.

En el diagnóstico *in vitro*, se puede utilizar una técnica basada en los "microarrays" en los que los diferentes antígenos recombinantes se inmovilizan en un "chip", de forma que se pueden analizar cerca de 200

antígenos a la vez con una mínima cantidad de suero⁹. Esto es un gran avance para el diagnóstico, aunque todavía difícil de implantar por su carestía.

En cuanto al tratamiento, la principal ventaja de los antígenos recombinantes, dejando aparte lo referente a la pureza y a la evitación de sustancias no alergénicas del extracto crudo, es que por medio de la llamada ingeniería genética se pueden obtener mutantes que son hipoalergénicos o bien péptidos no reactivos o trómeros que pueden ser utilizados de manera eficaz en el tratamiento. También tienen sus desventajas, por ejemplo, el coste de la tecnología y el escaso rendimiento. No siempre se obtienen en cantidades que sirvan para su utilización masiva y generalizada a toda la población y, por tanto, todavía estamos lejos del diagnóstico y del tratamiento “hecho a la medida de cada paciente”¹⁰⁻¹².

Otro problema añadido, a veces, es que la expresión que se obtiene del antígeno recombinante no es exacta a la del antígeno nativo, debido a la existencia de carbohidratos, que a su vez depende del vector de expresión que se ha utilizado¹³. Como es sabido, los alérgenos suelen ser glicoproteínas y cada vez tiene más importancia la existencia del carbohidrato en los alérgenos, para explicar reactividades cruzadas y para la propia inmunogenicidad de la molécula. En la figura 1, damos un ejemplo de ello, se trata de una electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturizantes de un extracto crudo de *Cupressus arizonica* y del antígeno mayor en su forma recombinante rCup a 1 expresado en dos diferentes vectores: *Escherichia coli* y *reticulocitos de conejo*. En el panel izquierdo, (carril izquierdo y derecho) está el extracto crudo de *Cupressus arizonica* y en el carril intermedio el antígeno recombinante rCup a 1 expresado en *E. coli*. Lo que llama la atención es que, en el caso del extracto crudo el antígeno mayor (Cup a 1), se observa una banda de 43kDa que corresponde al antígeno nativo o natural. Sin embargo, el antígeno recombinante, rCup a 1, que ha sido expresado en *Escherichia coli* y purificado, da una banda de 37,5 kDa. La explicación es que en el caso de la expresión en *E.coli* no se añade el carbohidrato, por lo que se obtiene una molécula que siendo inmuoreactiva con la nativa, no es exactamente igual por faltarle el carbohidrato. En el panel derecho de la figura 1, se ha utilizado como vector de expresión del antígeno recombinante rCup a 1 los reticulocitos de conejo,

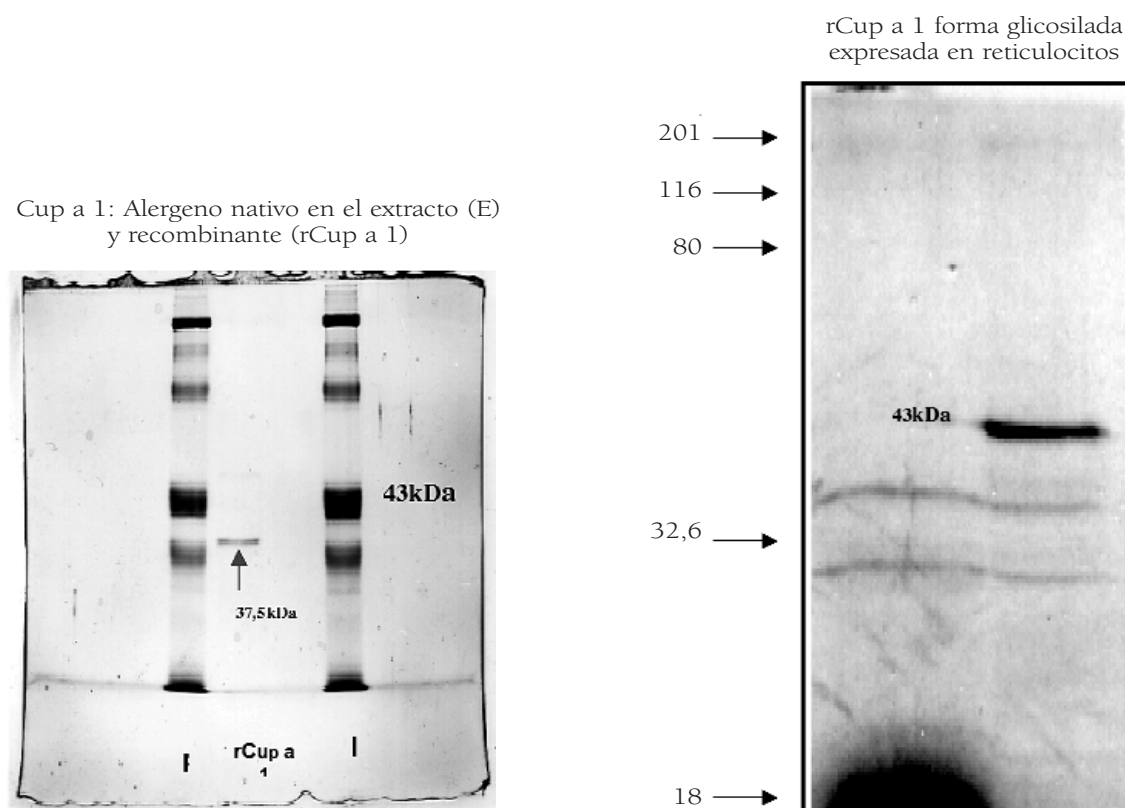


FIGURA 1. (Basada en¹³, con modificaciones).

que a pesar de tener un rendimiento bajísimo, pueden expresar rCup a 1 en forma de glicoproteína y por esta razón el PM de rCup a 1 en el panel de la derecha es de 43kDa, es decir, igual al del antígeno nativo del extracto crudo.

Hay otros vectores capaces de expresar la proteína y el componente carbohidratado unidos y con un mejor rendimiento que los reticulocitos, i.e. la levadura *Pichia pastoris*, aunque también aquí hay que matizar que la expresión en *P. pastoris* no tiene por qué dar lugar a un carbohidrato idéntico al nativo. Todo esto no tendría demasiada importancia si estos cambios no alterasen la reactividad de los antígenos recombinantes cuando son comparados con los nativos. Pero éste, desgraciadamente no es el caso. En la figura 2 puede observarse el resultado de una inmunodetección en la que se hace la comparación del mismo antígeno recombinante rCup a 1, expresado en dos vectores diferentes: *E. coli* y reticulocitos, con los dos geles hechos en las mismas condiciones y utilizando los mismos sueros para la inmunodetección.

En la inmunotransferencia superior se ha utilizado proteína recombinante (Cup a 1) expresada en reticulocitos y, por tanto, de 43kDa que tiene unido el carbohidrato. En la inferior, la misma proteína recombinante se ha expresado en *E. coli* y es de un tamaño molecular menor al carecer de carbohidrato. Los mismos sueros no se detectan igual siendo lógicamente menos reactivos los que se han analizado con el antígeno recombinante Cup a 1 expresado en *E. coli*, que no contiene el carbohidrato¹³.

Hay datos para pensar que la presencia del carbohidrato en una proteína regula de alguna manera la respuesta inmune, de forma que los propios anticuerpos son dependientes de estas moléculas para unirse a receptores celulares¹⁴⁻¹⁷.

En el caso de Cry j 1, que es el antígeno mayor de *Cryptomeria japonica* o Cedro japonés, se ha descrito que el carbohidrato puede jugar un papel importante en la inducción de respuestas Th2^{18,19}.

Por todo ello, en el momento actual pensamos que los antígenos recombinantes son una extraordinaria herramienta para diagnóstico *in vitro*, pero no alcanzan plena satisfacción para su utilización *in vivo*. Sin embargo, como veremos en el estudio pormenorizado de los recombinantes en pólenes, éstos pueden ser utilizados en la inmunoterapia debido a la bioingeniería genética que permite hacer fragmentos recombinantes hipoa-lergénicos en los que los epítopos B son suprimidos y persiste la estimulación de linfocitos T.

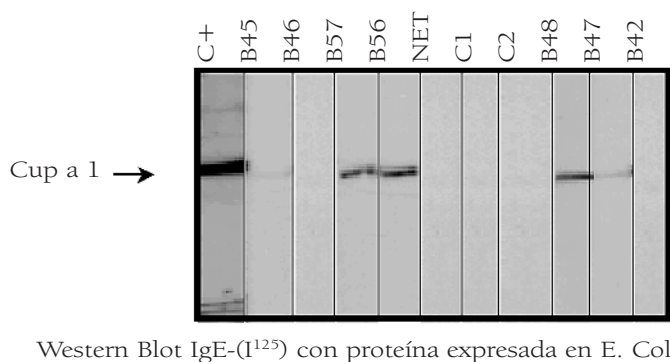
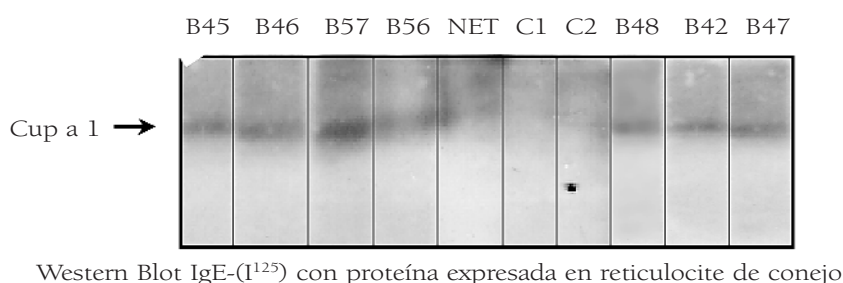


FIGURA 2. Según¹³, con modificaciones.

Abedul (*Fagales*): antígenos caracterizados

El antígeno más importante derivado del polen de abedul es, sin duda, el Bet v 1, que tiene una frecuencia de reactividad del 95% entre los alérgicos al polen de abedul, siendo un 60% monosensibilizados²⁰⁻²³. Se trata de una ribonucleasa que pertenece a la familia de las PR-10 y que junto con Bet v 2^{24,25} una profilina con reactividad del 10%, son responsables de casi toda la reactividad cruzada dentro del orden de los fagales como el abedul, olmo, avellano y roble. Esto ha sido demostrado por inmunodetección e inhibición específica utilizando los antígenos recombinantes Bet v 1 y Bet v 2. En 102 sueros de enfermos alérgicos a fagales los epítomos reactivos con IgE son comunes, de forma que Bet v 1 y Bet v 2 del abedul, sirven para su utilización en diagnóstico y tratamiento de todos los otros árboles pertenecientes a la misma familia de fagales²⁶.

Bet v 1 y Bet v 2 tienen múltiples isoformas, todas ellas con un alto grado de semejanza en sus secuencias, lo que también da lugar a reactividades cruzadas con frutas tales como cerezas, albaricoques, manzanas, peras, zanahorias y otras²⁷. Es interesante reseñar que esta reactividad cruzada, que lógicamente es dependiente de anticuerpos IgE y de epítomos B, se basa estructuralmente en la conformación o forma tridimensional de estos alérgenos, de manera que sería esperable que otras isoformas no alérgicas o al menos no reactivas con los anticuerpos IgE, fueran diferentes en cuanto a su conformación. Esto no se ha comprobado cuando se ha estudiado la estructura cristalina de Bet v 1.1, que es una isoforma natural hipoalérgica. Curiosamente, se ha descrito en Bet v 1, por estudios de mutagénesis dirigida, que hay residuos aislados en su secuencia de aminoácidos con un papel importante en la unión a IgE, que pueden dar lugar a que varíe la reactividad pero no la conformación de la estructura tridimensional.

Bet v 2 es una profilina que interviene en la polimerización de la actina y en la transducción de señales de la vía de los fosfatidilinositoles. La reactividad cruzada que se encuentra dentro de las profilinas con alérgenos muy distantes filogenéticamente, se debe a que la estructura tridimensional está altamente conservada como en el caso de Bet v 2. Se han descrito tres regiones epitópicas en Bet v 2 que corresponden a estructuras de hélice alfa de los extremos amino y carboxiterminales.

Otros antígenos clonados son Bet v 3 y Bet v 4²⁸, que son polcalcinas y tienen una reactividad de menos de un 10% en el primer caso y de un 20% en el caso de Bet v 4. Bet v 6 es una reductasa que se confunde con Bet v 5 debido a que algunas variantes genéticas de Bet v 6^{29,30} fueron descritas originariamente como Bet v 5.

Bet v 7^{31,32} es una ciclofilina con actividad peptidil-prolil isomerasa. Por último, hay indicios de la existencia de Bet v 8 como una pectin-esterasa³³.

Uso diagnóstico de los alérgenos recombinantes

Se ha estudiado la utilidad diagnóstica de rBet v 1 en pruebas serológicas (RAST, ELISA e inmunodetección) y cutáneas³⁴. En 49 de 51 pacientes no se encontraron falsos positivos, concluyéndose que el uso de este antígeno es útil en más del 95% de pacientes alérgicos al polen de fagales.

En el síndrome de alergia oral se han realizado experimentos de inhibición cuantitativa con alérgenos recombinantes de abedul del grupo 1 y 2 y alérgenos de alimentos recombinantes rMal d 1 (manzana), rApi g 1 (apio) y rDau c 1 (zanahoria) y alérgenos nativos, demostrándose que la IgE específica de enfermos con este síndrome puede ser absorbida en más de un 90%³⁵.

Es interesante hacer notar que los dos principales alérgenos recombinantes del abedul también reaccionan en pruebas celulares *in vitro*. Bet v 1 y Bet v 2 inducen la expresión de CD203c sobre basófilos de individuos sensibilizados cuando son estimulados con esos antígenos recombinantes. El antígeno CD203c es una

ectoenzima que se expresa en los basófilos estimulados por el puenteo de los receptores Fc epsilon de alta afinidad cuando son unidos por los anticuerpos IgE al combinarse con el alérgeno recombinante³⁶.

Utilizando el suero de 372 pacientes alérgicos al polen de abedul y todos con IgE específica frente al extracto de abedul, con rinitis y/o asma y examinados con los antígenos recombinantes Bet v 1, 2 y Bet v 4, se vio que el 57,8% (215 pacientes) tenían IgE específica frente a Bet v 1 y de ellos el 39,2% eran monosensibilizados, 166 pacientes (44,62%) eran positivos con IgE anti-Bet v 2 con 25,8% monosensibles y anticuerpos IgE anti-Bet v 4 se detectaron en 35 pacientes (9,41%) y de ellos, sólo el 1% eran monosensibilizados. El 11% de los pacientes no reaccionaron frente a los recombinantes utilizados, lo que lleva a la conclusión de que el examen con los tres recombinantes más importantes del polen de abedul sólo identifica al 90% de los pacientes, por lo que a veces es preferible usar el extracto nativo o bien si se utilizan los recombinantes, habría que hacer una “sopa” con Bet v1, 2 y 4 el Bet v 6, Bet v 7 y Bet v 8^{37,38}.

Variantes hipoalérgicas

Uno de los peligros de la inmunoterapia convencional con extractos crudos, es el desarrollo de nuevas sensibilizaciones frente a componentes alérgicos que al estar representados en el extracto pueden inducir anticuerpos IgE que antes del tratamiento no existían. Un estudio realizado en los países nórdicos demuestra que después de un tratamiento inmunoterápico con extracto convencional de abedul en veinticuatro pacientes entre los que se encontraban niños y adultos, el 65% de ellos desarrollaron sensibilizaciones que no tenían y que corresponden a anticuerpos IgE detectados por inmunodetección. El 29% eran frente a rBet v 2 y/o rBet v 4. Las nuevas sensibilizaciones aparecen después de un año de tratamiento y a niveles bajos de anticuerpos (menos de 1kUA/L). En este estudio, los pacientes tratados estuvieron bien protegidos frente al polen de abedul y no hay constancia de que las nuevas sensibilizaciones agravaran el cuadro clínico. Sin embargo, esto no es siempre así, un trabajo publicado con anterioridad muestra que la inmunoterapia con extracto de ácaros puede inducir el desarrollo de otras sensibilizaciones que no existían y que se producen por reacción cruzada (por ejemplo a gambas) y con efectos clínicos positivos que previamente no existían^{39,40}.

Estas y otras razones han estimulado el uso de fragmentos hipoalérgicos recombinantes realizados por ingeniería genética en la inmunoterapia. Partiendo del ADNc del antígeno mayor Bet v1, se ha obtenido una mezcla de dos componentes recombinantes que son fragmentos hipoalérgicos y un trímero de Bet v1 también recombinante⁴¹. Ambos se probaron en controles y pacientes alérgicos al abedul y hubo reacción cutánea positiva por test intradérmicos en 5 de 23 pacientes con la mezcla de los fragmentos y en 8 de 23 con el trímero recombinante. Estos resultados dejan abierta la posibilidad de que, utilizando estos fragmentos en inmunoterapia, podría haber una estimulación de linfocitos B con efectos contraproducentes en cierto número de pacientes que son reactivos a los mismos⁴²⁻⁴⁴.

Sin embargo, esto no se ha visto confirmado en un estudio multicéntrico realizado recientemente con placebo a doble ciego y con fragmentos hipoalérgicos de Bet v 1, durante un periodo de 12 meses sobre 124 pacientes alérgicos al polen de abedul. Los antígenos hipoalérgicos de Bet v 1 recombinantes fueron el F1, que se compone de los aminoácidos 1 a 73 sin metioninas, el F2, que se compone de los aminoácidos 74 a 159 y además, un trímero recombinante del alérgeno expresado por medio de *E.coli*. Los resultados indican que la inmunoterapia con los derivados recombinantes inducen la aparición de anticuerpos IgG bloqueantes (sobre todo IgG1 e IgG4) que inhiben la liberación de histamina de los basófilos de enfermos alérgicos al polen de abedul cuando son estimulados con el alérgeno recombinante. Además, los aumentos de IgE que aparecen en la estación del polen no se producen en los enfermos tratados con antígenos recombinantes. Hay una mejoría clínica paralela al aumento de anticuerpos IgG1. El trabajo está bien documentado, pero se echa de menos un mejor estudio de los síntomas en relación con el conteo de pólenes (incluyendo placebo y controles) y tal vez, debería haberse incluido un grupo de enfermos con inmunoterapia y extractos convencionales con antígenos nativos a efectos de comparar los parámetros inmunológicos^{45,46}.

En plano todavía experimental, se están utilizando vacunas de ADN que codifican a Bet v 1a. Esta vacuna previene una sensibilización *de novo* en los ratones, demostrada por degranulación de basófilos, y también mejora la situación de ratones hechos alérgicos, de forma que no hay incremento de IgE específica después de inyectar el alérgeno a esos ratones tratados con la vacuna de ADN⁴⁷.

Otro tratamiento experimental es la utilización de una proteína de fusión recombinante de la superficie celular bacteriana (la pared S del *Geobacillus stearothermophilus*), con Bet v1. Es una aproximación bastante ingeniosa que busca la polarización a Th1 inducida por la proteína de la pared bacteriana con el alérgeno correspondiente en forma de proteína de fusión recombinante. Esta mezcla libera muy poca histamina cuando se utiliza *in vitro* con basófilos de alérgicos a abedul e induce una respuesta Th1/Th2 tras incubación con linfocitos de sangre periférica de los enfermos con un aumento de producción de IL-10 y gamma IFN en los sobrenadantes de los cultivos⁴⁸.

Olivo (*Oleáceas*): antígenos caracterizados

La alta sensibilización al polen del olivo (*Olea europaea*) tanto en los países mediterráneos, como en concreto en España (donde es considerada la segunda causa de polinosis tras las gramíneas, y en algunas regiones como Andalucía, la primera) ha despertado el interés de muchos grupos de investigación que se han centrado tanto en la caracterización de las proteínas responsables de la sintomatología alérgica, como en el estudio de los mecanismos que subyacen a este tipo de sensibilización, cuyos avances más destacables fueron resumidos en el 2002⁴⁹.

Hasta el momento, se han aislado y caracterizado 10 proteínas en el extracto del polen del olivo (tabla 1) a pesar de que distintos métodos estándar de laboratorio han revelado la existencia de más de 20 bandas proteicas con actividad alérgica. El análisis de reactividad frente a estas proteínas es fundamental como herramienta diagnóstica, así como, para entender los mecanismos de sensibilización específica y/o reactividad cruzada, e intentar desarrollar nuevas herramientas terapéuticas.

La purificación de estas proteínas puede hacerse por aislamiento a partir del polen o por producción recombinante. Aunque el método ideal es el primero, no todas las proteínas se encuentran en la misma proporción en el polen y, por lo tanto, no siempre es posible la obtención de una cantidad adecuada de proteína. Por ejemplo, a partir del polen de olivo, Ole e 1, puede aislarse en gran cantidad (10-12 mg/g de polen liofilizado), mientras que de otras proteínas como Ole e 3 y Ole e 7 sólo se pueden obtener alrededor de 100 µg/g de polen⁵⁰. Este bajo rendimiento en la obtención de alérgeno natural ha hecho plantearse la utilización de alérgenos recombinantes. Procedimientos de clonaje, secuenciación y expresión recombinante han sido aplicados al estudio de un gran número de alérgenos y la mayoría de los alérgenos del polen de olivo han sido analizados bajo este prisma. Seis de los 10 descritos hasta el momento están caracterizados a nivel aminoacídico de forma completa (Ole e 1, 2, 3, 6, 8 y 9) y han sido expresados en distintos sistemas heterólogos, para la obtención de la correspondiente proteína recombinante.

El que ha sido considerado durante mucho tiempo como principal antígeno del polen de olivo, *Ole e 1*, es la proteína mayoritaria del extracto de polen (representa hasta un 20% del total del contenido proteico) y muestra una frecuencia de reconocimiento en los pacientes alérgicos al polen del olivo de >70%. Su caracterización, tanto a nivel nucleotídico como aminoacídico^{51,52}, ha revelado una proteína compuesta por una cadena polipeptídica simple de 145 aa, con gran microheterogeneidad de secuencia en algunas posiciones de su estructura primaria y un punto de glicosilación, que hace que exhiba dos formas distinguibles por su peso molecular, glicosilada (20 kDa) y no-glicosilada (18.5 kDa). La cadena polipeptídica posee 6 residuos de cisteína y 3 puentes disulfuro.

La comparación de secuencia demuestra que salvo en otras especies de la familia *Oleaceae* [se han aislado y caracterizado proteínas denominadas “Ole e 1-like”, con una similitud >85%, en fresno⁵³, forsythia⁵⁴, lila⁵⁵ y aligustre⁵⁶ no tiene homología con ningún alérgeno previamente descrito, aunque su secuencia ami-

TABLA 1.

ANTÍGENOS CARACTERIZADOS EN EL POLEN DEL OLIVO				
Antígeno	Caracterización	Frecuencia de unión a IgE	Homología	Referencia
Ole e 1	Estructura primaria determinada: 145 aa, 16331 Da, proteína ácida pI: 5-5.6, Alto grado de microheterogeneidad. Sitio de Glicosilación.	>70%	LAT52 del tomate, Zmc13 del maíz y OSPSG del arroz.	51, 52
Ole e 2 (profilina del polen de olivo)	Clonado y secuenciado, 17-15 kDa, proteína ácida (pI: 5,1).	24-69.9%	Con profilinas del abedul.	67, 68, 72
Ole e 3	Clonado y secuenciado. 9.2 kDa, proteína ácida (pI: 4.2-4.3) 2 sitios de unión a Ca ⁺⁺	20-50% en áreas con alta exposición alérgica	Con la secuencia consenso de los motivos de unión al Ca ²⁺ (policalcinas)	73, 74
Ole e 4	Secuenciación parcial. 32 kDa, pI: 4.6-5.1. Posible Glicoproteína	80%	Sin homología con proteínas conocidas.	75, 69
Ole e 5	Secuencia N-terminal. 16 kDa, pIs: 5.1-6.5. Isoformas.	35%	Alta homología con superóxido dismutasa de algunas plantas.	75
Ole e 6	Secuencia aa. Masa molecular deducida 5830 Da. PAGE-SDS: 10kDa, pI 4.2	15 % (diferencias dependiendo del área: 10-55%)	Sin similitud de secuencia con proteínas conocidas.	77
Ole e 7	Secuencia aa N-terminal: 9875-10297 Da, pI>9 Alto grado de polimorfismo.	47%	Sin homología con proteínas conocidas	80
Ole e 8	18,7 kDa, pI: 4.5 Proteína de unión a Ca ²⁺	3-5%	Sin Homología con otras proteínas, salvo con sitios de unión a Ca ²⁺	88, 89
Ole e 9	46,4 kDa, pI: 4.8, 4.9, 5.1, 5.4. Glucoproteína de la subfamilia de β -1,3 glucanasas (PR-2)	65%	Poca homología con otras glucanasas.	91
Ole e 10	10.8 kDa, pI 5.8	55%	Homología con C-term de Ole e 9, segmentos "Cys Boxes" de proteínas del desarrollo de levaduras y secuencias de genes de <i>Arabidopsis thaliana</i> .	92

noácida posee un 36-38% de identidad con las secuencias deducidas de los polipéptidos codificados por los genes LAT52 del polen de tomate y Zmc13 del polen de maíz. Las proteínas codificadas por estos genes podrían participar en la maduración del polen, germinación y/o crecimiento del tubo polínico, por lo que, junto con la demostración experimental de la especificidad de Ole e 1 en el tejido de polen, hacen pensar que esta proteína puede jugar un papel en los procesos de germinación del polen.

Además, mediante el mapeo epitópico con anticuerpos monoclonales se han definido 4 epítomos B en la superficie de Ole e⁵⁷ y por análisis de la respuesta proliferativa de linfocitos T de pacientes alérgicos y no-alér-

gicos, frente a un panel de péptidos sintéticos derivados de la molécula de Ole e 1, se han definido dos regiones en la parte carboxiterminal⁹¹⁻¹⁰² y ¹⁰⁹⁻¹³⁰ aa, inmunodominantes en la respuesta T⁵⁸ y no reconocidas por los anticuerpos IgE. Estas regiones podrían ser especialmente relevantes en el diseño de terapias específicas.

Estudios genéticos en dos poblaciones compuestas por dos grupos étnicos, españoles y árabes (presumiblemente con un “background” genético distinto), demostraron la asociación de la respuesta de anticuerpos IgE α -Ole e 1 y el antígeno de histocompatibilidad de clase II, DQ2^{59,60}. Esta restricción ha sido también asociada a la respuesta de otros antígenos derivados de oleáceas, además de haberse constatado a nivel experimental con la utilización de líneas T (datos no publicados).

A pesar de que Ole e 1 puede ser aislado en grandes cantidades (10-12 mg/g de polen deshidratado) por técnicas convencionales de purificación, la existencia de polimorfismos en su secuencia, así como la glicosilación de la forma natural, hicieron plantearse el expresar esta proteína de forma recombinante, con el fin de valorar la importancia de determinadas isoformas y el papel de los azúcares en la respuesta alérgica.

En primer lugar, se utilizó un sistema procariótico, expresándose en la bacteria *Escherichia coli* como proteína de fusión unida a la glutathion S-transferasa⁵², método teóricamente sencillo para la detección y posterior purificación de la proteína recombinante. El resultado fue un bajo rendimiento de la forma monomérica de la proteína (100-200 μ g/l de cultivo) inmunológicamente activa y adecuadamente plegada (la mayor parte del material recombinante obtenido eran agregados de alto peso molecular, probablemente por los puentes disulfuro de la proteína)⁵⁰.

La utilización de la levadura metilotrófica *Pichia pastoris*, proporcionó un sistema eucariótico de gran rendimiento para la síntesis de Ole e 1 recombinante, permitiendo la purificación de 35 mg/l de cultivo, de proteína soluble, adecuadamente plegada y con características inmunológicas equivalentes a las del alérgeno natural⁶¹ tanto *in vitro* (ELISA e inmunotransferencia) como *in vivo* (pruebas cutáneas) demostraron la equivalencia inmunológica de la forma recombinante.

Ensayos con la natural (correlación 100% en el diagnóstico con ambas formas de alérgeno), a pesar de que los azúcares de la forma glicosilada no eran exactamente los mismos que la forma natural^{61,62}. Estos resultados demuestran el gran potencial diagnóstico de los alérgenos recombinantes así como, la poca importancia de los azúcares en la respuesta global a Ole e 1.

Ole e 2. Este antígeno pertenece a la familia de las profilinas, grupo de proteínas ubicuas en varios tejidos de plantas, animales e incluso virus, implicadas en la organización del citoesqueleto en células eucariotas. Fueron descritas por primera vez por Carlsson y cols⁶³ como proteínas de bajo peso molecular en bazo bovino, capaces de inhibir el crecimiento de filamentos de actina *in vitro*. Valenta y cols⁶⁴ fueron los primeros en describir el carácter alérgico de profilinas detectadas en el extracto de abedul. Desde entonces, tras comprobarse la presencia de este tipo de proteínas en una gran cantidad de vegetales, así como de pólenes, (con una amplia homología de secuencia, responsables de la reactividad cruzada entre un amplio espectro de especies no relacionadas taxonómicamente) permitió acuñar el término de “pan-alérgeno” a estas proteínas⁶⁵. Se identificaron profilinas consideradas como alérgenos minoritarios (20% de prevalencia) en pólenes de *Betula verrucosa*, *Phleum pratense* y *Artemisia vulgaris*. Posteriormente, diferentes trabajos demostraron el carácter como alérgenos minoritarios de las profilinas en múltiples especies como resumen Martínez y cols⁶⁶.

En el polen del olivo, la purificación de la profilina por técnicas convencionales a partir del extracto de polen, se publicó en 1998⁶⁷, describiéndose una proteína con una masa molecular aproximada de 15kDa.

Un año antes⁶⁸ el ADNc de la profilina se había obtenido con el uso de cebadores degenerados. La secuencia deducida a partir de tres cADNs corresponde a una proteína de 14.4 kDa de masa molecular y pI de 5.1, con un alto grado de identidad entre las tres secuencias (>98%) y heterogeneidad de secuencia en 4 posiciones (Asp-20→Gly, Val-122→Ala, Val-130→Leu y Met-134→Leu). La proteína fue expresada de forma recombinante en *E. coli*, con un rendimiento de 70 mg/l de cultivo y más de un 95% en forma soluble. La comparación de secuencia demostró la alta identidad aminoacídica (73-86%) con otras profilinas de plantas, siendo la mayor con la profilina de abedul.

La frecuencia de reconocimiento de Ole e 2 ha sido estimada en aproximadamente un 24%⁶⁷ por análisis de inmunotransferencia. Similar resultado (25-27%) fue descrito con Ole e 2r y con la proteína purificada^{69,70} utilizando la misma metodología. Datos recientes, obtenidos por ensayos *in vivo* usando profilina aislada del polen del olivo, revelaron los mismos porcentajes de prevalencia. Sin embargo, este mismo grupo⁶⁶ describe cómo la profilina aislada de forma natural y utilizada en ensayos *in vivo* (pruebas cutáneas) muestra una prevalencia de 66% en pacientes polisensibilizados y de un 50% en monosensibilizados. Recientemente, usando ELISA y pruebas cutáneas, se ha descrito una prevalencia de un 74.6% en una población de Jaén⁷¹. Una posible explicación para estas discrepancias podría deberse a la pérdida de epítomos conformacionales dependiendo de la metodología utilizada. Sin embargo, otros factores intrínsecos y/o ambientales pueden influir en estas diferencias, así se ha demostrado que el carácter de alérgeno mayoritario de Ole e 2, sólo se observa en poblaciones con una alta carga antigénica⁶⁷. Por otro lado, recientemente se ha descrito en una población de Jaén, con una alta exposición antigénica, cómo la sensibilización a este antígeno está relacionada con el fenotipo asma, además de la existencia de una posible regulación genética⁷².

Ole e 3, pertenece a una amplia familia de proteínas que unen Ca^{2+} , cuyas secuencias polipeptídicas están altamente conservadas y poseen un alto grado de reactividad cruzada.

El aislamiento y la caracterización parcial de esta proteína⁷⁴ a partir del extracto de polen de olivo, reveló una cadena polipeptídica simple de 9.2kDa, con un pI ácido (4.2-4.3), sin triptófano ni residuos de tirosina.

Ole e 3, al no poseer ni carbohidratos ni puentes disulfuro ha sido expresada y purificada correctamente en un sistema bacteriano (*E. coli*), con un rendimiento considerablemente mejor que el obtenido a partir del extracto de polen (25 mg de proteína purificada/ litro de cultivo frente a los 100 μg /gramo de polen)⁷⁵.

La secuencia aminoácida completa contiene 84 aa, exhibe 2 potenciales sitios de unión a Ca^{2+} en las posiciones 19-30 (sitio I) y 54-65 (sitio II), habiéndose demostrado que la conformación de esta proteína (tanto en su forma natural como recombinante) depende del Ca^{2+} . Su comparación de homología con los alérgenos de polen que unen Ca^{2+} mostró identidades del 63% con Cyn d 7 (del grano de Bermuda), 73% con Bra r II y un 81% con Bet v 4 (de abedul), con una similitud de 85%, 91% y 95%, respectivamente. Estos datos sugieren que son miembros de una familia altamente conservada de proteínas de polen. Además se ha descrito la presencia específica de Ole e 3 en pólenes de distintas plantas, Oleáceas, Gramíneas y abedul, así como su especificidad en tejidos. La comparación de secuencia entre esta proteína con aquéllas relacionadas que tienen 2 sitios de unión al Ca^{2+} es muy baja, tanto en identidad como similitud. Por otro lado, las calmodulinas de plantas muestran < 70% de similitud de secuencia y entre un 40-50% de identidad. Por todo esto, se ha sugerido que Ole e 3 y sus homólogos, podrían pertenecer a una nueva familia de proteínas relacionadas con la calmodulina de unión al Ca^{2+} , proponiendo el nombre genérico de “polcalcinas”.

La proteína recombinante muestra pequeñas diferencias en la secuencia de aa, que podría deberse a microheterogeneidad de secuencia, sin embargo el análisis del espectro de dicroísmo circular demuestra identidad en la estructura secundaria.

Finalmente, este alérgeno ha sido descrito como un alérgeno mayoritario, ya que tiene una prevalencia mayor del 50% en pacientes alérgicos al olivo procedentes de áreas con altos niveles de polen.

A nivel funcional, tanto ELISAs como inmunotransferencias han demostrado que la proteína nativa y la recombinante tienen la misma capacidad de reconocimiento de anticuerpos IgG e IgE, lo que demuestra que epítomos antigénicos y alérgicos se mantienen en la proteína recombinante.

Ole e 4 y Ole e 5. Fueron descritos por Boluda L y cols⁷⁶ al analizar la composición alérgica del polen de *Olea europaea* recolectado en California utilizando sueros procedentes de España. Ambas proteínas fueron purificadas y parcialmente caracterizadas.

Ole e 4 es una proteína con una masa molecular aparente de 32 kDa, con al menos dos isoformas en el rango de pI de 4.6 a 5.1. Ole e 5 por su parte, tenía una masa molecular aparente de 16kDa y al menos 5 isoformas en el rango de 5.1 a 6.5 de pI. La prevalencia de estos antígenos fue estudiada en 20 sueros por

inmunotransferencia, comprobándose cómo Ole e 4 tenía un 80% de reconocimiento (antígeno mayoritario) y Ole e 5 un 35%. Estos datos han de ser tomados con cautela por el bajo número de pacientes estudiados, sin embargo, en el caso de Ole e 4, en 1999⁶⁹, se describió la presencia de una proteína de 36kDa, con una prevalencia de un 83% en un análisis de 120 sujetos (por inmunotransferencia), que podría coincidir con Ole e 4, aunque habría que determinarlo por análisis de secuencia, dato que hasta el momento no ha sido publicado.

Ole e 4 y Ole e 5 han sido parcialmente secuenciados. El extremo N-terminal de Ole e 4 estaba bloqueado, por lo que se obtuvo la secuencia de dos regiones internas de aminoácidos derivadas de 2 péptidos trópicos de la proteína. La comparación de estas secuencias con las de la base de datos de proteínas conocidas, reveló la ausencia de homología con ninguna proteína. Sin embargo, la secuencia N-terminal de Ole e 5 mostró un alto grado de homología con las superóxido dismutasas (SODs) de algunas especies de plantas (hasta un 79.3% con SODs de espinaca) y en menor grado, con especies más distantes filogenéticamente. Esta homología es muy interesante, teniendo en cuenta la implicación de SOD y otros elementos implicados en los procesos oxidativos en las reacciones alérgicas, especialmente el asma. Ole e 5, Hev b 10 (*Hevea brasiliensis*) y el alérgeno de *A. Fumigatus*, son los únicos alérgenos descritos hasta el momento con homología por SOD⁷⁷.

Ole e 6. Es el alérgeno del olivo más pequeño descrito hasta el momento. En 1997⁷⁸ esta proteína altamente soluble fue purificada, su ADNc clonado y secuenciado, demostrándose la falta de microheterogeneidad de secuencia. A pesar de que en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) exhibe un peso molecular aparente de 10 kDa, consiste en una cadena polipeptídica de 50aa (5,830Da por espectrofotometría de masas) muy ácida (pI: 4.2), con un alto contenido de residuos Cys, organizados en dos “sets” de un motivo de secuencia particular, Cys-X₃-Cys-X₃-Cys. El alérgeno no tiene homología con ninguna proteína de la base de datos, aunque los motivos enriquecidos en Cys aparecen en la secuencia deducida de *Tap1*, un gen específico de estambres de diente de dragón (*Antirrhinum majus*) y tabaco (*Nicotiana tabacum*).

La prevalencia parece depender del área geográfica de sensibilización de los pacientes. Análisis de reactividad por inmunotransferencia con sueros de Madrid, mostró una prevalencia del 15%, mientras que ésta se incrementaba hasta un 55% al utilizar sueros de Córdoba⁷⁷. En una publicación reciente⁷¹ utilizando sueros de sujetos de Jaén, se obtuvo una prevalencia también elevada (47.9%). Estos datos parecen indicar que este antígeno puede ser relevante en regiones con alta carga antigénica.

En los últimos meses, dos artículos han sido publicados sobre este antígeno. Por un lado, la determinación en solución de la estructura tridimensional de esta proteína (primer alérgeno del olivo del que se obtiene)⁷⁸, ha permitido definir 5 posibles epítopos para el reconocimiento de IgE en la superficie molecular. Este avance, permitirá verificar ó no la importancia de estos posibles epítopos, así cómo, abre la puerta a futuras formas hipoalérgicas de esta proteína, útiles para el diagnóstico y tratamiento.

Finalmente, Ole e 6 ha sido clonado y expresado correctamente en *P. pastoris*⁷⁹ obteniéndose como una proteína monomérica soluble, con un excelente rendimiento (25 mg/litro de cultivo). Se obtuvieron dos formas recombinantes similares en sus propiedades estructurales, con la misma secuencia N-terminal, composición aminoacídica y estructura secundaria, aunque con un perfil electroforético algo diferente, debido al diferente estado de oxidación en la metionina 28. Sin embargo, ambas proteínas recombinantes fueron indistinguibles en sus propiedades de unión a IgG, ya que, ambas fueron igualmente reconocidas por un anticuerpo policlonal α -Ole e 6 (de la forma nOle e 6) y mostraron idéntica capacidad de inhibición frente al antisuero. Estas proteínas reflejaron menor afinidad frente al anticuerpo que la forma natural de la proteína por experimentos de ELISA inhibición, aunque fueron capaces de inhibir un 80% la unión de proteína natural frente al antisuero. Estos datos demuestran la existencia de epítopos G equivalentes entre la forma natural y recombinante.

Ole e 7. Esta proteína ha sido purificada y caracterizada por Tejera ML y cols⁸⁰, de la fracción proteica de bajo peso molecular (alrededor de 10 kDa) del extracto de polen del olivo. Tiene una masa molecular aparente

en PAGE-SDS prácticamente igual a Ole e 6 (10kDa) y muy similar a Ole e 3 (9.5kDa). Se trata de una proteína muy soluble, ya que para su purificación hay que aislarla en los 15 primeros minutos de extracción salina.

Consta de una cadena polipeptídica de 88 aa altamente polimórfica, de aproximadamente 10kDa (masa molecular de 9875 a 10297 Da). El número de isoformas es alto, como se deduce de su perfil cromatográfico, espectrofotometría de masas y microheterogeneidad de secuencia, lo que complica la producción de alérgenos recombinantes, así como el análisis estructural preciso para la posible definición de epítomos B y T. A pesar de estas complicaciones, 21 aminoácidos del extremo N-terminal de dos isoformas han sido secuenciados, revelando la falta de homología con ninguna otra proteína conocida hasta el momento de su publicación. Sin embargo, posteriormente⁸¹ se ha descrito la similitud de pequeñas porciones de esta proteína con proteínas transportadoras de lípidos no específicas (nsLTP) de tejidos de plantas.

LTPs son moléculas muy estables, ampliamente distribuidas en diferentes especies y tejidos, cuya función está relacionada con la habilidad de unirse a ácidos grasos, además de poseer actividades antibacterianas y antifúngicas⁸². Son un grupo de alérgenos homólogos a las proteínas relacionadas con la patogénesis, involucradas en los mecanismos de defensa de las plantas contra patógenos y probablemente, también en la formación de materiales lipofílicos extracelulares.

Estas proteínas se han identificado como alérgenos relevantes en la familia de las rosáceas y otros vegetales⁸³⁻⁸⁵. Debido a su gran distribución en diferentes especies de plantas, se han propuesto como nuevos pan-alérgenos con un potencial de reactividad cruzada comparable al de las profilinas^{85,86}.

La secuencia N-terminal de Ole e 7 mostró la máxima similitud de secuencia (50%) con LTP de tabaco, colza, girasol y cebada.

La relevancia clínica de este antígeno es destacable, ya que, su prevalencia ha sido descrita como de un 47%, aunque parece estar relacionada con el área geográfica, ya que, al igual que para otros antígenos del olivo, los pacientes del sur de España (Jaén) muestran una prevalencia de más del 60%, mientras que en áreas como Madrid, es menor del 20%⁸¹. Además, este alérgeno es especialmente relevante tras la reciente publicación en la que se describe la asociación entre la anafilaxis por ingestión de frutas y la sensibilización a Ole e 7⁸⁷.

Ole e 8. Fue descrito en el año 2000⁸⁸ como una nueva proteína alérgica de la familia de proteínas que unen Ca^{++} . Se obtuvo como proteína recombinante en *E. coli* a partir de un ADNc sintetizado del ARN de polen.

Esta proteína tiene una masa molecular aparente de 20kDa y 4 sitios de unión a Ca^{++} . Consiste en una cadena polipeptídica sencilla de 171 aa, sin sitios de glicosilación ni puentes disulfuro, por lo que su correcta expresión en un sistema bacteriano como es *E. coli*, se vio favorecida. El rendimiento de expresión en bacteria fue elevado (20 mg/litro de cultivo). Se demostró que esta proteína es capaz de unir anticuerpos IgE de sueros de pacientes alérgicos al olivo, aunque la prevalencia es muy baja (3-4%). Este dato se ha confirmado recientemente en un trabajo publicado con pacientes de Jaén (prevalencia 5%)⁷¹.

La purificación de la forma natural del antígeno fue difícil por la escasa presencia de esta proteína en el extracto de polen (0.02-0.05 % de la proteína total), así como, la abundante presencia de Ole e 1, que posee características de masa molecular y pI ácido, muy similar a Ole e 8.

Sin embargo, su purificación se produjo en el 2002⁸⁹, demostrándose la equivalencia inmunológica con la forma recombinante. La proteína natural fue capaz de inhibir totalmente la unión IgG de un antisuero policlonal α -Ole e 8r.

Por otro lado, en distintas oleáceas (fresno y lila) y en menor medida en *Juniperus*, se detectaron proteínas similares a Ole e 8, lo que podría indicar una implicación de estas proteínas en procesos de reactividad cruzada, entre pólenes taxonómicamente relacionados.

La identidad de secuencia con otras proteínas que unen Ca^{++} es muy baja. La mayor similitud se encontró con Jun o 2 (alérgeno mayoritario de *Juniperus oxycedrus*) y con la proteína de estrés TCH2 de *Arabidopsis Thaliana*, con una homología de un 27 y 35% respectivamente, fuera de los sitios de unión a Ca^{++} . Se ha sugerido que estas proteínas puedan estar relacionadas funcionalmente con Ole e 8.

Por otro lado, a pesar de la poca similitud entre Ole e 3 (con 2 sitios de unión a Ca^{++}) y Ole e 8, fuera de los sitios de unión a Ca^{++} , todos los sueros reactivos a Ole e 8 también lo fueron a Ole e 3, lo que permite especular con la posibilidad de compartir determinantes antigénicos o que los sitios de unión a Ca^{++} puedan estar relacionados con la sensibilización (aún no confirmado).

Ya que la capacidad de unión a IgE de las proteínas que unen Ca^{++} está relacionada con la presencia del mismo, unido a sus cadenas polipeptídicas, Valenta y cols⁹⁰ plantearon la posibilidad de diseñar derivados recombinantes con una capacidad disminuida de unir Ca^{++} , aunque manteniendo las propiedades antigénicas, de forma que la alergenicidad se vea mermada y por lo tanto, poder ser utilizado en inmunoterapia. Este es un concepto muy interesante, aunque en el caso de Ole e 8, considerando la baja prevalencia de reconocimiento, no parece muy útil desde un punto de vista práctico.

Ole e 9. Es el alérgeno de mayor peso molecular del polen del olivo, descrito hasta el momento (46.4 kDa)⁹¹. Se trata de una glicoproteína con bajo pero significativo polimorfismo, que muestra 4 isoformas por isoelectrofoque, con pIs de 4.8, 4.9, 5.1 y 5.4. Siete péptidos tripticos del alérgeno fueron secuenciados y usados para diseñar los cebadores utilizados en el clonaje del ADNc que codifica por la proteína. La proteína madura consiste en una cadena polipeptídica sencilla de 234 aa y al menos un posible sitio de glicosilación.

La secuencia del alérgeno se alinea bien con diferentes 1,3- β -glucanasas de plantas, por lo en principio podría pensarse que pertenece a la familia de proteínas “relacionadas con la patogénesis” (PR), pero la baja identidad de secuencia (39, 33 y 32% incluyendo los residuos catalíticos al ser comparada con 1,3- β -glucanasas de cebada, sauce y *Arabidopsis thaliana*, respectivamente), la utilización de laminarina como sustrato, así como su localización específica en el polen, sugieren que Ole 9 podría representar una nueva subfamilia de 1,3- β -glucanasas^{91,50}. Ole e 9 parece expresarse específicamente en polen y no estar inducido por infecciones patógenas. Al igual que otros alérgenos del olivo es altamente soluble y, por tanto, fácilmente liberado tras la hidratación. Su implicación en germinación del polen y crecimiento del tubo polínico, aún tiene que ser analizada, pero no se puede descartar su implicación en defensa.

Esta proteína es un alérgeno mayoritario, con una prevalencia de un 65%, demostrado por ELISA con la proteína natural purificada. Es la primera 1,3- β -glucanasa ácida y larga descrita con propiedades alérgicas, ya que se ha descrito la capacidad alérgica de una 1,3- β -glucanasa de látex, corta y básica Hev b 2⁹¹.

La descripción de Ole e 9 como alérgeno relevante en el polen del olivo, apoya el papel de las PR o similares a las reacciones alérgicas mediadas por IgE.

Ole e 10. Es la última proteína del polen del olivo caracterizada hasta el momento⁹². Es una proteína pequeña, con una masa molecular de 10789 Da y un pI de 5.8. Basada en la secuencia de aa de péptidos tripticos, la proteína fue clonada y secuenciada. El alérgeno es una cadena polipeptídica simple de 102 aa, y un péptido señal de 21 residuos. Muestra homología con el segmento C-terminal de Ole e 9 (53% de identidad de secuencia), con secuencias deducidas de genes de *Arabidopsis thaliana* (42-43%) y con segmentos polipeptídicos (“Cys Boxes”) de proteínas implicadas en el desarrollo de levaduras (familias Epd1/Gas1p/Phr2; similitud de 42-43%). Existe una gran reactividad cruzada con Ole 9, aunque no se observa correlación entre la respuesta IgE frente a ambos antígenos. Además, Ole e 10 comparte epítopos B con proteínas presentes en extractos de pólenes de *Oleaceae*, *Gramineae*, *Betulaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cupressaceae* y especies de *Parietaria*, además de mostrar reactividad cruzada con látex y algunos alimentos de origen vegetal. Todo esto, parece indicar que este antígeno es un nuevo “pan-alérgeno”, que muestra gran reactividad cruzada “intra y entre-especies”. Se ha especulado que podría ser un buen candidato en el síndrome polen-látex.

Ole e 10 se ha definido como un alérgeno mayoritario, con una prevalencia del 55%^{92,72} en los pacientes alérgicos al olivo, con unas características muy especiales. En un artículo reciente⁷² se ha demostrado, cómo la sensibilización a este antígeno parece estar relacionado con el fenotipo clínico de asma, además, los pacientes con anticuerpos IgE específicos a Ole e10 mostraban la mayor severidad (el número de días con asma fue significativamente mayor que el observado en pacientes no sensibilizados). Estos datos sugieren que

la sensibilización a Ole e 10 en pacientes con asma bronquial por *Olea europaea* podría ser un factor de riesgo para la severidad de la enfermedad. Por otro lado, se ha demostrado la asociación entre DR2¹⁵ y la respuesta a Ole e 10. Este resultado es muy interesante considerando que este mismo antígeno de clase II ha sido previamente asociado con el asma.

Taxodiáceas y cupresáceas: antígenos caracterizados

El ciprés ha estado presente en el sur de Europa desde hace muchos siglos, sin embargo, los primeros casos de sensibilización a su polen no se reportaron hasta 1945. El género *Cupressus* comprende una serie de especies ampliamente distribuidas en el Mediterráneo, Asia central, China, y costa Oeste de Norteamérica⁹³.

Las cifras de prevalencia de la alergia al polen del ciprés era muy variable debido a una baja calidad de los extractos por falta de estandarización (antes de existir los antígenos recombinantes). Otro factor, además de la calidad de los extractos, que puede contribuir a la confusión en los estudios de prevalencia es la época de polinización de estas plantas, donde es fácil que la sintomatología se confunda con otros procesos respiratorios, cuando el diagnóstico no es hecho por especialistas^{94,95}.

En la actualidad, se sabe por datos recientes bien contrastados que la prevalencia ha aumentado hasta un 20%. Los extractos han mejorado y han sido estandarizados, por lo que se optimiza el diagnóstico. También ha contribuido al aumento la prolongación del tiempo de exposición lo que da lugar a que la carga antigénica sea cada vez más elevada. Hay un incremento en la exposición a las cupresáceas debido a la reforestación y al creciente empleo de estas especies como barreras naturales en jardines y como plantas ornamentales. Además, cada vez es más importante la existencia de factores medioambientales como la polución⁹⁶⁻⁹⁸.

Otros factores a tener en cuenta son las características individuales, como el predominio en sexo femenino, la aparición de síntomas en edad adulta, predominio de monosensibilizados y de pacientes con bajos niveles de IgE sérica. Estos factores apuntan a que puede existir una restricción genética en estos pacientes. Recientemente, hemos analizado esa posible restricción estudiando 50 pacientes alérgicos a cupresáceas de los que 13 eran monosensibilizados y 37 polisensibilizados y todos tenían IgE específica anti rCup a 1. En la tabla 2 cabe destacar la comparación del antígeno DR5(11/12) de los monosensibilizados a *Cupressus arizónica* (Cup a 1) vs los sujetos control, siendo la frecuencia fenotípica en los primeros de 62% frente a la de los

TABLA 2.

RESULTADOS DE TIPIFICACIÓN DE HLA DE CLASE II (DR) DE LOS PACIENTES DE ARIZÓNICA (DOT BLOT REVERSO)							
DR	n	FF %	N	FF	N	FF	p
DR1	3/10	23	8/29	22	38/141	21.2	ns
DR2 (15/16)	1/12	8	7/30	19	44/135	24.6	ns
DR3	2/11	15	10/27	27	45/134	25.1	ns
DR4	4/9	31	11/26	30	54/125	30.2	ns
DR5 (11/12)	<u>8/5</u>	<u>62%*</u>	<u>8/29</u>	<u>22%</u>	<u>36/143</u>	<u>20.1%*</u>	<u>*pc=0.02</u>
DR6 (13/14)	3/10	23	5/32	14	46/133	25.7	ns
DR7	4/9	31	17/20	46	56/123	31.3	ns
DR8	0/13	0	4/33	11	11/168	6.1	ns
DR9	0/13	0	0/37	0	4/175	2.2	ns
DR10	0/13	0	1/36	3	9/175	2.2	ns

Monosensib (n=13) Polisens (n=37) Control (n=179)

controles que es de un 20.1%, con una $p = 0,002$ y una p corregida (pc) de 0,02 con un riesgo relativo de 6,35. Esto demuestra que las peculiaridades clínicas que manifiestan los pacientes monosensibilizados pueden tener una base genética.

Las especies de mayor interés alergológico son las cupresáceas, las taxodiáceas (*Cryptomeria*), y las pináceas. Sus antígenos reaccionan cruzadamente lo que hace que la estación polínica se vea prolongada en el tiempo, pues las polinizaciones no coinciden cronológicamente, existiendo un solapamiento con el consiguiente aumento de la estación de polen.

Antígenos recombinantes de cupresáceas

El género *Cupressus* se compone de varias especies comunes en nuestro medio, como son el *Cupressus sempervirens*, *C. arizónica*, *C. macrocarpa* y *C. lusitanica*. Los extractos del polen de *C. arizónica* tienen una potencia alergénica mayor que la que poseen las otras especies, probablemente debido a diferencias en los contenidos en azúcares que pueden intensificar la respuesta mediada por IgE.⁹⁹

En la tabla 3⁹³ están expresados los diferentes antígenos que han sido clonados, de los que existen varios grupos según su actividad biológica.

El grupo 1¹⁰⁰, corresponde a las pectato liasas^{101,102}. La actividad enzimática pectato liasa ha sido demostrada recientemente en el polen de *Cupressus arizónica*¹⁰³. Estas son enzimas pectolíticas que degradan

TABLA 3.

ALERGENOS CLONADOS DE CUPRESÁCEAS Y TAXODIÁCEAS AGRUPADOS SEGÚN SU ACTIVIDAD BIOLÓGICA ⁹³				
Actividad biológica	Pectato Liasas	Poligalactu-Roñazas	Prot. Relacionadas con la patogénesis Taumatinas	Unión al Ca ⁺⁺ Polcalcinas
<i>Cupressus arizónica</i> (Ciprés de Arizona)	Cup a 1 (*) 37.6 kDa **	Jun a 2 (*) 55.7 kDa	Cup a 3 (*) 23 kDa	
<i>Cupressus sempervirens</i> (Ciprés italiano)	Cup s 1 (96%)* 39.8 kDa		Cup s 3	
<i>Juniperus ashei</i> (Cedro de montaña)	Jun a 1 (91%) 39.8 kDa		Jun a 3 (95%) 23.7 kDa	
<i>Juniperus oxicedrus</i> (Junípero espinoso)	Jun o 1 (97%) 39.8 kDa			Jun o 4 17.7 kDa
<i>Juniperus virginiana</i> (Cedro rojo del Este)	Jun v 1 (95%) 39.7 kDa		Jun v 3 94% 30 kDa	
<i>Cryptomeria japonica</i> (Cedro japonés)	Cry j 1 (75%) 40.6 kDa	Cry j 2 (71%) 37 kDa	Cry j 3 (81%) (i)	
<i>Chamaecyparis obtusa</i> (Ciprés japonés)	Cha o 1 (81%) 40.2 kDa	Cha o 2 (82%) 56 kDa		

(*) Porcentaje de homología de los diferentes alergenitos clonados comparando con las secuencias Cup a 1, Jun a 2 or Cup a 3, respectivamente. (**) Es dependiente del vector de expresión debido a la presencia o no de carbohidratos, como se explica en el texto.

la lamina media de la pared de la planta. Hasta hace poco se pensaba que provenían de bacterias y hongos patógenos para las plantas, pero se ha visto recientemente que también se pueden producir endógenamente. Su función en el polen consiste en favorecer la emergencia del tubo polínico facilitando la penetración del polen. En las frutas estos enzimas son responsables de la pérdida de textura de las frutas almacenadas.

En una electroforesis en geles de poliacrilamida, el número de proteínas con capacidad de unirse a los anticuerpos IgE de los pacientes es de al menos siete bandas, de las cuáles el antígeno principal corresponde a una glicoproteína de 43 kDa, que es predominante no sólo por su concentración dentro del extracto, sino también por su reactividad con dichos anticuerpos IgE. Esta proteína ha sido clonada y secuenciada correspondiendo a la denominación de Cup a 1¹³. Recientemente se ha descrito un método para cuantificar el antígeno Cup a 1¹⁰³, lo que supone una ventaja en los intentos de estandarizar los extractos de *C. arizónica* y de otras cupresáceas que tienen alta homología con la arizónica, como son el *C. sempervirens* cuyo antígeno homólogo tiene un 96% de identidad con Cup a 1, el *Juniperus ashei* o cedro de montaña, cuyo antígeno Jun a 1 tiene un 91% de identidad con Cup a 1 y el *Juniperus oxicedrus* o Junípero espinoso, en el que el Jun o 1 tiene un 97%. El antígeno mayoritario del *Juniperus virginiana* o Cedro rojo, (Jun v 1), posee una homología de un 95% con Cup a 1. Algo más baja es la homología entre Cup a 1 y Cry j 1 del Cedro japonés o *Cryptomeria japonica* y con el Cha o 1 o Ciprés japonés (*Chamaecyparis obtusa*) con un 75 y un 81% de identidades en los aminoácidos respectivamente¹⁰⁴⁻¹⁰⁶. Cup a 1 no reacciona cruzadamente con los antígenos de pináceas, sin embargo, como puede verse en la figura 3, que ha sido cedida por el Dr. Gastemiza del Hospital Santiago Apóstol de Vitoria, los enfermos sensibilizados al polen de *Pinus radiata* reconocen una banda que corresponde a 43kDa. Sería muy interesante confirmar por experimentos de inhibición la posible relación con el grupo 1 de cupresáceas, aunque no debe de haberla, pues recientemente no se ha encontrado esta reactividad utilizando un anticuerpo anti Cup a 1.

El grupo 2 corresponde a las poligalacturonasas que también son enzimas degradativas de la pared celular y que están ampliamente distribuidas en el reino animal. Los antígenos clonados pertenecen al polen del Cedro de montaña (Jun a 2), del Cedro japonés (Cry j 2) y del Ciprés japonés (Cha o 2). El peso molecular es algo diferente entre ellos sobre todo el de Cry j 2 posiblemente debido al vector de expresión como se ha indicado más arriba¹⁰⁷⁻¹¹⁰.

El grupo 3 es el correspondiente a las proteínas relacionadas con la patogénesis (PRP)-taumatinas¹¹¹⁻¹¹³. Su peso molecular oscila entre los 23kDa de la Cup a 3 a los 30 del correspondiente a la *Cryptomeria japoni-*

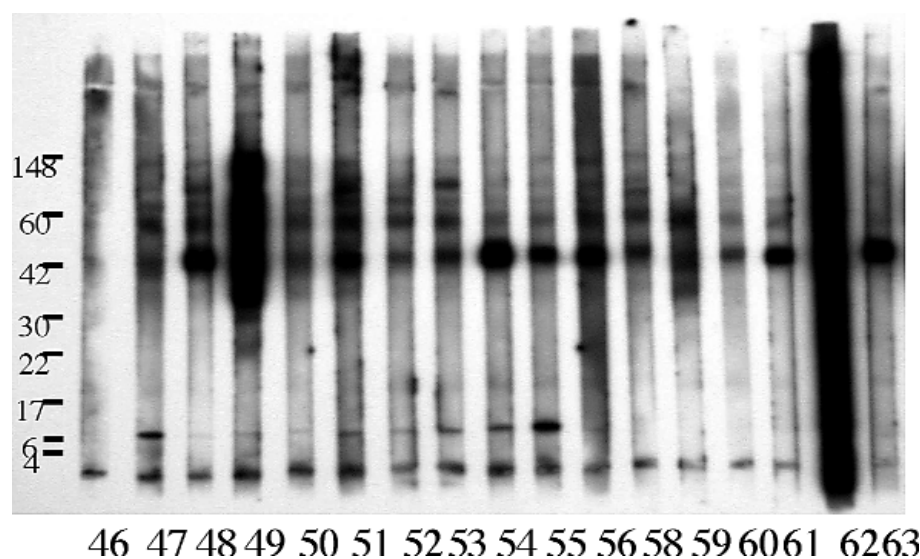


FIGURA 3. (Según Gastemiza et al. Tesis Doctoral). Inmunodetección con un extracto de *Pinus Radiata* y suero de enfermos alérgicos al pino. (Cedida amablemente por los Drs. Gastemiza y Ansótegui del Hospital Santiago Apóstol de Vitoria).

ca o Cry j 3. Es interesante observar que este grupo al pertenecer a la familia de los PRP-5, está relacionado estructuralmente con Pru a 2 y Mal d 2 que son alérgenos del cerezo y manzano respectivamente. Las proteínas de estos grupos se expresan en condiciones de estrés para las plantas y así se ha podido demostrar que Cup a 3 se expresa en condiciones de alta polución y no en condiciones benignas de cultivo. Esto no dejaría de ser una mera curiosidad científica si no fuera porque además esta expresión, en condiciones de estrés, afecta a la alergenidad total del extracto, según se obtenga el polen de sitios contaminados o no^{114,115}.

El grupo 4 es el correspondiente a los alérgenos de polen con capacidad de unión al Ca^{++} y el representante es el Jun o 4 que proviene del Junípero espinoso o *Juniperus oxicedrus*, de 17 kDa de peso molecular. Estas proteínas contienen motivos que consisten en dos alfa hélices situadas perpendicularmente, con un dominio entre las dos que forma un lugar de unión al calcio. Este tipo de proteínas está extendido en alérgenos alimentarios (bacalao, salmón, carpa) y en diferentes pólenes, lo que hay que tener en cuenta por posibilidad de reactividades cruzadas. Ejemplo de ello son los alérgenos: Phl p 7, Bet v 3, Aln g 4, que se agrupan en diferentes familias dependiendo del número de dominios con capacidad de ligar Ca^{++} . En el caso de Jun o 4 se dan cuatro dominios de forma similar a Ole e 8.

Uso diagnóstico de los alérgenos recombinantes

Sintetizando péptidos recombinantes de Cry j 2 del cedro japonés que se solapan en sus secuencias, se ha demostrado la existencia de epítomos B, en un análisis secuencial de la unión a los anticuerpos IgE, que puede ser de utilidad como técnica de diagnóstico *in vitro* y en una futura utilización en inmunoterapia con fragmentos que sólo activen a los linfocitos T¹¹⁶.

Variantes hipoalérgicas

Se ha establecido de forma experimental la evaluación preclínica de péptidos derivados de Cry j 1 y Cry j 2 que tienen siete determinantes reactivos con linfocitos T. Para ello se han utilizado formas truncadas recombinantes que se valoraron utilizando los linfocitos de sangre periférica de 113 individuos polínicos y se vio que son capaces de activar los linfocitos T y no los B, a muy bajas concentraciones. La reducción de antigenidad también se ha descrito utilizando el acoplamiento a la molécula de Cry j 1 de determinados polisacáridos¹¹⁷⁻¹¹⁹.

MALEZAS

Parietaria judaica: antígenos caracterizados

Se han identificado y caracterizado tres alérgenos de polen de parietaria, dos alérgenos mayores y una profilina. Todos ellos han sido clonados y expresados como proteínas recombinantes.

El “screening” de una librería de expresión de ADNc con un *pool* de sueros de pacientes alérgicos al polen de *Parietaria* permitió la secuenciación y clonación de los alérgenos mayores de la *P. judaica*: Par j^{120,121} y Par j 2^{122,123}.

Par j 1 es una glicoproteína con un peso molecular aproximado de 14,7 kDa, reconocida por el 95% de los pacientes alérgicos a polen de parietaria. Ayuso y cols¹²⁴ aislaron dos isoformas independientes con distintos pesos moleculares (13 y 10,5 kDa), y un alto grado de homología (80%).

El clon de ADNc de Par j 1.0102 codifica para una proteína de 176 aminoácidos que contiene una región amino-terminal de 37 aa con características de un péptido señal de proteínas glicosiladas, dando una proteína madura de 139 aa con un PM de 14.7 kDa. Utilizando la misma estrategia se secuenció una variable más corta del alérgeno mayor, el Par j 1.0201, que expresa un polipéptido de 139 aa con una región amino-terminal de 37 aminoácidos, que produce una proteína madura de 102 aa y un PM de 10.67 kDa. Las secuencias codificadas de Par j 1.0102 y Par j 1.0201 muestran una homología del 89%. El ADNc no presenta homología en las regiones 3' y 5' no traducidas, sugiriendo que ambas proteínas son producto de genes independientes que pertenecen a una familia multigénica.

Par j 2 es una proteína de 11,3 kDa que presenta reactividad con el 82% del suero de los pacientes alérgicos a *P. judaica*.

El clon de ADNc de Par j 2 codifica una proteína de 133 aa con una región amino-terminal de 31 aa, dando una proteína madura de 102 aa con un PM deducido de 11.34 kDa. Muestra una homología del 45% con la secuencia codificada de Par j 1, como consecuencia de un origen evolutivo común.

De hecho, ambos alérgenos pertenecen a la familia multigénica de las proteínas que transfieren lípidos no específicas (nsLTP), proteínas ubicuas implicadas en el transporte de ácidos grasos a través de membranas y en la defensa contra patógenos y estrés ambiental. Esta familia de proteínas ha sido descrita como un nuevo panalérgeno con un elevado nivel de reactividad cruzada entre alimentos vegetales comparable a la profilina.

Ambas proteínas, Par j 1 y Par j 2, han sido expresadas de forma recombinante en *E.coli* y muestran propiedades moleculares e inmunológicas comparables a sus homólogas naturales. rPar j 1 produjo una inhibición de la liberación de histamina por basófilos comparable a la liberación inducida por el extracto crudo de *P. judaica* y en ensayos de ELISA-inhibición fue capaz de unir el 40% de la IgE específica a *Parietaria*. rPar j 2 es capaz de inhibir aproximadamente el 35% de la IgE específica al extracto completo de *P. judaica*.

El modelo tridimensional de Par j 1 se ha obtenido por homología con una LTPns cristalizada de soja. Esta familia de proteínas contiene una estructura tridimensional conservada que forma un plegamiento $\alpha\text{-}\alpha\text{-}\alpha\text{-}\alpha\text{-}\beta$ con cuatro puentes disulfuro establecidos entre 8 residuos de cisteína, necesarios para el correcto plegamiento de la proteína¹²⁵. En ese mismo estudio se describe un epítipo inmunodominante en la región 1-30 de la molécula. Ensayos de inhibición cruzada han demostrado que este epítipo fija una gran proporción de IgE específica a *P. judaica* y que es un epítipo compartido entre Par j 1 y Par j 2. La comparación de las secuencias N-terminal entre rPar j 1 y nPar o 1 muestran una homología del 83% y la conservación de este epítipo IgE en la secuencia del alérgeno mayor de *P. officinalis*, confirmando la elevada reactividad cruzada entre ambas especies.

Recientemente, Asturias y cols¹²⁶ han identificado 5 epítipos mayores IgE en la molécula de Par j 1 y 8 en Par j 2. Superponiendo las estructuras tridimensionales de ambos alérgenos, identifican 3 epítipos IgE similares en los dos alérgenos mayores de *P. judaica* con elevada homología e idéntica conformación tridimensional, dos epítipos en regiones bucle (entre las hélices alfa 1 y 2 y entre la hélice alfa 4 y la hoja beta plegada) y una en la hélice alfa2. No se ha encontrado homología significativa entre estos epítipos comunes y otras nsLTPs alérgicas.

Par j 3. En 1997, Asturias y cols¹²⁷ aislaron y secuenciaron los clones de ADNc que codifican para las profilinas de *Parietaria judaica*, *Phleum pratense*, *Olea europea* y *Helianthus annuus*. La secuencia de aminoácidos mostraba una identidad superior al 60% con otras profilinas vegetales. Las profilinas recombinantes fueron expresadas en *E. coli* con buen rendimiento y demostraron tener una actividad inmunológica similar a la de sus homólogos naturales. Pese a la elevada identidad de secuencia de la profilina de *P. judaica* con otras profilinas vegetales, diversos estudios coinciden en demostrar una débil reactividad cruzada con polen de *Helianthus*¹²⁸, *Phleum*¹²⁹ y abedul¹³⁰.

Uso diagnóstico de alergen recombinantes de *parietaria*

En un estudio reciente¹³¹ se demostró que la mayoría (83%) de los pacientes del área mediterránea alérgicos al polen de malezas tenían niveles elevados de IgE específica frente a rPar j 2, frente a sólo el 7% de los pacientes fuera del área mediterránea. La proteína fijadora de calcio rPhl p7 y la profilina Bet v2 fueron identificadas como alergen de reactividad cruzada con *parietaria* y eran reconocidos principalmente por los alérgicos a malezas fuera del área mediterránea.

Concluyen que rPar j 2 podría utilizarse como marcador diagnóstico para identificar a los pacientes alérgicos a malezas que están sensibilizados genuinamente a polen de *parietaria* y que por tanto serían los candidatos ideales para un tratamiento hiposensibilizante.

Variantes hipoalérgicas de alergen recombinantes de *parietaria*

La disponibilidad de modelos tridimensionales en combinación con el conocimiento de las secuencias de los sitios de unión IgE permite el diseño de variantes con una actividad alérgica disminuida por medio de la generación de mutaciones puntuales.

Bonura y cols¹³² publicaron la caracterización inmunológica de una familia de derivados hipoalérgicos de Par j 1 con alergenidad reducida pero que conservan el reconocimiento por células T. Por medio de mutagénesis directa sobre los residuos de cisteína, diseñaron 4 variantes que carecían de puentes disulfuro.

Las variantes hipoalérgicas se expresaron como proteínas recombinantes en *E. coli* y su actividad alérgica fue medida *in vitro* e *in vivo*. Este análisis demostró una intensa correlación entre la actividad fijadora de IgE y el plegamiento de la proteína y, en particular, de la importancia de los puentes Cys14-Cys29 y Cys30-Cys75 en la alergenidad global. Todas las variantes mantuvieron la reactividad celular T cuando se analizaron en un ensayo de proliferación de células mononucleares en sangre periférica.

Inmunoterapia con alergen recombinantes de *parietaria*

Posteriormente al desarrollo de variantes hipoalérgicas de rPar j 1, se llevó a cabo un estudio para la evaluación de sus propiedades inmunológicas *in vivo* en un modelo murino. Ratones BALB/c fueron sensibilizados con dos inmunizaciones intraperitoneales con rPar j 1¹³³, induciendo niveles elevados de IgE e IgG1 y bajos de IgG2a. Los Ac específicos de ratón contra rPar j 1 fueron capaces de inhibir la unión de IgE específica humana para el mismo alergen. La inmunización con la variante hipoalérgica rPjC, que carece de tres puentes disulfuro, indujo niveles muy bajos de IgE, mientras que la respuesta linfoproliferativa y de anticuerpos IgG fue similar a la inducida por la forma recombinante completa.

Artemisia: antígenos caracterizados

Actualmente se han caracterizado cuatro alergen de artemisia a diferentes niveles.

Art v 1. Alergeno mayor del polen de artemisia, reconocido por el 95% de los pacientes sensibilizados. Es una glicoproteína rica en residuos de hidroxiprolina y altamente heterogénea en su tamaño, con dos variantes mayores con un rango de PM de 12.9 a 13.5 kDa y 14.0 a 16.3 kDa. El 30-40% de su peso molecular está glicosilado. Art v 1 ha sido clonado recientemente por Himly y cols¹³⁴ y expresado como proteína recombinante en *E. coli*, obteniéndose una proteína de 10.8 kDa. Comprende dos dominios, el N-terminal, rico en cisteína con alta homología de secuencia con proteínas de la familia de las defensinas, y el dominio C-termi-

nal, rico en residuos de prolina. Estudios de ELISA-inhibición muestran que rArt v1 inhibe sólo el 30% de la unión de IgE específica a Art v 1, como consecuencia de la ausencia de modificaciones post-transduccionales en *E.coli*. rArt v 1 induce respuestas humorales y celulares *in vitro* comparables a las de su homólogo natural pero muestra una alergenicidad *in vivo* reducida (medida por pruebas cutáneas y de provocación nasal)¹³⁵. Se ha descrito un epítipo T inmunodominante en el dominio defensina-like reconocido por el 81% de los pacientes sensibilizados¹³⁶.

Art v 2. Glicoproteína de 35 kDa que contiene dos subunidades idénticas de 17,5 kDa unidas por puentes disulfuro. El análisis de la secuencia N-terminal no ha mostrado similitud con otras proteínas¹³⁷.

Art v 3. Aislada y caracterizada como una proteína de 9,7 kDa con una región N-terminal de 37 aminoácidos que muestra una identidad del 50% con las LTPns de manzana, melocotón, castaña y abedul¹³⁸.

Hasta la fecha, los alérgenos Art v 2 y Art v 3 no han sido clonados.

Art v 4. Profilina del polen de artemisia, reconocida por el 36% de los pacientes sensibilizados. Se han clonado y secuenciado dos isoformas de Art v 4 y las proteínas recombinantes han sido expresadas en *E. coli*¹³⁹. Ensayos de inhibición muestran una extensa reactividad cruzada entre la profilina recombinante de artemisia y profilinas de otras especies vegetales.

Pocalcina de Art v 1. El grupo de Ferreira y cols¹⁴⁰ describen en un reciente artículo de revisión que han aislado clones de ADNc que codifican para alérgenos 2-EF y 3-EF por “screening” de una librería de expresión de ADNc con un pool de sueros de pacientes alérgicos a la artemisia.

Alergenos de polen de ambrosía

Hasta la fecha se han caracterizado seis grupos de alérgenos de ambrosía.

Grupo Amb a 1/Amb a 2. Alergenos mayores del polen de *Ambrosia artemisiifolia*, con un porcentaje de reconocimiento del 95% y 50-90% respectivamente en sujetos sensibilizados. Amb a 1 es una proteína no glicosilada de PM 38 kDa. Se han obtenido 4 clones de ADNc de Amb a 1 (Amb a 1.1, Amb a 1.2, Amb a 1.3 y Amb a 4)¹⁴¹ que muestran una homología del 80% entre sí, lo que sugiere que Amb a 1 es en realidad una familia de proteínas. Las proteínas recombinantes han sido expresadas en *E. coli*¹⁴² y se ha demostrado su capacidad de estimulación de proliferación de células T en ensayos *in vitro*. La secuencia de ADNc de Amb a 2 codifica para una proteína de 398 aa con una elevada identidad de secuencia con Amb a 1 (70-80%) y se ha expresado como proteína de fusión en *E.coli*¹⁴³. Ambos alérgenos pertenecen a la familia de las pectato-liasas, enzimas degradativas de la pared celular.

Grupo Amb a 3/ Amb a 7. Alergenos menores del polen de Artemisia, reconocidos respectivamente por el 30% y el 15-20% de los pacientes sensibilizados. Amb a 3 es una glicoproteína básica, de 11 kDa, con un 8% de su PM constituido por carbohidratos¹⁴⁴, de la que se han identificado dos isoformas¹⁴⁵. Amb a 7¹⁴⁶ se ha identificado como una proteína básica de 12 kDa. Ambas pertenecen a la familia de las plastocianinas, proteínas vegetales involucradas en el transporte de electrones, que también contiene un dominio plastocianina.

Homólogos de Amb a 5. Los alérgenos del grupo 5 han sido clonados en *A. artemisiifolia* (Amb a 5), *A. trifida* (Amb t 5) y *A. psilostachya*. (Amb p 5).

Amb a 5 es una proteína básica de 5 kDa, con una secuencia de 45 aa que contiene 4 puentes disulfuro. Se han purificado y caracterizado dos isoformas (a y b)¹⁴⁷. La proteína recombinante ha sido expresada en

E. coli y muestra una reactividad celular T similar a la forma natural, pero sólo posee el 50-80% de actividad fijadora de IgE respecto a nArt v 5¹⁴⁸. Estudios con RMN han revelado que la proteína está compuesta por una hélice alfa C-terminal, un pequeño segmento de lámina beta antiparalelo, entre los que se encuentra un núcleo hidrofóbico, y diversos bucles. Amb t 5 posee una homología de secuencia del 45% con Amb a 5; la proteína recombinante se ha expresado en *E.coli*¹⁴⁹, siendo indistinguible de la proteína nativa respecto a la fijación de IgE y por RMN. La isoforma Amb p 5 a tiene un 90% de identidad con Amb a 5a, que sólo es del 65% entre las isoformas b de ambas especies. Utilizando modelos de homología, se ha observado que tres epítomos antigénicos se conservan en la Amb p 5 y no en Amb t 5, lo que explicaría la elevada reactividad cruzada entre Amb a 5 y Amb p 5 y la falta de reactividad cruzada con Amb t 5.

Amb a 6. Alergeno menor reconocido por el 21% de los pacientes sensibilizados a Artemisia. Es una proteína básica de 9,9 kDa, perteneciente a la familia de las LTPns, de la que se han descrito 4 isoformas indistinguibles desde el punto de vista antigénico y alergénico. Una isoforma ha sido clonada y expresada en *Pichia pastoris*¹⁵⁰.

GRAMÍNEAS

Antígenos caracterizados

Hasta la fecha se han identificado y caracterizado once grupos de alergenitos de polen de gramíneas en una o más especies. La mayoría de los grupos de alergenitos representativos han sido clonados y producidos como proteínas recombinantes (tabla 4).

Grupo 1. Son los determinantes alergénicos predominantes en los extractos de gramíneas, con un porcentaje de reconocimiento de alrededor del 90%.

Son glicoproteínas de un PM entre 31 y 35 kDa, con un 4-5% constituido por glicanos. Se ha demostrado la existencia de distintas isoformas, hasta 11 en el caso de *C. Dactylon*¹⁵¹. Los alergenitos del grupo 1 muestran una identidad del 60-70% con las expansinas, una familia de proteínas cuya función es provocar la liberación de las fibras de celulosa para permitir la expansión y el crecimiento celular. Un análisis funcional con rPhl p 1 ha demostrado que además poseen motivos tipo papínas¹⁵².

Se han caracterizado y clonado alergenitos del grupo 1 de al menos 7 especies de gramíneas y se han producido como proteínas recombinantes tanto en *E. coli* como en *P. pastoris*¹⁵³.

Grupos 2 y 3. Alergenitos menores reconocidos por el 40-60% de los pacientes sensibilizados. Comprenden proteínas no glicosiladas de 10 a 12 kDa, que exhiben un 85-90% de identidad de secuencia entre especies.

Los alergenitos de los grupos 2 y 3 comparten un alto grado de homología de secuencia (43% identidad) con la parte C-terminal de los alergenitos del grupo 1¹⁵⁶, lo que sugiere un origen común por duplicación génica.

Los alergenitos del grupo 2 han sido clonados en *L. perenne*¹⁵⁴, *Dactylis glomerata*¹⁵⁵, *P. pratense*¹⁵⁶ y otras especies, mientras que hasta la fecha sólo se han podido clonar los alergenitos del grupo 3 en *D. glomerata*¹⁵⁷. La estructura tridimensional de rPhl p 2, obtenida por técnicas de RMN¹⁵⁸, consiste en nueve hebras antiparalelas que forman un sandwich beta. La topología es la de un plegamiento del tipo de las inmunoglobulinas con la adición de una cadena C-terminal (como la encontrada en la superfamilia de proteínas con dominio C2), pero la ausencia de similitud funcional y de secuencia con estas dos familias sugiere una evolución independiente.

TABLA 4.

ANTÍGENOS CARACTERIZADOS EN EL POLEN DEL OLIVO

Especie	Nombre Común	Sub-familia	Alergeno	PM,kD (exp)	PM, kD (calc)	pI (esp)	pI (calc)	CH	Función	Clonaje
<i>Oryza Sativa</i>	Arroz	Bam	Ory s 1 Ory s 12	35 n.d	26.3 14.2	n.d n.d	8.58 4.91	Sí no	βexpansina profilina	Sí sí
<i>Cynodon dactylon</i>	Gramma común	Chl	Cyn d 1 Cyn d 2 BG-60 Cyn d 7 Cyn d 12							
<i>Sorghum halepense</i>	Sorgo de halepo	Pan	Sor h 1	35	28.1	n.d	7.5	si	βexpansina	sí
<i>Zea mays</i>	Maíz	Pan	Zea m 1 Zmc 13 Zea m12	28-31 n.d 14.2	26.9 15.7 14.1	n.d n.d n.d	9.04 4.52 4.97-4.94	Si Si no	βexpansina inh tripsina soja-like profilina	
<i>Dactylis glomerata</i>	Dactilo	Poo	Dac g 1 Dac g 2 Dac g 3 Dac g 4 Dac g 5	31-33 10-15 14-15 59-67 26-29	26.1 11.0,10.8 10.9 - 26.3	5.5-6.4 5.1-5.5 9 9-10.4 6.1	5.91 5.3,4.6 8.90 - 5.61	Si No No n.d no	βexpansina	Sí Sí Sí No no
<i>Festuca pratensis</i>	Cañuela	Poo	Fes p 4	60	-	8.7-9.1	-	sí		no
<i>Holcus lanatus</i>	Pasto dulce	Poo	Ho l 1 Hol l 2 Hol l 5	34 n.d 30	26.1 11.2 26.2	4.6-5.2 n.d 4.7-6.2	5.53 4.64 6.01	Sí No no	βexpansina	Sí Sí sí
<i>Hordeum vulgare</i>	Cebada	Poo	Hor v 9 (grupo 5)	30	30.1	n.d	9.11	n.d		sí
<i>Lolium perenne</i>	Ballico	Poo	Lol p 1 Lol p 2 Lol p 3 Lol p 4 Lol p 5 Lol p 5a Lol p 5b Lol p 5c Lol p 10 Lol p 11	31-34 10-11 10-11 60-67 25-34 - - - - 12 18	26.1,26.2 10.8 10.9 - - 29.1 31.2 27.5 - 14.9	5.1-6.0 4.6-5.2 9.0-9.4 9.9 5-8.3 - - - n.d 5-6	5% no no 12- 17% no no no n.d 8%	βexpansina Citocromo-c Inh tripsina soja-like	Sí Sí No No - sí sí sí no sí	
<i>Phalaris aquatica</i>	Alpiste	Poo	Pha a 1 Pha a 5	34 n.d	25.9 31.2	n.d n.d	5.27 9.7	Sí no	βexpansina	Si si
<i>Phleum pratense</i>	Cola de topo	Poo	Phl p 1 Phl p 2 Phl p 3 Phl p 4 Phl p 5 Phl p 5a Phl p 5b Phl p 6 Phl p 7 Phl p 11 Phl p 12 Phl p 13	33-37 11-12 12 55-60 29-38 - - 13 6 20 14 55-60	26.2 10.8 - - - 28.7 26.1 11.8 8.6 15.8 14.2 41.7	6.2-8.5 4.7 9 9.0-9.5 4.2-7.5 - - 4.3-5.5 n.d n.d 4.4-4.9 6.5-7.4	6.16 4.64 - - - 6.89 5.99 5.56 4.19 4.96 5.07 7.83	5% no no 10% no no no no no si no n.d	βexpansina Fijadora Ca ²⁺ Inh tripsina soja-like Profilina Poligalacturo nidasa-like	Si Si No No - si si si si si si si
<i>Poa pratensis</i>	Cañuela	Poo	Poa p 1 Poa p 2 Poa p 5 Poa p 5a Poa p 5b Poa p 10	33-36 n.d 28-34 - - 12	26.0 10.8 - 28.3-35 27.2 -	6.4,9.1 n.d 5.2-5.7 - - 9.9	6.40 4.64 - 8.91,9.4 8.59 -	Sí No n.d no no no	βexpansina	Si Si - si si no
<i>Triticum aestivum</i>	Trigo	Poo	Tri a 2	n.d	11.2	n.d	4.64	no		si

Grupo 4. Glicoproteínas básicas de 50-67 kDa identificadas en *P. pratense*, *L. perenne* y *D. glomerata*, reconocidas por el 80% de los pacientes alérgicos al polen de gramíneas. El 10-15% de su PM está compuesto por carbohidratos, y es probable que parte de la respuesta IgE esté dirigida contra éstos. Los intentos para clonar la secuencia han mostrado que están bloqueados en el extremo N-terminal, son resistentes a la digestión con tripsina y presenta similitud con la secuencia y actividad inmunológica *in vitro* de Amb a 1¹⁵⁹.

Grupo 5. Los alérgenos del grupo 5 son similares en tamaño a los del grupo 1, con un PM de 27-33 kDa, y junto con éstos dominan la alergenidad del polen de gramíneas, con una prevalencia de sensibilización del 60-85%.

Hasta la fecha se han caracterizado y clonado alérgenos del grupo 5 de al menos 7 especies de gramíneas, con una identidad global en la secuencia de aminoácidos entre especies del 55-85%. Los alérgenos del grupo 5 se han producido como proteínas recombinantes tanto en *E. coli* como en *P. pastoris*.

Se han diferenciado dos isoformas principales en *P. pratense* y *L. perenne*, denominadas “a” y “b”, que muestran una divergencia del 25-30% en su secuencia de aminoácidos y tienen un patrón de reconocimiento marcadamente distinto; el 100% de los pacientes con IgE específica frente a la isoforma a también presentan IgE específica frente a la b mientras que un 13% sólo reconocían el Phl p 5b y no la isoforma “a”. La observación sugiere que Phl p 5b contiene al menos un importante epítipo IgE que falta en la isoforma “a”, lo que implica que una cuidadosa selección de las isoformas del alérgeno podría ser importante para el diagnóstico.

La secuencia C-terminal de Phl p 5b y la N-terminal de Phl p 5a se han resuelto por cristalografía de rayos-X. Cada fragmento de proteína forma un dominio globular plegado consistente en 4 hélices en una topología similar a la del citocromo c. La estructura cristalizada del fragmento de Phl p 5b aparece como un dímero, unido covalentemente por un puente disulfuro establecido entre dos residuos de cisteína¹⁶⁰.

El papel biológico y funcional de los alérgenos del grupo 5 todavía se desconoce.

Grupo 6. Alérgeno mayor, reconocido por el 60-70% de los pacientes sensibilizados, que se ha identificado únicamente en *P. pratense* y *Poa pratensis*, y aparentemente está restringido a estos géneros.

Es una proteína ácida no glicosilada de 13 kDa, con una identidad en su secuencia de aa del 60% con el extremo C-terminal de Phl p 5, lo que sugiere un origen genético común¹⁶¹. La secuencia de ADNc de Phl p 6 predice una proteína de 110 residuos de aminoácidos, con un PM de 11.8 kDa y un p.I de 5.6.

Phl p 6 ha sido producido con éxito como proteína recombinante en *E. coli* y caracterizada inmunológicamente. El análisis espectroscópico revela una estructura secundaria alfa-helicoidal, en concordancia con la estructura cristalizada de la secuencia C-terminal homóloga de Phl p 5b¹⁶².

Debido a la similitud de su estructura, es posible que Phl p 5 y Phl p 6 potencien la respuesta inmune entre sí, y por lo tanto el reconocimiento de Phl p 6 podría representar en parte reactividad cruzada a Phl p 5. Se ha sugerido que Phl p 6 es menos inmunogénico que Phl p 5 a partir de la observación en un estudio de que el 50% de los anticuerpos monoclonales obtenidos tras la inmunización de ratones con extracto crudo de *Phleum* estaban dirigidos contra Phl p 5 y ninguno contra Phl p 6¹⁶¹.

Grupo 7. Alérgeno menor reconocido por aproximadamente un 10% de los pacientes sensibilizados. Proteína ácida de 8.6 kDa, cuya secuencia comprende dos dominios fijadores de calcio (2-EF-hand), por lo que se han definido como una nueva clase de proteínas 2-EF-hand denominadas polcalcinas.

Cyn d 7 y Phl p 7 han sido producidos como alérgenos recombinantes utilizando la expresión en *E. coli*, y han demostrado tener una capacidad de fijación de IgE calcio-dependiente y una potente actividad alérgénica tanto *in vivo* como *in vitro*¹⁶³.

Su estructura tridimensional ha sido resuelta por cristalografía de rayos-X, y revela un dímero en el que cada monómero contiene dos dominios, hélice-bucle-hélice, fijadores de calcio, conectados por una región bisagra de tres residuos¹⁶⁴.

Ensayos de “blot-inhibición” han mostrado que los alergenicos con dos dominios fijadores de Ca^{2+} (2-EF-hand) muestran una intensa reactividad cruzada y que comparten epítomos con otras proteínas fijadoras de calcio como Bet v 3 (proteína con 3 dominios fijadores de Ca^{2+}) de abedul y Jun o 4 (proteína 4 dominios fijadores de calcio) de *Juniperus oxicedrus*¹⁶⁵.

Grupo 10. Ekramoddoullah y cols¹⁶⁶ publicaron que la proteína citocromo-c era capaz de fijar IgE y de desencadenar reacción cutánea en pacientes alérgicos a polen de gramíneas. Esta proteína ha sido purificada en *L. perenne*, *P. pratensis* y *C. dactylon*¹⁶⁷. La evidencia actual indica que no es un alergenico relevante y hasta la fecha no se ha clonado.

Grupo 11. Descrito por Van Ree¹⁶⁸, en 1995, quien aisló una glicoproteína de 18 kDa con un contenido en carbohidratos que constituye el 8% de su peso molecular. Por isoelectroenfoque Lol p 11 aparece como diversas isoformas con p.I entre 5.0 y 6.0.

Presenta similitud estructural con el inhibidor de tripsina de la soja, además, muestra una identidad de secuencia del 34-51% con Ole e 1, Zm 13 y LAT52. La prevalencia de sensibilización a Lol p 11 es del orden del 66% en pacientes alérgicos al polen de gramíneas, de los que aproximadamente un tercio también muestra unión de IgE contra carbohidratos, lo que sugiere que una porción de la respuesta IgE a Lol p 11 está dirigida contra la porción glucídica del alergenico.

Phl p 11 ha sido clonado y producido como proteína recombinantes en *E. coli*¹⁶⁹, demostrando actividad alérgica. Un tercio de los pacientes sensibilizados a gramíneas mostraron IgE específica a la proteína recombinante.

Grupo 12. Los alergenicos del grupo 12 son miembros de la familia de las profilinas. Han sido clonados en cuatro especies: *Z. mays*, *P. pratense*, *C. dactylon* y *Oryza sativa*. La secuencia de ADNc de Phl p 12 predice una proteína de 131 aminoácidos con un PM de 14.2 kDa y un p.I de 5.0.

Los alergenicos del grupo 12 de *P. pratense* y *C. dactylon* han sido expresados en *E. coli* y las proteínas recombinantes han demostrado ser comparables a sus homólogas naturales con respecto a su capacidad de fijación de anticuerpos IgE¹⁷⁰.

La estructura tridimensional de las profilinas se ha resuelto en una amplia variedad de organismos. Dada su elevada homología, la estructura de Bet v 2 se puede considerar como representativa de este grupo de alergenicos. Se trata de una estructura α/β que comprende una lámina beta antiparalela central con 6 hebras y tres hélices α localizadas en la superficie. Los epítomos están localizados principalmente en el extremo N-terminal y C-terminal de las hélices α y en un fragmento central expuesto con dos hebras.

Grupo 13. Proteína de 55 kDa, capaz de fijar IgE en el 50% de los pacientes sensibilizados a polen de gramíneas. Phl p13 ha sido expresado en *E.coli*, obteniéndose una proteína de 58 kDa, con una capacidad de fijación de anticuerpos similar a la de su homóloga natural¹⁷¹.

La secuencia de aminoácidos de Phl p13 revela una identidad de alrededor del 70% con la poligalacturonasa del polen de *Z. mays*. Las poligalacturonasas son enzimas degradadoras de pectinas involucradas en el recambio y remodelado de la pared celular.

Uso diagnóstico de alergenicos recombinantes de gramíneas

La utilización de alergenicos recombinantes en el diagnóstico de la alergia al pólen de gramíneas podría permitir distinguir entre pacientes con una sensibilización primaria o genuina de aquéllos con positividad debida a reactividad cruzada a otros alergenicos. Los alergenicos mayores de los grupos 1 y 5 del polen de gramíneas no comparten ninguna similitud de epítomo importante con proteínas de origen distinto de las

gramíneas y, por lo tanto, pueden considerarse marcadores de sensibilización genuina a gramíneas. Así, los primeros se caracterizarían por una respuesta IgE predominante contra Phl p 1 y/o rPhl p 5b, mientras que los últimos mostrarían una sensibilización a los componentes alérgicos menores. Dicha discriminación serviría para optimizar la selección de pacientes adecuados para recibir inmunoterapia específica a polen de gramíneas, que utiliza extractos estandarizados con respecto a los grupos de alérgenos 1 y 5¹⁷².

Variantes hipoalérgicas de alérgenos recombinantes de gramíneas

Variantes hipoalérgicas de alérgenos del grupo 1

Han sido varios los intentos de generar variantes hipoalérgicas de los alérgenos del grupo 1, a través de distintas estrategias a partir del conocimiento de los epítomos IgE. Weerd y cols¹⁷³ crearon 7 mutaciones en los residuos de cisteína de rLolp 1 y observaron que el rLolp 1 modificado retenía una reactividad IgE de alrededor del 40-60%. De estos datos se extrae que otros factores, quizás la presencia de epítomos lineales IgE, podrían jugar algún papel en el reconocimiento IgE del rLol p 1.

En otro estudio se generaron 2 fragmentos de Lol p 1, correspondientes a los aminoácidos 1-168 y 169-240, que inhibieron la fijación de IgE específica a rLol p 1 un 17 y 51% respectivamente¹⁷⁴. El 32% de capacidad de fijación de IgE restante no inhibida sugiere la presencia de al menos un epítomo conformacional.

Tamborini y cols¹⁷⁵ produjeron tres mutantes con supresión de amplias porciones de proteína en las regiones terminales o internas. El mutante 1, que contiene los aminoácidos 1-115, y el mutante 3, con una supresión interna de 58 aminoácidos, mostraron una reducción significativa de la reactividad IgE medida por ensayo de liberación de histamina. Recientemente, Singh y cols¹⁷⁶ han producido un mutante por delección con una capacidad de reactividad IgE de sólo el 3% respecto a la forma no mutada.

Variantes hipoalérgicas de alérgenos del grupo 5

En 1999, Schramm y cols¹⁷⁷ desarrollaron variantes hipoalérgicas de Phl p 5b por la introducción de mutaciones puntuales y delecciones en los epítomos putativos IgE. Los mutantes con delecciones mostraron una reducción de la reactividad IgE en ensayos *in vitro* (inmunotransferencia, ELISA-inhibición, liberación de histamina) e *in vivo* (pruebas cutáneas), mientras que los clones de células T mostraron una proliferación después de la estimulación con las variantes hipoalérgicas comparable a la inducida con el Phl p 5b natural.

Recientemente, Swoboda y cols¹⁷⁸ han desarrollado variantes hipoalérgicas de Lol p 5a realizando mutaciones puntuales en los sitios de unión de IgE de la secuencia del alérgeno sin afectar a los epítomos T dominantes.

Variantes hipoalérgicas de alérgenos del grupo 7

Westritschnig y cols¹⁷⁹ han publicado recientemente la generación de variantes hipoalérgicas de Phl p 7 a partir de dos estrategias. Una de ellas, la interrupción de la estructura tridimensional del alérgeno generando dos péptidos con las mitades N-terminal y C-terminal de la proteína. La segunda estrategia fue la de introducir mutaciones puntuales en los dominios fijadores de calcio de la molécula de Phl p 7. Los ensayos de liberación de histamina en basófilos así como las pruebas cutáneas identificaron a los dos péptidos sintéticos como los candidatos para vacuna con la menor actividad alérgica. La inmunización de conejos con los péptidos indujo anticuerpos IgG que bloqueaban la IgE específica a Phl p7 e inhibían la degranulación de basófilos inducida por el alérgeno.

Inmunoterapia con alergen recombinantes

La inmunización subcutánea de ratones con alergen recombinantes de gramíneas (rPhl p1, rPhl p 2 y rPhl p 5) es capaz de inducir la producción de anticuerpos IgG₁ específicos, que inhiben la unión de IgE específica a esos alergen y previenen la liberación de histamina de basófilos inducida por alergen¹⁸⁰.

Otro estudio demuestra que la administración oral de rLol p 5 a ratones C75BL/10 induce la producción de anticuerpos IgG específicos bloqueantes, que también son capaces de reconocer proteínas homólogo del grupo 5 de otras 6 especies de gramíneas¹⁸¹.

En 2002, el grupo de Valenta y cols¹⁸² crearon tres moléculas híbridas recombinantes a partir de las secuencias de ADN de los alergen mayores de gramíneas (Phl p1, Phl p2, Phl p5 y Phl p 6) para la inmunización de ratones. Los híbridos rP2-P6, rP6-P2 y rP5-P1 contenían la mayoría de los epítomos del extracto natural de polen e indujeron una mayor respuesta linfoproliferativa en cultivos de células mononucleares que las mezclas equimolares de los alergen individuales. La inmunización de ratones con los híbridos produjo mayores títulos de anticuerpos que la inmunización con cada alergen individual o con el extracto completo natural, además estos anticuerpos mostraron la capacidad de inhibir la fijación de IgE específica a cada uno de los alergen individuales y al extracto completo de polen.

BIBLIOGRAFÍA

1. KRAFT D, FERREIRA F, EBNER C, VALENTA R, BREITENEDER H, SUSANI M, BREITENBACH M, SCHEINER O. *Recombinant allergens: the future of the diagnosis and treatment of atopic allergy*. Allergy. 1998; 53 (45 Suppl): 62-6
2. CRESPO J.F., PASCUAL C. *El impacto de la biología molecular en alergología e inmunología clínica. I Aplicación al estudio de los alergen*. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1993. 8: 181-197.
3. KRAFT D, FERREIRA F, VRTALA S, BREITENEDER H, EBNER C, VALENTA R, SUSANI M, BREITENBACH M, SCHEINER O. *The importance of recombinant allergens for diagnosis and therapy of IgE-mediated allergies*. Int Arch Allergy Immunol. 1999; 118: 171-6
4. MONIKA KREBITZ, URSULA WIEDERMANN, DAGMAR ESSL, HERTA STEINKELLNER, BIRGIT WAGNER, THOMAS TURPEN, CHRISTOF EBNER, HEIMO BREITENEDER AND OTTO SCHEINER. *Rapid production of Bet v 1 in Nicotiana benthamiana transfected by a plant viral-based vector and its immunological characterization in a murine model*. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2000. 105: S291.
5. VALENTA R, KRAFT D. *Recombinant allergens molecules: tools to study effector cell activation*. Immunol Reviews. 2001.179: 119-127
6. AKDIS CA, BLASER K. *Bypassing IgE and targeting T cells for specific immunotherapy of allergy*. Trends Immunol. 2001 22(4): 175-8.
7. CHAPMAN MD, SMITH AM, VAILES LD, ARRUDA LK, DHANARAJ V, POMES A. *Recombinant allergens for diagnosis and therapy of allergic disease*. J Allergy Clin Immunol. 2000; 106: 409-18.
8. VALENTA R, LIDHOLM J, NIEDERBERGER V, HAYEK B, KRAFT D, GRONLUND H. *The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CRD and CRIT)*. Clin Exp Allergy. 1999; 29: 896-904.
9. DEINHOFER K, SEVCIK H, BALIC N, HARWANEGG C, HILLER R, RUMPOLD H, MUELLER MW, SPITZAUER S. *Microarrayed allergens for IgE profiling Methods*. 2004 Mar; 32(3): 249-54
10. CHAPMAN MD, VAILES LD, ICHIKAWA K. *Immunoassays for indoor allergens*. Clin Rev Allergy Immunol. 2000; 18: 285-300.
11. VALENTA R, DUCHENE M, VRTALA S, BIRKNER T, EBNER C, HIRSCHWEHR R, BREITENBACH M, RUMPOLD H, SCHEINER O, KRAFT D. *Recombinant allergens for immunoblot diagnosis of tree-pollen allergy*. J Allergy Clin Immunol. 1991; 88: 889-94.
12. VALENTA R, KRAFT D. *From allergen structure to new forms of allergen-specific immunotherapy*. Current opinion in Immunology 2002.14: 718-727.
13. ACETUNO E, DEL POZO V, MINGUEZ A, ARRIETA I, CORTEGANO I, CARDABA B, GALLARDO S, ROJO M, PALOMINO P, LAHOZ C. *Molecular cloning of major allergen from Cupressus arizonica pollen: Cup a 1*. Clin Exp Allergy. 2000; 30: 1750-1758
14. JENKINS N, CURLING E. M. A. *Glycosilation of recombinant proteins: Problems and prospects*. Enzyme Microb Technol. 1994; 16: 354-363
15. ALISI C, AFFERNI C, IACOVACCI P, BARLETTA B, TINGHINO R, BUTTERONI C, PUGGIONI EM, WILSON IB, FEDERICO R, SCHININA ME, ARIANO R, DI FELICE G, PINI C. *Rapid isolation, characterization, and glycan analysis of Cup a 1, the major allergen of Arizona cypress (Cupressus arizonica) pollen*. Allergy. 2001; 56: 978-84.
16. BARLETTA B, TINGHINO R, CORINTI S, AFFERNI C, IACOVACCI P, MARI A, PINI C, DI FELICE G. *Arizona cypress (Cupressus arizonica) pollen allergens. Identification of cross-reactive periodate-resistant and -sensitive epitopes with monoclonal antibodies*. Allergy. 1998; 53: 586-93.
17. CANINI A, GIOVINAZZI J, IACOVACCI P, PINI C, GRILLI CAIOLA M. *Localisation of a carbohydrate epitope recognised by human IgE in pollen of Cupressaceae*. J Plant Res. 2004; 117: 147-53.
18. OKANO M, KIMURA Y, KINO K, MICHIGAMI Y, SAKAMOTO S, SUGATA Y, MAEDA M, MATSUDA F, KIMURA M, OGAWA T, NISHIZAKI K. *Roles of major oligosaccharides on Cry j 1 in human immunoglobulin E and T cell responses*. Clin Exp Allergy. 2004; 4: 770-8.

19. OKANO M, KINO K, TAKISHITA T, HATTORI H, OGAWA T, YOSHINO T, YOKOYAMA M, NISHIZAKI K. Roles of carbohydrates on Cry j 1, the major allergen of Japanese cedar pollen, in specific T-cell responses. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 108: 101-8.
20. SPANGFORT MD, IPSEN H, SPARHOLT SH, AASMUL-OLSEN S, OSMARK P, POULSEN FM, LARSEN M, MORTZ E, ROEPSTORFF P, LARSEN JN. Characterisation of recombinant isoforms of birch pollen allergen Bet v 1. *Adv Exp Med Biol.* 1996; 409: 251-4.
21. BREITENEDER H, HASSFELD W, PETTENBURGER K, JAROLIM E, BREITENBACH M, RUMPOLD H, KRAFT D, SCHEINER O. Isolation and characterization of messenger RNA from male inflorescences and pollen of the white birch (*Betula verrucosa*). *Int Arch Allergy Appl Immunol.* 1988; 87: 19-24.
22. SWOBODA I, JILEK A, FERREIRA F, ENGEL E, HOFFMANN-SOMMERGRUBER K, SCHEINER O, KRAFT D, BREITENEDER H, PITTENAUER E, SCHMID E, ET AL. Isoforms of Bet v 1, the major birch pollen allergen, analyzed by liquid chromatography, mass spectrometry, and cDNA cloning. *J Biol Chem.* 1995; 270: 2607-13.
23. LARSEN JN, SPARHOLT SH, IPSEN H. Epitope structure of recombinant isoallergens of Bet v 1. *Adv Exp Med Biol.* 1996; 409: 243-9.
24. SUSANI M, JERTSCHIN P, DOLECEK C, SPERR WR, VALENT P, EBNER C, KRAFT D, VALENTA R, SCHEINER O. High level expression of birch pollen profilin (Bet v 2) in *Escherichia coli*: purification and characterization of the recombinant allergen. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995; 215: 250-63.
25. DE AMICI M, MOSCA M, VIGNINI M, QUAGLINI S, MORATTI R. Recombinant birch allergens (Bet v 1 and Bet v 2) and the oral allergy syndrome in patients allergic to birch pollen. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003; 91: 490-2.
26. NIEDERBERGER V, PAULI G, GRONLUND H, FROSCHL R, RUMPOLD H, KRAFT D, VALENTA R, SPITZAUER S. Recombinant birch pollen allergens (rBet v 1 and rBet v 2) contain most of the IgE epitopes present in birch, alder, hornbeam, hazel, and oak pollen: a quantitative IgE inhibition study with sera from different populations. *J Allergy Clin Immunol.* 1998; 102: 579-91.
27. MARJOLEIN WENSING, JAAP H. AKKERDAAS, W. ASTRID VAN LEEUWEN, STEVEN O. STAPEL, CARLA A. F. M. BRUIJNZEEL-KOOMEN, ROB C. AALBERSE, BERT J. E. G. BAST, ANDRÉ C. Knulst and Ronald van Ree IgE to Bet v 1 and profilin: Cross-reactivity patterns and clinical relevance. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2002; 110: 435-442
28. ROSSI RE, MONASTEROLO G, MONASTEROLO S. Detection of specific IgE antibodies in the sera of patients allergic to birch pollen using recombinant allergens Bet v 1, Bet v 2, Bet v 4: evaluation of different IgE reactivity profiles. *Allergy.* 2003; 8: 929-32
29. ENGEL E, RICHTER K, OBERMEYER G, BRIZA P, KUNGL AJ, SIMON B, AUER M, EBNER C, RHEINBERGER HJ, BREITENBACH M, FERREIRA F. Immunological and biological properties of Bet v 4, a novel birch pollen allergen with two EF-hand calcium-binding domains. *J Biol Chem.* 1997; 272(45): 28630-7
30. KARAMLOO F, SCHMITZ N., SCHEURER S., FOETISCH K., HOFFMANN A., HAUSTEIN D., VIETHS S. Molecular cloning and characterization of a birch pollen minor allergen, Bet v 5, belonging to a family of isoflavone reductase-related proteins. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999. 104: 991-999.
31. MITTAG D, VIETHS S, VOGEL L, BECKER WM, RIHS HP, HELBLING A, WUTHRICH B, BALLMER-WEBER BK. Soybean allergy in patients allergic to birch pollen: clinical investigation and molecular characterization of allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 ; 113: 148-54.
32. P. CADOT , J. F. DIAZ , P. PROOST , J. VAN DAMME , Y. ENGELBORGHES , E. A. M. STEVENS AND J. L. Ceuppens Purification and characterization of an 18-kd allergen of birch (*Betula verrucosa*) pollen: Identification as a cyclophilin. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2000; 105: 286-291.
33. MAHLER V, FISCHER S, HEISS S, DUCHENE M, KRAFT D, VALENTA R. cDNA cloning and characterization of a cross-reactive birch pollen allergen: identification as a pectin esterase. *Int Arch Allergy Immunol.* 2001; 124(1-3): 64-6.
34. MENZ G, DOLECEK C, SCHONHEIT-KENN U, FERREIRA F, MOSER M, SCHNEIDER T, SUTER M, BOLTZ-NITULESCU G, EBNER C, KRAFT D, VALENTA R. Serologic and skin test diagnosis of birch pollen allergy with recombinant Bet v 1, the chief allergen of birch *Pneumologie.* 1996; 50: 632-40.
35. LILI KAZEMI-SHIRAZI, GABRIELLE PAULI, ASHOK PUROHIT, SUSANNE SPITZAUER, RENATE FRÖSCHL, KARIN HOFFMANN-SOMMERGRUBER, HEIMO BREITENEDER, OTTO SCHEINER, DIETRICH KRAFT AND RUDOLF VALENTA. Quantitative IgE inhibition experiments with purified recombinant allergens indicate pollen-derived allergens as the sensitizing agents responsible for many forms of plant food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 105: 116-125.
36. ALEXANDER W. HAUSWIRTH, SUSANNE NATTER, MINOO GHANNADAN, YASAMIN MAJLESI, GERIT-HOLGER SCHERNTHANER, WOLFGANG R. SPERR, HANS-JÖRG BÜHRING, RUDOLF VALENTA AND PETER VALENTA. Recombinant allergens promote expression of CD203c on basophils in sensitized individuals. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 110: 102-109.
37. MENZ G, DOLECEK C, SCHONHEIT-KENN U, FERREIRA F, MOSER M, SCHNEIDER T, SUTER M, BOLTZ-NITULESCU G, EBNER C, KRAFT D, VALENTA R. Serological and skin-test diagnosis of birch pollen allergy with recombinant Bet v 1, the major birch pollen allergen. *Clin Exp Allergy.* 1996; 26: 50-60.
38. D. O. HARDER, D. HOLZMANN, K. BLASER, R. CRAMER AND P. Schmid-Grendelmeier Allergenicity of recombinant Bet v1 and Art v1 evaluated by nasal provocation. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; 113: S286.
39. MOVERÁRE R, ELFMAN L, VESTERINEN E, METSO T, HAAHTELA T. Development of new IgE specificities to allergenic components in birch pollen extract during specific immunotherapy studied with immunoblotting and Pharmacia CAP System. *Allergy* 2002; 57: 423-430.
40. VAN REE R, ANTONICELLI L, AKKERDAS JH, GARRITANI MS, AALBERSE MC, BONIFAZI F. Possible induction of food allergy during mite immunotherapy. *Allergy* 1996; 51: 108-113.
41. FRIEDL-HAJEK R, RADAUER C, O'RIOIRDAIN G, HOFFMANN-SOMMERGRUBER K, LEBERL K, SCHEINER O, BREITENEDER H. New Bet v 1 isoforms including a naturally occurring truncated form of the protein derived from Austrian birch pollen. *Mol Immunol.* 1999; 36: 639-45.
42. PAULI G, PUROHIT A, OSTER JP, DE BLAY F, VRTALA S, NIEDERBERGER V, KRAFT D, VALENTA R. Comparison of genetically engineered hypoallergenic rBet v 1 derivatives with rBet v 1 wild-type by skin prick and intradermal testing: results obtained in a French population. *Clin Exp Allergy.* 2000; 30: 1076-84.
43. VAN HAGE-HAMSTEN M, KRONQVIST M, ZETTERSTROM O, JOHANSSON E, NIEDERBERGER V, VRTALA S, GRONLUND H, GRONNEBERG R, VALENTA R. Skin test evaluation of genetically engineered hypoallergenic derivatives of the major birch pollen allergen, Bet v 1: results obtained with a mix of two recombinant Bet v 1 fragments and recombinant Bet v 1 trimer in a Swedish population before the birch pollen season. *J Allergy Clin Immunol.* 1999; 104: 969-77.
44. PAULI G, PUROHIT A, OSTER JP, DE BLAY F, VRTALA S, NIEDERBERGER V, KRAFT D, VALENTA R. Clinical evaluation of genetically engineered hypoallergenic rBet v 1 derivatives. *Int Arch Allergy Immunol.* 1999; 118: 216-7.

45. NIEDERBERGER V, HORAK F, VRTALA S, SPITZAUER S, KRAUTH MT, VALENT P, REISINGER J, PELZMANN M, HAYEK B, KRONQVIST M, GAFVELIN G, GRONLUND H, PUROHIT A, SUCK R, FIEBIG H, CROMWELL O, PAULI G, VAN HAGE-HAMSTEN M, VALENTA R. Vaccination with genetically engineered allergens prevents progression of allergic disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; Aug 13 2004 Aug 13. PNAS Early Edition On Line.
46. VALENTA R, BALL T, FOCKE M, LINHART B, MOTHES N, NIEDERBERGER V, SPITZAUER S, SWOBODA I, VRTALA S, WESTRITSCHNIG K, KRAFT D. Immunotherapy of allergic disease. *Adv Immunol*. 2004; 82: 105-53.
47. HARTI A, HOCHREITER R, STEPANOSKA T, FERREIRA F, THALHAMER J. Characterization of the protective and therapeutic efficiency of a DNA vaccine encoding the major birch pollen allergen Bet v 1a. *Allergy* 2004; 59: 65-73.
48. BOHLE B, BREITWIESER A, ZWOLFER B, JAHN-SCHMID B, SARA M, SLEYTR UB, EBNER C. A novel approach to specific allergy treatment: the recombinant fusion protein of a bacterial cell surface (S-layer) protein and the major birch pollen allergen Bet v 1 (rSbsC-Bet v 1) combines reduced allergenicity with immunomodulating capacity. *J Immunol*. 2004; 172: 6642-8.
49. *Advances in Olive pollen allergy*. Blackwell Munksgaard. Guess eds: Lahoz C, Florido F and Quirarte J. *Allergy* 2002, 57 (Suppl 71).
50. RODRÍGUEZ R, VILLALBA V, BATANERO E, GONZÁLEZ EM, MONSALVE RI, HUECAS S, TEJERA ML, LEDESMA A. Allergenic diversity of the olive pollen. *Allergy* 2002; 57: Suppl 71: 6-16.
51. VILLALBA M, BATANERO E, LÓPEZ-OTÍN C, SÁNCHEZ LM, MONSALVE RI, GONZÁLEZ DE LA PEÑA MA, LAHOZ C, RODRÍGUEZ R. The aminoacid sequence of Ole e 1, the major allergen from olive tree (*Olea europaea*) pollen. *Eur J Biochem* 1993; 216: 863-9.
52. VILLALBA M, BATANERO E, MONSALVE RI, GONZÁLEZ DE LA PEÑA MA, LAHOZ C, RODRÍGUEZ R. Cloning and expression of Ole e 1, the major allergen from olive tree pollen. *J Biol Chem* 1994; 269: 15217-22.
53. OBISPO TM, MELERO JA, CARPIZO JA, CARREIRA J, LOMBARDO M. The main allergen of *Olea europaea* (Ole e 1) is also present in other species of the Oleaceae family. *Clin Exp Allergy* 1993; 23: 311-316.
54. FERNÁNDEZ MC, OLMEDILLA A, ALCHE JD, PALOMINO P, LAHOZ C, RODRÍGUEZ-GARCÍA MI. Immunogold probes for light and electron microscopic localization of Ole e 1 in several Oleaceae pollens. *J Histochem Cytochem* 1996; 44(2): 151-8.
55. BATANERO E, VILLALBA M, LÓPEZ-OTÍN C, RODRÍGUEZ R. Isolation and characterization of an olive allergen-like protein from lilac pollen. Sequence analysis of three cDNA encoding protein isoforms. *Eur J Biochem* 1994; 221: 187-193.
56. BATANERO E, GONZÁLEZ DE LA PEÑA MA, VILLALBA M, MONSALVE RI, MARTÍN-ESTEBAN M, RODRÍGUEZ R. Isolation, cDNA cloning and expression of Lig v 1, the major allergen from privet pollen. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 1401-1410.
57. MARTÍN-OROZCO E, CÁRDABA B, DEL POZO V, DE ANDRÉS B, VILLALBA M, GALLARDO S, RODRÍGUEZ-GARCÍA MI, FERNÁNDEZ MC, ALCHE JD, RODRÍGUEZ R, PALOMINO P, LAHOZ C. Epitope mapping, cross-reactivity with other Oleaceae pollens and ultrastructural localization. *Int Arch Allergy Appl* 1994; 104: 160-170.
58. CÁRDABA B, DEL POZO V, JURADO A, GALLARDO S, CORTEGANO I, ARRIETA I, DEL AMO A, TRAMÓN P, FLORIDO F, SASTRE J, PALOMINO P, LAHOZ C. Olive pollen allergy: searching for immunodominant T-cell epitopes on the Ole e 1 molecule. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 413-22.
59. CÁRDABA B, VILCHES C, MARTÍN E, DE ANDRÉS B, DEL POZO V, HERNÁNDEZ D, GALLARDO S, FERNÁNDEZ JC, VILLALBA M, RODRÍGUEZ R, PALOMINO P, KREISLER M, LAHOZ C. DR7 and DQ2 are positively associated with immunoglobulin-E response to the main antigen of olive pollen (Ole e 1) in allergic patients. *Hum Immunol* 1993; 38: 293-9.
60. CÁRDABA B, DE PABLO R, VILCHES V, MARTÍN E, GELLER-BERNSTEIN C, DE ANDRÉS B, ZAHARÁN Y, DEL POZO V, GALLARDO S, DE ARRUDA CHAVES E, WASEL Y, PALOMINO P, KREISLER M, LAHOZ C. Allergy to olive pollen: T-cell response from olive allergic patients is restricted by DR7-DQ2 antigens. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 316-22.
61. HUECAS S, VILLALBA M, GONZÁLEZ E, MARTÍNEZ-RUBIO A, RODRÍGUEZ R. Production and detailed characterization of biologically active olive pollen allergen Ole e 1 secreted by the yeast *Pichia pastoris*. *Eur J Biochem* 1999; 261: 539-545.
62. QUIRALTE J, GONZÁLEZ E, ARIAS DE SAAVEDRA JM, VILLALBA M, FLORIDO JF, SÁENZ DE SAN PEDRO B, RODRÍGUEZ R. Biological activity of recombinant Ole e1 in patients with *Olea europaea* pollinosis. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 122: 101-07.
63. CARLSSON L, NYSTON LE, SUNKVIST I ET AL. Profilin a low molecular weight protein controlling actin polymerisability. In: Perry SV et al, editors. *Contractile Systems in Non-Muscle Tissues*. Amsterdam: Elsevier, 1976: 39-49.
64. VALENTA R, DUCHEME M, PETTENBURGER K, SILLABER C, VALENT P, BETTELHEIM P, BREITENBACH M, RUMPOLD H, KRAFT D, SCHEINER O. Identification of profilin as a novel pollen allergen. IgE autoractivity in sensitised individuals. *Science* 1991; 253: 557-60.
65. VALENTA R, DUCHEME M, EBNER C, VALENT P, SILLABER C, DEVILLER P, FERREIRA F, TEJKA M, EDELMENH H, KRAFT D ET AL. Profilins constitute a novel family of functional plant pan-allergen. *J Exp Med* 1992; 175: 377-85.
66. MARTÍNEZ A, ASTURIAS JA, MONTESEIRÍN J, MORENO V, GARCÍA-CUBILLENA A, HERNÁNDEZ M, DE LA CALLE A, SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ C, PÉREZ-FORMOSO JL, CONDE J. The allergenic relevance of profilin (Ole e 2) from *Olea europaea* pollen. *Allergy* 2002; 57: Suppl. 71: 17-23.
67. LEDESMA A, RODRÍGUEZ R, VILLALBA M. Olive-pollen profilin. Molecular and immunological properties. *Allergy* 1998; 53: 520-26.
68. ASTURIAS JA, ARILLA MC, GÓMEZ-BAYÓN N, MARTÍNEZ J, MARTÍNEZ A, PALACIOS R. Cloning and expression of the panallergen profilin and the major allergen (Ole e 1) from olive tree pollen. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 365-72.
69. MARTÍNEZ A, ASTURIAS JA, PALACIOS R, SANZ ML, SÁNCHEZ G, OEHLING A, MARTÍNEZ J. Identification of a 36-kDa olive-pollen allergen by in vitro and in vivo studies. *Allergy* 1999; 54(6): 584-92.
70. ASTURIAS JA, MARTÍNEZ A, PALACIOS R, SANZ ML, SÁNCHEZ G, OEHLING A, MARTÍNEZ J. Profilinas recombinantes. Capacidad y frecuencia de fijación de IgE. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1998; 13: 251 (Abstract).
71. QUIRALTE J, FLORIDO F, ARIAS SAAVEDRA JM, GÓMEZ A, SÁENZ DE SAN PEDRO B, GONZÁLEZ E, RODRÍGUEZ R. Olive allergen-specific IgE responses in patients with *Olea europaea* pollinosis. *Allergy* 2002; 57: Suppl. 71: 47-52.
72. QUIRALTE J, LLANES E, BARRAL P, ARIAS DE SAAVEDRA JM, SÁENZ DE SAN PEDRO B, VILLALBA M, FLORIDO JF, RODRÍGUEZ R, LAHOZ C, CÁRDABA B. Ole e 2 and Ole e 10: new clinical aspects and genetic restriction in olive pollen allergy. *Allergy* 2004 (en prensa).
73. BATANERO E, VILLALBA M, LEDESMA A, PUENTE XS, RODRÍGUEZ R. Ole e 3, an olive-tree allergen, belongs to a widespread family of pollen proteins. *Eur J Biochem* 1996; 241(3): 772-8.
74. LEDESMA A, VILLALBA M, BATANERO E, RODRÍGUEZ R. Molecular cloning and expression of active Ole e 3, a major allergen from olive-tree pollen and member of a novel family of Ca²⁺-binding proteins (polcalcins) involved in allergy. *Eur J Biochem* 1998; 258: 454-59.

75. BOLUDA L, ALONSO C, FERNÁNDEZ-CALDAS E. Purification, characterization, and partial sequencing of two new allergens of *Olea europaea*. J Allergy Clin Immunol 1998; 101(2): 210-6.
76. CARNÉS J, FERNÁNDEZ-CALDAS E. Ole e 4 and Ole e 5, important allergens of *Olea europaea*. Allergy 2002; 57: Suppl 71: 24-28.
77. BATANERO E, LEDESMA A, VILLALBA M, RODRÍGUEZ R. Purification, amino acid sequence and immunological characterization of Ole e 6, a cysteine-enriched allergen from olive tree pollen. FEBS Lett 1997; 410(2-3): 293-6.
78. TREVIÑO MA, GARCÍA-MAYORAL MF, BARRAL P, VILLALBA M, SANTORO J, RODRÍGUEZ R, BRUIX M. NMR solution structure of Ole e 6, a major allergen from olive pollen. J Biol Chem 2004; 279(37): 39035-41.
79. BARRAL P, TEJERA ML, TREVIÑO MA, BATANERO E, VILLALBA M, BRUIX M, RODRÍGUEZ R. Recombinant expression of Ole e 6, a Cys-enriched pollen allergen, in *P. pastoris* yeast: detection of partial oxidation of methionine by NMR. Protein Expr Purif 2004; 37(2): 336-43.
80. TEJERA ML, VILLALBA M, BATANERO E, RODRÍGUEZ R. Identification, isolation, and characterization of Ole e 7, a new allergen of olive tree pollen. J Allergy Clin Immunol 1999; 104(4): 797-802.
81. RODRÍGUEZ R, VILLALBA M, MONSALVE RI AND BATANERO E. The spectrum of olive pollen allergens. Int Arch Allergy Immunol 2001; 125: 185-95.
82. GARCÍA-OLMEDO F, MOLINA A, SEGURA A, MORENO M. The defensive role of nonspecific lipid-transfer proteins in plants. Trends Microbiol 1995; 3: 72-74.
83. PASTORELLO EA, FARIOLI L, PRAVETTONI V, ORTOLANI C, HISPANO M, MONZA M, SCIBOLA E, ANSALONI R, INCORVAIA C, CONTI A. The major allergen of peach (*Prunus persica*) is a lipid transfer protein. J Allergy Clin Immunol 1999; 103: 520-26.
84. SÁNCHEZ-MONGE R, LOMBARDEO M, GARCÍA SELLES FJ, BARBER D, SALCEDO G. Lipid-transfer proteins are relevant allergens in fruit allergy. J Allergy Clin Immunol 1999; 103: 514-19.
85. DÍAZ-PERALES A, LOMBARDEO M, SÁNCHEZ-MONGE R, GARCÍA-SELLES FJ, PERNAS M, FERNÁNDEZ-RIVAS M, BARBER D, SALCEDO G. Lipid-transfer proteins as potential plant panallergens: Cross-reactivity among proteins of *Artemisia* pollen, *Castanea* nut and *Rosaceae* fruits, with different IgE-binding capacities. Clin Exp Allergy 2000; 30: 1403-10.
86. ASERO R, MISTRELLO G, RONCALO D, DE VRIES SC, GAUTIER MF, CIURANA CL, VERBEEK E, MOHAMMADI T, KNUL-BRETTLOVA V, AKKERDAAS JH, BULDER I, AALBERSE RC, VAN REE R. Lipid transfer protein: A pan-allergen in plant-derived foods that is highly resistant to pepsin digestion. Int Arch Allergy Immunol 2000; 122: 20-32.
87. FLORIDO LÓPEZ JF, QUIRALTE J, ARIAS DE SAAVEDRA JM, SÁENZ DE SAN PEDRO B, MARTÍN CASAÑEZ E. An allergen from *Olea europaea* pollen (Ole e 7) is associated with plant-derived food anaphylaxis. Allergy 2002; 57: Suppl 71: 53-59.
88. LEDESMA A, VILLALBA M, RODRÍGUEZ R. Cloning, expresión and characterization of a novel four EF-hand Ca^{2+} -binding protein from olive pollen with allergenic activity. FEBS Lett 2000; 466: 192-96.
89. LEDESMA A, VILLALBA M, VIVANCO F, RODRÍGUEZ R. Olive pollen allergen Ole e 8: identification in mature pollen and presence of Ole e 8-like proteins in different pollens. Allergy. 2002; 57: 40-3.
90. VALENTA R, HAYEK B, SEIBERLER S, BUGAJSKA-SCHREITER A, NIEDERBERGER V, TWARDOSZ A, NATTER S, VANGELISTA L, PASTORE A, SPITZAUER S, KRAFT D. Calcium-binding allergens: from plants to man. Int Arch Allergy Immunol 1998; 117: 160-66.
91. HUECAS S, VILLALBA M AND RODRÍGUEZ R. Ole e 9, a major olive pollen allergen is a 1, 3- β -Glucanase. Isolation, characterization, amino acid sequence, and tissue specificity. J Biol Chem. 2001 Jul 27; 276(30): 27959-66. Epub 2001 May 23
92. BARRAL P, BATANERO E, PALOMARES O, QUIRALTE J, VILLALBA M, RODRÍGUEZ R. A major allergen from pollen defines a novel family of plant proteins and shows intra- and interspecies cross-reactivity. J Immunol 2004; 172(6): 3644-51.
93. D. CHARPIN, M. CALLEJA, C. LAHOZ, C. PICHOT, Y. WASEL. Allergy to cypress pollen. Aceptado para publicación. Allergy 2004
94. PAPA G, ROMANO A, QUARANTINO D, DI FONSO M, VIOLA M, ARTESANI M, SERNIA S, DI GIOACCHINO M, VENUTI A. Prevalence of sensitization to *Cupressus sempervirens*: a 4-year retrospective study. Sci Total Environ 2001; 10: 83-87.
95. DI FELICE G, CAIAFFA MF, BARILETTO G, AFFERNI C, DI PAOLA R, MARI A, PALUMBO S, TINGHINO R, SALLUSTO F, TURSÌ A, ET AL. Allergens of *Arizona cypress* (*Cupressus arizonica*) pollen: characterization of the pollen extract and identification of the allergenic components. Int Arch Allergy Immunol. 2002; 129: 296-3.
96. WYLER C, BRAUN-FAHRLANDER C, KUNZLI N ET AL. Exposure to motor vehicle traffic and allergic sensitization. Epidemiology 2000; 11: 450-456.
97. CHARPIN D, BOUTIN-FORZANO S, GOUITAA M., Cypress pollinosis: atopy or allergy? Allergy 2003; 58: 383-384.
98. BOUSQUET J, KNANI J, HEJJAOUI A, FERRANDO R, COUR P, DHIVERT, MICHEL FB. Heterogeneity of atopy. I Clinical and immunologic characteristics of patients allergic to cypress pollen. Allergy 1993; 48: 183-188.
99. IACOVACCI P, AFFERNI C, BUTTERONI, PIRONI L, PUGGIONI EM, ORLANDI A, BARILETTA B, TINGHINO R, ARIANO R, PANZANI RC, DI FELICE G, PINI C. Comparison between the native glycosylated and the recombinant Cup a 1 allergen: role of carbohydrates in the histamine release from basophils. Clin Exp Allergy 2002; 32: 1620-1627.
100. REA G, IACOVACCI P, FERRANTE P, ZELLI M, BRUNETTO B, LAMBA D, BOFFI A, PINI C, FEDERICO R. Refolding of the *Cupressus arizonica* major pollen allergen Cup a1.02 overexpressed in *Escherichia coli*. Protein Expr Purif. 2004; 37: 419-25.
101. MARIN-RODRIGUEZ C, ORCHARD J, SEYMOUR GB. Pectate lyases cell wall degradation and fruit softening. J Exp Botany 2002; 53: 2115-19.
102. NAKAMURA Y, TAKAGI S, SUZUKI M, ITO H, MURAKAMI S, OHTA N. (2001) Survival of memory T cells specific for Japanese cypress pollen allergen is maintained by cross-stimulation of putative pectate lyases from other plants. Allergy 56: 385-92
103. ARILLA MC, IBARROLA I, GARCIA R, DE LA HOZ B, MARTINEZ A, ASTURIAS JA. Quantification of the major allergen from cypress (*Cupressus arizonica*) pollen, Cup a 1, by monoclonal antibody-based ELISA. Int Arch Allergy Immunol. 2004; 134: 10-6.
104. MIDORO-HORIUTI T, GOLDBLUM RM, KUROSKY A, GOETZ DW, BROOKS EG. Isolation and characterization of the mountain cedar (*Juniperus ashei*) pollen major allergen, Jun a 1. J Allergy Clin Immunol. 1999; 104: 608.
105. SUZUKI M, KOMIYAMA N, ITOH M, ITOH H, SONE T, KINO K, TAKAGI I, OHTA N. Purification, characterization and molecular cloning of Cha o 1, a major allergen of *Chamaecyparis obtusa* (Japanese cypress) pollen. Mol Immunol. 1996; 33: 451-60.
106. TODA M, SATO H, TAKEBE Y, TANIGUCHI Y, SAITO S, INOUE S, TAKEMORI T, SAKAGUCHI M. Inhibition of immunoglobulin E response to Japanese cedar pollen allergen (Cry j 1) in mice by DNA immunization: different outcomes dependent on the plasmid DNA inoculation method. Immunology. 2000; 99: 179-86.
107. NAMBA M, KUROSE M, TORIGOE K, HINO K, TANIGUCHI Y, FUKUDA S, USUI M, KURIMOTO M. Molecular cloning of the second major allergen, Cry j 11, from Japanese cedar pollen. FEBS Lett. 1994; 353: 124-8.

108. KOMIYAMA N, SONE T, SHIMIZU K, MORIKUBO K, KINO K. *cDNA cloning and expression of Cry j II the second major allergen of Japanese cedar pollen*. Biochem Biophys Res Commun. 1994; 201: 1021-28.
109. MORI T, YOKOYAMA M, KOMIYAMA N, OKANO M, KINO K. *Purification, identification, and cDNA cloning of Cha o 2, the second major allergen of Japanese cypress pollen*. Biochem Biophys Res Commun. 1999 ; 263: 166-71
110. YASUEDA H, SAITO A, SAKAGUCHI M, IDE T, SAITO S, TANIGUCHI Y, AKIYAMA K, INOUE S. *Identification and characterization of a group 2 conifer pollen allergen from Chamaecyparis obtusa, a homologue of Cry j 2 from Cryptomeria japonica*. Clin Exp Allergy. 2000; 30: 546-50.
111. SOMAN KV, MIDORO-HORIUTI T, FERREON JC, GOLDBLUM RM, BROOKS EG, KUROSKY A, BRAUN W, SCHEIN CH. *Homology modeling and characterization of IgE binding epitopes of mountain cedar allergen Jun a 3*. Biophys J. 2000 Sep; 79(3): 1601-9.
112. BREITENEDER H. *Thaumatin-like proteins -- a new family of pollen and fruit allergens*. Allergy. 2004; 59: 479-81.
113. CORTEGANO I, CIVANTOS E, ACEITUNO E, DEL MORAL A, LOPEZ E, LOMBARDEO M, DEL POZO V, LAHOZ C. *Cloning and expression of a major allergen from Cupressus arizonica pollen, Cup a 3, a PR-5 protein expressed under polluted environment*. Allergy. 2004; 59: 485-90.
114. MIDORO-HORIUTI T, GOLDBLUM RM, KUROSKY A, WOOD TG, BROOKS EG. *Variable expression of pathogenesis-related protein allergen in mountain cedar (Juniperus ashei) pollen*. J Allergy Clin Immunol. 1994; 94: 547-55.
115. OGASAWARA H, YOSHIMURA S, GOTO M, TUYU M, FUJITANI T, NAKAHARA T. *The increase and decrease of the total pollen counts of Sugi (Cryptomeria japonica) due to abnormal weather during pollen scattering season*. Arerugi. 1999; 48: 691-9.
116. TAMURA Y, KAWAGUCHI J, SERIZAWA N, HIRAHARA K, SHIRAIISHI A, NIGI H, TANIGUCHI Y, TODA M, INOUE S, TAKEMORI T, SAKAGUCHI M. *Analysis of sequential immunoglobulin E-binding epitope of Japanese cedar pollen allergen (Cry j 2) in humans, monkeys and mice*. Clin Exp Allergy. 2003; 33: 211-7.
117. USUI M, SAITO A, TANIGUCHI N, NISHIJIMA N, AZAKAMI H, KATO A. *Reduction of antigenicity of Cry j I, major allergen of Japanese cedar pollen, by the attachment of polysaccharides*. Biosci Biotechnol Biochem. 2003 Nov; 67(11): 2425-30
118. YOSHITOMI T, HIRAHARA K, KAWAGUCHI J, SERIZAWA N, TANIGUCHI Y, SAITO S, SAKAGUCHI M, INOUE S, SHIRAIISHI A. *Three T-cell determinants of Cry j 1 and Cry j 2, the major Japanese cedar pollen antigens, retain their immunogenicity and tolerogenicity in a linked peptide*. Immunology. 2002 Dec; 107(4): 517-22.
119. HIRAHARA K, TATSUTA T, TAKATORI T, OHTSUKI M, KIRINAKA H, KAWAGUCHI J, SERIZAWA N, TANIGUCHI Y, SAITO S, SAKAGUCHI M, INOUE S, SHIRAIISHI A. *Preclinical evaluation of an immunotherapeutic peptide comprising 7 T-cell determinants of Cry j 1 and Cry j 2, the major Japanese cedar pollen allergens*. J Allergy Clin Immunol. 2001 Jul; 108(1): 94-100.
120. COSTA MA, COLOMBO P, IZZO V, KENNEDY H, VENTURILLA S, COCCHIARA R, MISTERIO G, ET AL. *cDNA cloning, expresion and primary structure of Par j 1, a major allergen of Parietaria judaica pollen*. FEBS Lett 1996; 399: 295-298.
121. DURO G, COLOMBO P, ASSUNTA COSTA M, IZZO V, PORCASI R, DI FIORE R, ET AL. *Isolation and characterization of two cDNA clones coding for isoforms of the Parietaria judaica major allergen Par j 1.0101*. Int Arch Allergy Immunol 1997; 112: 348-355.
122. DURO G, COLOMBO P, COSTA MA, IZZO V, PORCASI R, DI FIORE R, ET AL. *cDNA cloning and sequence analysis and allergological characterization of Par j 2.0101, a new major allergen of the Parietaria judaica pollen*. FEBS Lett 1996; 399: 295-298.
123. COLOMBO P, BONURA A, COSTA M, IZZO V, PASSANTINO R, LOCOROTONDO G, AMOROSO S, GERACI D. *The allergens of Parietaria*. Int Arch Allergy Immunol. 2003 Mar; 130(3): 173-9.
124. AYUSO R, CARREIRA J, LOMBARDEO M, DUFFORT O, PERIS A, BASOMBA A, POLO F. *Isolation by mAb based affinity chromatography of two Par j I isoallergens. Comparison of their physicochemical, immunochemical and allergenic properties*. Mol Immunol 1993; 30: 1347-54.
125. COLOMBO P, KENNEDY H, RAMSDALE T, COSTA MA, DURO G, ET AL. *Identification of an immunodominant IgE epitope of the Parietaria judaica major allergen*. J Immunol 1998; 160: 2780-5.
126. ASTURIAS JA, GOMEZ-BAYON N, ESEVERRI JL, MARIN A. *Par j 1 and Par j 2, the major allergens from Parietaria judaica pollen, have similar immunoglobulin IgE epitopes*. Clin Exp Allergy 2003 Apr; 33(4): 518-24.
127. ASTURIAS JA, ARILLA MC, GÓMEZ-BAYÓN N, MARTÍNEZ A, MARTÍNEZ J, PALACIOS R. *Recombinant DNA technology: cloning and expresión of plant profilins*. Allergol et Immunopathol 1997 ; 25(3) : 127-134.
128. ARILLA MC, ASTURIAS JA, GÓMEZ-BAYÓN N, MARTÍNEZ A, MARTÍNEZ J, PALACIOS R. *Production and characterization of profilin monoclonal antibodies*. Allergol et Immunopathol 1997; 25(3): 145-151.
129. BENITEZ D, GARCÍA-ORTEGA P, PICADO C, MILA J, ET AL. *Specific immune response to Parietaria judaica plant profilin: A cell proliferative response supports high IgE and skin prick test*. Allergol Immunopathol 2002; 30: 62-69.
130. AISTRELLO G, MISTRELLO G, RONACROLO D, AMATO S. *Parietaria profilin shows only limited cross-reactivity with birch and grass profilins*. Int Arch Allergy Immunol 2003; 133: 121-124.
131. STUMVOLL S, WESTRITSCHNIG K, LIDHOL J, SPITZAUER S, COLOMBO P, DURO G, ET AL. *Identification of cross-reactive and genuine Parietaria judaica pollen allergens*. J Allergy Clin Immunol 2003; 11: 974-9.
132. BONURA A, AMOROSO S, LOCOROTONDO G, DI FELICE G, TINGHINO R, GERACI D, COLOMBO P. *Hypoallergenic Variants of the Parietaria judaica Major Allergen Par j 1: A member of the Non-Specific Lipid Transfer Protein Family*. Int Arch Allergy Clin Immunol 2001; 126: 32-40.
133. ORLANDI A, GRASSO F, CORINTI S, MARINARO M, BONURA A, BOIRIVANT M, COLOMBO P, DI FELICE G. *The recombinant major allergen of Parietaria judaica and its hypoallergenic variant: in vivo evaluation in a murine model of allergic sensitization*. Clin Exp Allergy 2004; 34: 470-477.
134. HIMLY M, JAHN-SCHMID B, DEDIC A, KELEMEN P, WOPFNER N, ALTMAN F, ET AL. *Art v1, the major allergen of mugwort pollen is a modular glycoprotein with a defensin-like and a hydroxyproline-rich domain*. FASEB J 2003; 17: 106-108.
135. SCHMID-GRENDELMEIER P, HOLZMAN D, HIMLY M, WEICHEL M, TRESCH S, RÜCKERT B, ET AL. *Native Art v 1 and recombinant Art v 1 are able to induce humoral and T-cell mediated in vitro and in vivo responses in mugwort allergy*. J Allergy Clin Immunol 2003; 111: 1328-1336.
136. JAHN-SCHMID B, KELEMEN P, HIMLY M, BOHLE B, FISCHER G, FERREIRA F, EBNER C. *The T cell response to Art v 1, the major Mugwort Pollen Allergen, is dominated by one epitope*. J Immunol 2002; 169: 6005-6011.
137. NILSEN BM, SLETTEN K, PAULSEN BS, O'NEIL M, VAN HALBEEK H. *Structural analysis of the glycoprotein allergen Art v II from the pollen of mugwort (Artemisia vulgaris L.)*. J Biol Chem 1991; 266: 2660-2668.

138. DÍAZ-PERALES A, LOMBARDEO M, SÁNCHEZ-MONGE R, GARCÍA-SELLES FJ, PERNAS M, FERNÁNDEZ-RIVAS M, ET AL. Lipid-transfer proteins as potencial plant panallergens: cross-reactivity among proteins of *Artemisia* pollen, *Castanea* nut and *Rosaceae* fruits, with different IgE-binding capacities. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 1779-1410.
139. WOPNER N, WILLEROIDEE M, HEBENSTREIT D, VAN REE R, AALBERS M, BRIZA P, ET AL. Molecular and immunological characterization of profilin from mugwort pollen. *Biol Chem* 2002; 383: 1779-89.
140. GADERMAIER G, DEDIC A, OBERMEYER G, FRANK S, HIMLY M, FERREIRA F. Biology of Weed Pollen Allergens. *Curr Allergy Asthma Rep* 2004; 4: 391-400.
141. RAFNAR T, GRIFFITH IJ, KUO MC, BOND JF, ROGER BL, KLAPPER DG. Cloning of *Amb a I* (antigen E), the major allergen family of short ragweed pollen. *J Biol Chem* 1991; 266(2): 1229-36.
142. BOND JF, GARMAN RD, KEATING KM, BRINER TJ, RAFNAR T, KAPPLER DG. Multiple *Amb a I* allergens demonstrate specific reactivity with IgE and T cells from ragweed-allergic patients. *J Immunol* 1991; 146(10): 3380-5.
143. ROGERS BL, MORGENSTERN JP, GRIFFITH IJ, YU VB, COUNSELL CM, BRAUER A, ET AL. Complete sequence of the allergen *Amb a II*: recombinant expression and reactivity with T cells from ragweed allergic patients. *J Immunol* 1991; 147: 2547-52.
144. KAPPLER DG, GOODFRIEND L, CAPRA JD. Aminoacid sequence of ragweed allergen Ra3. *Biochemistry* 1980; 19: 5729-34.
145. GOODFRIEND L, ROEBBER M, LUNDKVIST U, CHOUDHURY AM. Two variants of ragweed allergen Ra3. *J Allergy Clin Immunol*. 1981 Apr; 67(4): 299-304.
146. ROEBBER, M, AND DG. MARSH. Isolation and characterization of allergen *Amb a VII* from short ragweed pollen. *J. Allergy Clin. Immunol* 1991; 87: 324.
147. ROEBBER M, KLAPPER DG, MARSH DG. Two isoallergens of short ragweed component Ra5. *J Immunol* 1982; 129: 120-25.
148. GHOSH B, PERRY MP, RAFNAR T, MARSH G. Cloning and expression of immunologically active recombinant *Amb a V* allergen of short ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) pollen. *J Immunol* 1993; 150(12): 5391-9.
149. RAFNAR T, GHOSH B, METZLER WJ, HUANG SK, PERRY MP, MUELLER L, MARSH DG. Expression and analysis of recombinant *Amb a V* and *Amb t V* allergens. Comparison with native proteins by immunological assays and NMR spectroscopy. *Biol Chem*. 1992 Oct 15; 267(29): 21119-23.
150. HILLER KM, LUBAHN BC, KLAPPER DG. Cloning and expresion of ragweed allergen *Amb a 6*. *Scand. J Immunol* 1998; 48: 26-36.
151. CHANG ZN, PENG HJ, LEE WC, CHEN TS, CHUA KY, TSAI LC, CHI CW, HAN SH. Sequence oymorphism of the group I allergen of Bermuda grass pollen. *Clin. Exp. Allergy* 29: 488-496, 1999. Au L-C, Lin S-T, Peng H-J, Chang Z-N. Cloning of new isoallergens of Cyn d 1. Unpublished 1999. www.allergen.org.
152. GROBE K, BECKER WM, SCHLAACK M, PETERSEN A. Grass group I allergens (beta-expansins) are novel, papain-related proteinases. *Eur J Biochem*. 1999; 263(1): 33-40.
153. ANDERSSON K, LIDHOLM J. Characteristics and immunobiology of grass pollen allergens. *Int arch Allergy Immunol* 2003; 130: 87-107.
154. SIDOLI A, TAMBORINI E, GIUNTINI I, LEVI S, VOLONTE G, PAINI C, ET AL. Cloning, expression, and immunological characterization of recombinant *Lolium perenne* allergen *Lol p II*. *J Biol Chem*. 1993 Oct 15; 268(29): 21819-25.
155. ROBERTS AM, BEVAN LJ, FLORA PS, JEPSON I, WALKER MR. Nucleotide sequence of cDNA encoding the group II allergen of cocksfoot/orchard grass (*Dactylis glomerata*), *Dac g II*. *Allergy* 1993; 48(8): 615-23.
156. DOLECEK C, VRTALA S, LAFFER S, STEINBERGER P, KRAFT D, SCHEINER O, VALENTA R. Molecular characterization of *Phl p II*, a major timothy grass (*Phleum pratense*) pollen allergen. *FEBS Lett*. 1993; 335(3): 299-304.
157. GUERIN-MARCHAND C, SENECHAL H, BOUIN AP, LEDUC-BRODARD V, TAUDOU G, WEYER A, ET AL. Cloning, sequencing and immunological characterization of *Dac g 3*, a major allergen from *Dactylis glomerata* pollen. *Mol Immunol* 1996; 33(9): 797-806.
158. DE MARINO S, MORELLI MA, FRATERNALI F, TAMBORINI E, MUSCO G, VRTALA S, ET AL. An immunoglobulin-like fold in a major plant allergen: the solution structure of *Phl p 2* from timothy grass pollen. *Structure Fold Des*. 1999; 7(8): 943-52.
159. FISCHER S, GROTE M, FAHLBUSCH B, MULLER WD, KRAFT D, VALENTA R. Characterization of *Phl p 4*, a major timothy grass (*Phleum pratense*) pollen allergen. *J Allergy Clin Immunol*. 1996; 98(1): 189-98.
160. RAJASHANKAR K, BUFE A, WEBER W, ESCHENBURG S, LINDNER B, BETZEL C. Structure of the functional domain of the major grass-pollen allergen *Phlp 5b*. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. 2002; 58(Pt 7): 1175-81.
161. PETERSEN A, BUFE A, SCHRAMM G, SCHLAACK M, BECKER WM. Characterization of the allergen group VI in timothy grass pollen (*Phl p 6*). *I y II*. *Int Arch Allergy Immunol*. 1995; 108(1): 49-59.
162. VRTALA S, FISCHER S, GROTE M, VANGELISTA L, PASTORE A, SPERR WR, ET AL. Molecular, immunological, and structural characterization of *Phl p 6*, a major allergen and P-particle-associated protein from Timothy grass (*Phleum pratense*) pollen. *J Immunol*. 1999; 163(10): 5489-96.
163. NIEDERBERGER V, HAYEK B, VRTALA S, LAFFER S, TWARDOSZ A, VANGELISTA L, ET AL. Calcium-dependent immunoglobulin E recognition of the apo- and calcium-bound form of a cross-reactive two EF-hand timothy grass pollen allergen, *Phl p 7*. *FASEB. J*. 1999; 13(8): 843-56.
164. VERDINO P, WESTRITSCHNIG K, VALENTA R, KELLER W. The cross-reactive calcium-binding pollen allergen, *Phl p 7*, reveals a novel dimer assembly. *EMBO J* 2002; 21: 5007-16.
165. TINGHINO R, TWARDOSZ A, BARLETTA B, PUGGIONI E, IACOVACCI P, BUTTERONI C, ET AL. Molecular, structural and immunologic relationship between different families of recombinant calcium-binding pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 314-320.
166. EKRAMODOULLAH AKM, KISIL FT, SEHON AH. Isolation of allergenically active cytochrome c from Kentucky bluegrass pollen. *Int Arch Appl Immunol* 1981; 65: 367-76.
167. SCHUMACHER MJ, WAGNER CM, CUSANOVICH MA. Cytochrome c as a possible allergen in Bermuda grass pollen extract. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 69: 145.
168. VAN REE R, HOFFMAN DR, VAN DIJK W, BRODARD V, MAHIEU K, KOELEMAN CAM, ET AL. *Lol p XI*, a new major grass pollen allergen, is a member of a family of soybean trypsin inhibitor-related proteins. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95: 970-8.
169. MARKNELL DEWITT A, NIEDERBERGER V, LEHTONEN P, SPITZAUER S, SPERR WR, VALENT P. Molecular and immunological characterization of a novel thimoty grass pollen allergen, *Phl p 11*. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 1329-1340.
170. VRTALA S, WIEDEMANN P, MITTERMANN I, EICHELER HG, SPERR WR, VALENT P, ET AL. High-level expression in *Escherichia coli* and purification of recombinant plant profilins: Comparison of IgE binding capacity and allergenic activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 226: 42-50.

171. SUCK R, PETERSEN A, HAGEN S, CROMWELL O, BECKER WM, FIEBIG H. *Complementary DNA cloning and expression of a newly recognized high molecular mass allergen Phl p 13 from timothy grass pollen (Phleum pratense)*. Clin exp allergy 2000; 30: 324-332.
172. KAZEMI-SHIRAZI, NIEDERBERGER V, LINHART B, LIDHOLM J, KRAFT D, VALENTA R. *Recombinant marker allergens: diagnostic gatekeepers for the treatment of allergy*. Int Arch Allergy Immunol 2002; 127: 259-268.
173. DE WEERD N, BHALLA PL, SINGH MB. *Effect of cysteine mutagenesis on human IgE reactivity to a recombinant form of the major rye grass pollen allergen Lol p 1*. Allergol Int (submitted).
174. LAMONTAGNE P, BOUTIN Y, BRUNET C, BOULANGER J, BERTON J, HERBERT J. *Characterization of allergenic determinants on the C-terminal region of the rLol p 1*. Adv Exp Med Biol 1996; 409: 425-9.
175. TAMBORIN E, FACCINI S, LIDHOLM J ET AL. *Biochemical and immunological characterization of recombinant allergen Lol p 1*. Eur. J Biochem 1997; 249: 886-94.
176. SINGH MB, BAHLLA PL. *Hypoallergenic derivatives of major grass pollen allergens for allergy vaccination*. Immunol Cel Biol 2003; 81: 86-89.
177. SCHRAMM G, KAHLERT H, SUCK R, WEBER B, STÜWE HT, MÜLLER WD, ET AL. *"Allergen Engineering": variants of the timothy grass pollen allergen Phl p 5b with reduced IgE-binding capacity but conserved T cell reactivity*. J Immunol 1999; 162: 2406-14.
178. SWOBODA I, DE WEERD N, BAHLLA PL ET AL. *Mutants of the major ryegrass pollen allergen, Lol p 5, with reduced IgE-binding capacity: candidates for grass pollen-specific immunotherapy*. Eur J Immunol 2002; 32: 270-80.
179. ESTRITSCHNIG K, FOCKE M, VERDINO P, GOESSLER W, KELLER W, TWARDOSZ A, ET AL. *Generation of an allergy vaccine by disruption of the three-dimensional structure of the cross-reactive calcium-binding allergen, Phl p 7*. J Allergy Clin Immunol 2004; 172: 5684-5692.
180. VRTALA S, BALL T, SPITAUER S, PANDJAITAN B, SUPHIOGLU C, KNOX B, ET AL. *Immunization with purified natural and recombinant allergens induces mouse IgG1 antibodies that recognize similar epitopes as human IgE and inhibit the human IgE-allergen interaction and allergen-induced basophil degranulation*. J Immunol 1998; 160: 6137-6144.
181. DE WEERD N, BHALL PL, SINGH MB. *Oral immunization with a recombinant major grass pollen allergen induces blocking antibodies in mice*. Int Arch Allergy Immunol 2003; 130: 119-124.
182. LINHART , JAHN-SCHMID B, VERDINO P, KELLER W, EBNER C, KRAFT D, VALENTA R. *Combination vaccines for the treatment of grass pollen allergy consisting of genetically engineered hybrid molecules with increased immunogenicity*. FASEB J 2002; 16(10): 1301-3.

Polinosis y clasificación ARIA de la rinitis

ALBERT ROGER REIG, TERESA DORDAL CULLA, ENRIC MARTÍ GUADAÑO

Unitat d'Al·lèrgia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona

EPIDEMIOLOGÍA

La rinitis alérgica se define clínicamente como un trastorno nasal sintomático debido a una inflamación de las membranas que recubren la nariz mediada por IgE tras la exposición a un alérgeno. Los síntomas de la rinitis son: rinorrea, obstrucción nasal, picor y estornudos; que remiten espontáneamente o con tratamiento. En una encuesta epidemiológica francesa¹ los pacientes relataron padecerlos en la siguiente proporción: estornudos y/o prurito nasal 85%, rinorrea 73% y obstrucción nasal 59%.

La rinitis alérgica constituye un problema de salud mundial. Es una enfermedad muy común en todo el mundo, que afecta al 10-25% de la población. Su prevalencia es superior en áreas urbanas que en rurales, y se asocia a un estilo de vida "occidental" (es más frecuente en los países desarrollados). Sin embargo, esta cifra probablemente subestima la prevalencia de la enfermedad, puesto que muchos pacientes no consideran sus síntomas como una patología y debido a ello no acuden al médico. Al mismo tiempo, en los últimos años se ha constatado un incremento en la prevalencia de la rinitis alérgica², llegando a posicionarse como una de las diez principales causas para acudir al médico de atención primaria³. Si nos ceñimos a la rinitis alérgica estacional, en la literatura encontramos prevalencias que oscilan, según estudios, entre el 1 y el 40%, siendo mayor en la juventud que en adultos.

En España, la Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica desarrolló un estudio epidemiológico observacional (Alergológica) sobre una población de más de 4.000 pacientes que acudían por vez primera a la consulta de un alergólogo⁴. La polinosis motivó el 42% de los casos de rinoconjuntivitis alérgica, siendo la primera causa por delante de los ácaros del polvo (aunque la incidencia varía mucho en función de las diferentes áreas geográficas). Entre éstas, la existencia de polisensibilización a varios pólenes simultáneamente era más frecuente (55%) que la monosensibilización (45%). Globalmente, los pólenes causantes de rinoconjuntivitis alérgica fueron, por orden de mayor a menor número de pacientes sensibilizados: gramíneas (77%), olivo (46%), parietaria (17%), artemisia (14%). La gran variación en la flora entre las distintas zonas del estado nos hace observar claras diferencias en la sensibilización: olivo en el Sur, gramíneas y olivo en la zona centro y Aragón, gramíneas y parietaria en la zona levantina, parietaria en Cataluña y Baleares. Del total de pacientes con alergia al polen, la manifestación clínica más frecuente fue la rinoconjuntivitis (66%), por delante del asma (45%) y la rinitis (18%). El porcentaje de pacientes con rinitis polínica que presentaban asma bronquial asociado fue del 38%. Casi uno de cada tres pacientes con rinoconjuntivitis polínica mostraban sensibilización a otros aeroalergenos (no pólenes), siendo los ácaros del polvo los más frecuentes. Estos pacientes vivían mayoritariamente en el medio urbano. En más de la mitad de los casos, el paciente pensaba que la polinosis influía en su vida diaria y el 7% de ellos afirmó haber estado de baja laboral durante el año anterior a la visita.

EL POLEN COMO ALERGENO

En función de su tipo de transporte se pueden distinguir entre pólenes anemófilos y entomófilos.

- Los pólenes anemófilos son muy aerodinámicos y se trasladan por el viento. Representan un problema importante para los pacientes sensibilizados, puesto que se emiten en grandes cantidades y pueden viajar a largas distancias (hasta 200 kilómetros), afectando a individuos que están lejos de la fuente del polen.
- Los pólenes entomófilos son los que se transportan por los insectos. Se libera poco polen a la atmósfera, por lo que la sensibilización requiere el contacto directo entre el sujeto y la fuente del polen.

El tamaño del polen facilita su depósito en los orificios nasales y en los ojos. En individuos muy sensibilizados, los síntomas pueden presentarse con niveles de polen de 15-75 granos/m³/día, mientras que otros pacientes pueden llegar a necesitar niveles 10 veces superiores para provocar síntomas parecidos⁵. La cantidad necesaria de polen para desencadenar síntomas también depende del tipo de polen. En estudios de rinitis alérgica estacional se ha encontrado correlación entre el nivel de polen y la puntuación de síntomas y consumo de medicación. Incluso se ha constatado un incremento del 10% en las visitas a Urgencias por rinitis y conjuntivitis en niños por cada 72 granos de polen/m³ de incremento en la polinización de ambrosía⁶.

Otro fenómeno importante en la capacidad de los pólenes como alérgenos es la reactividad cruzada entre ellos. Sin embargo, no está claro si todas las reactividades cruzadas observadas son clínicamente importantes. Las reactividades cruzadas mayores que se producen son entre pólenes de las familias *Gramíneae*, *Oleaceae*, *Betulaceae* y *Cupresaceae*.

CLASIFICACIÓN

Previamente, al igual como se hizo en el mencionado estudio Alergológica, la rinitis alérgica se subdividió, en función del tiempo de exposición, en perenne o estacional. La rinitis alérgica causada por pólenes era el paradigma de la rinitis estacional. En la guía de diagnóstico y manejo de la rinitis editada, en 1998, conjuntamente por la Academia (AAAAI) y el College (ACAAI) Americanos de Alergia⁷ se mantenía esta nomenclatura. Sin embargo, esta subdivisión presenta algunos problemas, como por ejemplo:

- Encontramos zonas en donde los pólenes son alérgenos presentes casi todo el año (ej. parietaria en la zona mediterránea).
- Inversamente, los síntomas de rinitis perenne pueden no estar presentes todo el año.
- Muchos pacientes están polisensibilizados, por lo que pueden presentar síntomas perennes con exacerbaciones estacionales o añadir una estación polínica después de otra.

En colaboración con la Organización Mundial de la Salud, en el año 2001, se publicó, el que hasta el momento, es el consenso global más actualizado sobre rinitis: “La rinitis alérgica y su impacto sobre el asma” (ARIA: *Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma*)⁸. En este documento se hace una actualización del tema que va destinada, no solo a los especialistas, sino también a los médicos generalistas para:

- Actualizar sus conocimientos de la rinitis alérgica.
- Subrayar el impacto que ejerce la rinitis alérgica en el asma.
- Hacer una revisión documentada basada en la evidencia de los métodos diagnósticos y de los tratamientos aplicables.
- Proponer un procedimiento escalonado para el tratamiento de la enfermedad.

TABLA 1.

CLASIFICACIÓN DE LA RINITIS ALÉRGICA	
INTERMITENTE ≤ 4 días a la semana ≤ 4 semanas	PERSISTENTE > 4 días a la semana y > 4 semanas
LEVE • Sueño normal • Sin impedimento de las actividades diarias, deporte, tiempo libre • Escolaridad y trabajo normales • Sin síntomas problemáticos	MODERADA/GRAVE <i>uno o más puntos</i> • Sueño anormal • Impedimento de las actividades diarias, deporte, tiempo libre • Escolaridad y trabajo alterados • Síntomas problemáticos

Uno de los puntos más novedosos de este documento es el que se refiere a la clasificación, pues se presenta una nueva división basada en frecuencia de los síntomas: “intermitente” o “persistente”. Asimismo, también clasifica la intensidad de los síntomas como “leve” o “moderada-grave” (tabla 1). Esta idea puede que tenga su inspiración en el documento GINA (Iniciativa Global para el Asma) sobre el manejo del asma bronquial, en donde también se utilizan estos adjetivos y que recientemente ha sido revisado y confirmada su terminología⁹.

Debido a que la frecuencia e intensidad de los síntomas son dos parámetros independientes, esta nueva nomenclatura nos permite 4 combinaciones para etiquetar a la rinitis alérgica: intermitente leve, intermitente moderada-grave, persistente leve y persistente moderada-grave. Es fundamental no incurrir en el fácil error de asociar directamente intermitente con estacional (o polínica) y persistente con perenne. Veamos dos ejemplos. En un lado tenemos un paciente con rinitis estacional cuyos síntomas le afectan diariamente durante dos meses seguidos en su polinización, por lo que debería catalogarse como persistente. En el otro extremo encontramos una rinitis perenne por ácaros con síntomas esporádicos 1-2 días a la semana, por lo que deberíamos etiquetarla de intermitente.

Mediante un cuestionario, contestado por pacientes con rinitis alérgica estacional que acudían al médico de primaria, que preguntaba sobre la duración de los síntomas en función de la nueva clasificación ARIA, el 79% de los encuestados fue catalogado de rinitis alérgica persistente¹.

Posteriormente, se realizó una validación de la clasificación ARIA en la que participaron 2010 médicos generales y 657 especialistas que aportaron 3026 pacientes con rinitis alérgica estacional y 3507 pacientes con rinitis alérgica perenne¹⁰. El 43% de los pacientes que su médico había catalogado como estacionales presentó rinitis persistente (57% intermitente). En el otro extremo, el 44% de los pacientes que sufrían síntomas perennes fueron etiquetados como intermitentes (55% persistente).

A finales de 2004, las Sociedades Española y Portuguesa de Alergia van a poner en marcha, conjuntamente, una recopilación prospectiva sobre prevalencia de las sensibilizaciones en pacientes con rinitis alérgica (Estudio Ibérico). Otro de los objetivos del protocolo es valorar, en nuestro medio, que cambios produce el consenso ARIA sobre la clasificación de la rinitis.

INFLAMACIÓN PERSISTENTE

El concepto de “inflamación mínima persistente” es otro de los nuevos conceptos clave del documento ARIA, siendo de vital importancia para las decisiones terapéuticas. Esta inflamación persistente se ha confirmado, no solo en la alergia perenne, sino también en la estacional¹¹. Se ha observado un aumento de células inflamatorias que se correlaciona con la gravedad de los síntomas. Asimismo, una característica importante del proceso de inflamación de las vías respiratorias, la exudación de plasma en la mucosa (edema), también se ha observado en la rinitis.

Esta inflamación persistente provoca una hiperreactividad nasal inespecífica, por lo que este fenómeno es común, tanto a las rinitis no alérgicas como a las de etiología alérgica. Puede definirse como un aumento de la respuesta nasal a un estímulo normal, que produce estornudos, congestión y secreción nasal, aislados o en distintas combinaciones.

Además del estímulo específico de su polinosis (causa inicial de la patología), los pacientes con rinitis polínica están expuestos de forma variable a varios desencadenantes que contribuyen a la inflamación: contaminantes, tabaquismo, infecciones víricas, aire frío, etc.

Enlazando con la inflamación que produce la reacción alérgica al polen tenemos el denominado efecto “priming” o de cebado. La estimulación nasal con granos de polen no es similar al curso natural de la rinitis durante la estación polínica, ya que los pacientes se exponen al polen durante semanas, lo que produce, como ya hemos comentado anteriormente, una inflamación e hiperreactividad nasal inespecífica importante. Connell¹², ya en 1969, sugirió que la provocación nasal con un alérgeno era capaz de “cebar” la mucosa nasal. Al realizar provocaciones nasales seriadas observó que el número de granos de polen necesario para producir una respuesta nasal positiva se reducía de 10 a 100 veces cuando se realizaba una segunda provocación al día siguiente. Por el contrario, este efecto intensificador desaparecía cuando los pacientes se estimulaban semanalmente. El mecanismo del que depende este importante hallazgo no se explicó en su momento, pero posteriormente parece que se debe a la llegada de eosinófilos y células metacromáticas que son atraídas a la mucosa por el primer estímulo¹³; esta inflamación dura aproximadamente una semana. Este efecto de cebado “priming” también puede simularse mediante provocaciones con varias dosis muy bajas del alérgeno. Con dichos estímulos se observan cambios en la secreción de mediadores eosinofílicos en el lavado nasal, a pesar de que no haya síntomas o éstos sean mínimos¹⁴. En la clínica diaria, este efecto lo podemos ejemplarizar en dos situaciones. Cuando la temporada de polinización lleva días iniciada, un paciente sensibilizado a un polen, puede presentar una intensidad de síntomas igual o incluso mayor que al principio de la estación polínica con niveles de polinización menor. Por otro lado, observamos el caso de pacientes polisensibilizados a varios tipos de polen diferente con épocas de polinización sucesiva. El primer polen (ej. árboles) desencadena la reacción inflamatoria. Cuando llega la polinización del segundo polen (ej. gramíneas), pequeñas cantidades de éste son suficientes para provocar síntomas en el paciente.

DIAGNÓSTICO

El documento ARIA resume el procedimiento diagnóstico de la forma siguiente: “En la mayoría de los pacientes debe realizarse un estudio cuidadoso mediante historia clínica, una exploración y un número limitado de pruebas cutáneas para confirmar/excluir una etiología alérgica y la exposición relevante a los principales alérgenos. Cuando haya discordancia entre la historia y el *prick test*, pueden estar indicadas nuevas investigaciones, como pruebas de provocación”.

La historia clínica, para poder clasificar la rinitis alérgica según se ha comentado anteriormente, debe incluir la frecuencia (intermitente-persistente) y gravedad (leve-moderado-grave) de los síntomas. En el caso de las polinosis, la estacionalidad de la sintomatología es fundamental. Aún así, no hay que olvidar que el valor

predictivo de la historia clínica en exclusiva, pese a ser realizada por expertos, es del 82-85% para el diagnóstico de rinitis alérgica estacional¹⁵.

Los alérgenos a testar en la batería de pruebas cutáneas (*prick test*) deben individualizarse según la exposición alérgica relatada en la historia clínica. Además, en el caso de sospecha de polinosis, deberemos tener en cuenta el área geográfica de procedencia del individuo, pues habrá que testar los pólenes en función de la vegetación predominante en su hábitat. Dentro del marco de debate actual sobre si algunas pruebas complementarias de diagnóstico pueden realizarlas los médicos generalistas (en vez del especialista), el documento ARIA se posiciona respecto a las pruebas cutáneas: “puesto que su desarrollo e interpretación son muy complejos se recomienda que se lleven a cabo por profesionales sanitarios entrenados”.

Aunque las pruebas cutáneas son los principales instrumentos diagnósticos usados para demostrar la hipersensibilidad de tipo inmediato, ésta también se puede demostrar con la determinación de la IgE específica *in vitro*. Se puede solicitar como complemento al diagnóstico o en caso de que el *prick test* no pueda realizarse. En su contra está el que el coste es alto y sólo se puede investigar una lista determinada de alérgenos. En el caso de la rinitis alérgica estacional, existe falta de correlación entre los síntomas y los títulos de IgE sérica específica¹⁶. Posteriormente, han aparecido en el mercado pruebas de cribaje usando la IgE sérica específica, que utilizan una mezcla de varios alérgenos en un solo ensayo. El problema es que el paciente se define sólo como alérgico o no alérgico, y si la prueba es positiva, deberemos realizar igualmente luego los tests cutáneos.

COMORBILIDAD Y COMPLICACIONES

Asma

Tal y como indica el título del documento ARIA, el impacto de la rinitis sobre el asma es otra de las aportaciones de este nuevo consenso al manejo de la rinitis. En estudios epidemiológicos, fisiopatológicos y clínicos se ha sugerido que existe una relación entre rinitis y asma, por lo que se considera que la rinitis constituye un factor de riesgo de la incidencia de asma. La mucosa nasal y bronquial presentan similitudes, por lo que la mayoría de pacientes con asma también tienen rinitis, aunque el asma parece asociarse más frecuentemente con la rinitis provocada por alérgenos perennes que con los estacionales.

Muchos pacientes con rinitis alérgica tienen una sensibilidad bronquial a metacolina o histamina mayor. Los pacientes con rinitis alérgica polínica pueden desarrollar broncoconstricción estacional no asociada con broncoespasmo clínico. También se han observado aumentos estacionales de la respuesta bronquial a histamina o metacolina y broncoconstricción inducida por ejercicio en pacientes alérgicos al polen¹⁷.

Los datos más recientes de esta asociación provienen del “European Community Respiratory Health Survey”¹⁸. El asma y la hiperreactividad bronquial eran más frecuentes en pacientes con rinitis que en el grupo control (odds ratio = 6.6 y 3.0 respectivamente). Casi el 80% de los pacientes con asma relataban padecer rinitis. El riesgo de sufrir asma se incrementaba desde el 2% en sujetos sin rinitis hasta el 6.7% en riniticos polínicos, el 11.9% en riniticos por animales, y 18.8% si se combinaban los dos tipos de alérgenos.

En consecuencia, se ha propuesto que la prevención o el tratamiento precoz de la rinitis alérgica puede ayudar a evitar la incidencia de asma o la gravedad de los síntomas bronquiales, aunque resultados recientes no han evidenciado una prevención del incremento de la inflamación bronquial y la hiperreactividad bronquial frente a histamina en niños no asmáticos con rinitis alérgica polínica que eran tratados con corticoides nasales¹⁹.

Globalmente, estos datos han sugerido el concepto de que las vías respiratorias superiores e inferiores pueden considerarse como una única entidad influida por un proceso inflamatorio común en evolución, que puede mantenerse y amplificarse por mecanismos interconectados. Esto ha dado pie al concepto de “*one airway, one disease*” (una vía respiratoria, una enfermedad). Por tanto, cuando se considere el diagnóstico de rinitis o asma debe realizarse una evaluación tanto de las vías respiratorias superiores como inferiores. En el caso

de sospecha de asma deben realizarse pruebas de función pulmonar: espirometría y valoración de la reversibilidad de la obstrucción de las vías respiratorias tras la inhalación de broncodilatadores.

Conjuntivitis

La asociación entre rinitis y conjuntivitis es una característica típica de los pacientes con alergia al polen, por lo que el interrogatorio sobre síntomas oculares y la exploración del ojo debe formar parte de la valoración clínica de la rinitis alérgica. Aunque pueden conseguirse algunas ventajas indirectas con el tratamiento tópico de la conjuntivitis y la rinitis sobre los síntomas asociados de los ojos y nariz respectivamente, la asociación entre rinitis y conjuntivitis debería indicar la ventaja del tratamiento oral que puede mejorar ambas enfermedades.

Posteriormente al documento ARIA, en el año 2003, dentro del proyecto GLORIA (Global Resources in Allergy), la WAO (World Allergy Organization) ha propuesto una guía sobre el manejo de la conjuntivitis alérgica. En ella, lo más destacable, es la adopción, al igual que el documento ARIA había hecho previamente con la rinitis alérgica, de la nomenclatura “intermitente” versus “persistente” para clasificar las conjuntivitis alérgicas, en lugar de las clásicas estacional o perenne.

Sinusitis

Los senos maxilar anterior, etmoidal y frontal drenan a través del orificio de los senos maxilares y del meato medio, lo que se conoce como complejo ostiomeatal. El seno etmoidal posterior drena en el meato superior y el esfenoidal en la fosa eseno-etmoidal. Se ha sugerido que los alérgenos pueden penetrar en los senos, produciendo una inflamación alérgica similar a la de la mucosa nasal. Experimentalmente, la instilación nasal de alérgenos produce edema de mucosa y opacificación de los senos.

La inflamación de la mucosa debida a la alergia puede obstruir el drenaje y aireación de los senos y, por tanto, se puede esperar que la alergia aumente el riesgo de desarrollar sinusitis aguda y crónica. En un estudio, el 43% de los casos de rinosinusitis aguda eran estacionales²⁰. En casos de rinosinusitis crónica, otro estudio, nos revela que el 40% de los pacientes eran alérgicos, porcentaje que aumenta al 80% en casos de sinusitis maxilar bilateral²¹.

La alergia también puede contribuir a la formación de pólipos nasales, aunque la prevalencia de poliposis nasal en los pacientes alérgicos es bastante baja, ya que, generalmente, está por debajo del 5%²². Los pólipos surgen de la mucosa inflamada que recubre los senos paranasales, prolapsando hacia dentro y pudiendo obstruir la cavidad nasal. En caso necesario, la tomografía computerizada se ha convertido en la principal técnica de investigación radiológica para trastornos importantes seno-nasales.

Otitis media

Histológicamente, las cavidades nasales y del oído medio están recubiertas por una mucosa respiratoria similar. La otitis media es una enfermedad inflamatoria de la mucosa del oído medio. La etiología y patogénesis de esta enfermedad es multifactorial, aunque la alteración del funcionamiento de la trompa de Eustaquio parece ser el factor más importante.

En seres humanos, el concepto de que la mucosa del oído medio puede actuar como órgano de choque alérgico no se acepta en general, porque en circunstancias naturales, la mucosa del oído medio no se expone a los alérgenos respiratorios. Sin embargo, se ha demostrado la disfunción de la trompa de Eustaquio tras la provocación intranasal con alérgeno. En la vida diaria, fuera del laboratorio, se evidenció que el 60%

de niños con rinitis polínica seguidos durante la estación de polinización desarrollaron obstrucción de las trompas de Eustaquio²³.

En diferentes estudios se ha descrito que la incidencia de alergia respiratoria en niños con otitis media oscilaba entre el 4% y el 90%²⁴. En resumen, podríamos valorar que la incidencia de alergia en niños con otitis media es, como mucho, ligeramente mayor de lo que podría esperarse en la población general. Como conclusión, la mucosa del oído medio es si es pocas veces un tejido diana de los procesos alérgicos, aunque los mediadores bioquímicos liberados durante las reacciones alérgicas nasales probablemente producen edema e inflamación de las trompas de Eustaquio.

CALIDAD DE VIDA Y POLINOSIS

Aunque recientemente se ha objetivado una relación entre la afectación de la calidad de vida y la severidad de la rinitis alérgica estacional²⁵, en general, la calidad de vida (CV) asociada con la rinitis parece correlacionarse moderadamente con las variables de resultado más clásicas usadas en ensayos clínicos, como las puntuaciones de síntomas diarios y la hiperreactividad nasal. Desde este punto de vista, se recomienda medir la CV junto con los índices clínicos convencionales.

En pacientes que acudían a la consulta del médico general, el 79% de ellos relataban afectación de su vida profesional y el 91% de su vida diaria¹. Por lo tanto, la mayoría de los pacientes presentaban rinitis alérgica moderada-severa, aunque es evidente que los afectados que consultan al médico son los que padecen mayores síntomas.

Usando un cuestionario genérico de CV (SF36), se encontró que ésta se reducía en pacientes con rinitis alérgica estacional²⁶. Se han desarrollado cuestionarios específicos para la medición de la CV en rinoconjuntivitis, tanto en adultos²⁷, como posteriormente en adolescentes²⁸ o niños²⁹. También existe un cuestionario sobre CV exclusivamente dedicado a la rinitis³⁰.

En Estados Unidos, se ha calculado el impacto sobre la productividad que produce la rinitis alérgica: 811.000 días de trabajo, 824.000 días escolares y 4.230.000 días de reducción de actividad al año³¹.

TRATAMIENTO

Hasta la aparición del documento ARIA, la anterior guía terapéutica había sido publicada en el año 2000 por la Academia Europea de Alergia (EAACI): “Declaración de consenso sobre el tratamiento de la rinitis alérgica”³². Una de las aportaciones importantes del documento ARIA es el seguimiento y aplicación de un concepto cada vez más importante en la ciencia médica actual, la “medicina basada en la evidencia”. La podemos definir como la capacidad para encontrar, analizar de forma crítica (en función de su validez y utilidad) e integrar toda la información obtenida de ensayos aleatorizados, con el fin de establecer las bases clínicas para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de una enfermedad.

En resumen, el tratamiento de la rinitis alérgica consiste en la evitación del alérgeno, medicación (tratamiento farmacológico), inmunoterapia y educación.

Evitación del alérgeno

Los pólenes, como alérgenos externos que son y debido a su naturaleza ubicua, son imposibles de evitar totalmente. Además, el nivel de polen en la atmósfera puede ser muy variable en cortos espacios de tiem-

TABLA 2.
Evitación del polen

NORMAS AMBIENTALES PARA EVITAR LA EXPOSICIÓN A PÓLENES ALERGÉNICOS	
• Conocer la planta causante de la polinosis, así como su distribución geográfica y la época de su floración. • Conocer los recuentos polínicos y las predicciones de lluvia del lugar habitual de residencia. El umbral de pólenes por metro cúbico de aire que desencadena sintomatología es muy variable entre personas, pero puede aprender cual es su umbral comparando los recuentos con sus síntomas. • Evitar permanecer mucho tiempo al aire libre, especialmente en parques, jardines y campo, sobre todo en los días de viento y de máxima concentración polínica. • Disminuir las actividades al aire libre durante las 5-10 de la mañana (emisión del polen) y de 7-10 de la tarde al enfriarse el aire (período de descenso del polen desde lo alto de la atmósfera). • Ponerse gafas de sol al salir a la calle o incluso una máscara protectora. • Si piensa viajar, averiguar la polinización del lugar e intentar elegir destinos con menor polinización (playas). • Mantener las ventanas de casa cerradas el mayor tiempo posible, principalmente durante la mañana, y abrirlas solo por la noche cuando el nivel de polen es más bajo. • Mantener las ventanillas del coche cerradas cuando se viaja. • Poner filtros anti-polen en el aire acondicionado (casa y coche). • Evitar ir en bicicleta o moto (utilizar casco integral). • No secar la ropa en el exterior durante los días de gran polinización, pues el polen puede quedar atrapado en la ropa húmeda.	

po (ej. lluvia) o en relativamente pequeñas distancias. Se ha estimado que para informar a la población general sobre niveles de polinización, los datos obtenidos en una estación de medición son válidos para un área de 30 kilómetros³³.

Como en cualquier proceso de alergia respiratoria, también en la polinosis, el habitat del paciente es muy relevante. Respecto a la vivienda habitual, no solo su localización geográfica o la presencia de vegetación en la cercanía es importante. El polen es liberado durante la mañana y asciende a medida que el aire se calienta, de modo que se encuentra en las capas más altas de la atmósfera durante las horas centrales del día para volver a descender al atardecer, cuando el aire vuelve a enfriarse. Quizá sea por ello que se ha descrito un aumento significativo de la sensibilización a pólenes en sujetos que viven en pisos altos respecto de quienes lo hacen en pisos bajos³⁴.

Aunque la mayoría de los pacientes que sufren de polinosis padecen síntomas exclusivamente durante la época de polinización, hay un grupo que presentan síntomas fuera de la estación polínica. Una posible explicación a este hecho la encontramos en el hecho de que se ha descrito, por ejemplo en el caso de gramíneas³⁵, el hallazgo de niveles considerables de alérgeno en el polvo de casa fuera de la temporada de polinización.

De todos modos, durante la época de polinización pueden seguirse ciertas normas de higiene ambiental para disminuir el contacto con el polen causante y así mejorar los síntomas de las personas afectadas de polinosis (tabla 2). Recientemente, incluso se ha publicado una disminución de los síntomas de rinitis durante la estación polínica y una protección del 60% ante la provocación nasal con alérgeno al utilizar una crema para bloquear al polen que se coloca varias veces al día en la parte interna de la nariz³⁶.

Tratamiento farmacológico

En un artículo conjunto auspiciado por ARIA y la EAACI se detallan los requerimientos para las medicaciones usadas comúnmente en el tratamiento de la rinitis alérgica³⁷.

Antihistamínicos

Respecto a los anti-H1 orales de primera generación, los nuevos anti-H1 deberían considerarse como el tratamiento de elección en la rinitis alérgica cuando estén disponibles y puedan costearse. Parece que los anti-H1 orales pueden tener propiedades adicionales al bloqueo del receptor H1, que llamaríamos “efectos antialérgicos”. La relevancia clínica de estos efectos antialérgicos aún no está demostrada en su totalidad, por lo que cualquier reclamo de adicionales propiedades antialérgicas debe ir ligado a un beneficio para el paciente en el tratamiento de sus síntomas alérgicos. Estas actividades antialérgicas ejercidas por algunos anti-H1 podrían sugerir que el uso prolongado es preferible al uso “a demanda”, especialmente cuando la rinitis es persistente. El término “tercera generación” debe reservarse para los anti-H1 con propiedades nuevas, no necesariamente antialérgicas.

Los anti-H1 tópicos son de acción rápida, pero sólo actúan en el órgano tratado. Su uso puede recomendarse para enfermedades leves limitadas a un órgano como medicación “a demanda”.

Glucocorticoides intranasales

Los corticoides son actualmente la medicación más potente que existe para el tratamiento de la rinitis alérgica. Los corticoides intranasales son efectivos en horas, pero su eficacia total se consigue después de dos semanas de tratamiento. Los corticoides intranasales son más eficaces que los anti-H1 intranasales. En un meta-análisis se ha concluido que los corticoides intranasales son más eficaces para reducir los síntomas de la rinitis alérgica que los antihistamínicos orales, siendo la ventaja más obvia para el bloqueo nasal³⁸. Sin embargo, en la práctica clínica debería tenerse en cuenta la aceptación, la preferencia, la disponibilidad y los efectos secundarios potenciales del fármaco.

Respecto a la seguridad, los corticoides intranasales se pueden usar en tratamientos largos sin atrofia de la mucosa nasal, y los pacientes parece que están en un riesgo muy bajo de desarrollar supresión del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal debido a las bajas dosis requeridas³⁹.

Generalmente, los grupos de pacientes con rinitis alérgica persistente que, frecuentemente, sufren bloqueo nasal se tratan mejor con corticoides intranasales. Cuando los síntomas son leves o solo intermitentes, un anti-H1 es una buena elección. En conclusión, los corticoides intranasales deben considerarse como una primera línea de tratamiento muy eficaz para pacientes que sufren rinitis alérgica con síntomas moderados a graves y/o persistentes.

Los glucocorticoides sistémicos son el último recurso cuando no sean eficaces otros tratamientos. Al contrario que los corticoides intranasales, los sistémicos llegan a todas las partes de la nariz y de los senos paranasales, por lo que pueden ser eficaces ciclos cortos en pacientes con rinitis grave o poliposis nasal.

Cromonas

En ensayos controlados con placebo, la administración de cromoglicato disódico cuatro veces al día fue eficaz en la rinitis y conjuntivitis alérgica, pero menos que los anti-H1 y los corticoides intranasales. En adultos, las cromonas no son una opción terapéutica fundamental para el tratamiento de la rinitis alérgica, aunque mantienen un lugar adecuado para el tratamiento de la conjuntivitis alérgica. A la vista de su excelente perfil de seguridad pueden recomendarse las cromonas a niños y mujeres gestantes.

Descongestivos

Los descongestivos intranasales son muy eficaces a corto plazo para el tratamiento de la obstrucción nasal, pero hay que recordar que su uso prolongado puede producir rinitis medicamentosa. Los descongestivos orales tienen un efecto más débil sobre la obstrucción que los intranasales y además pueden producir efec-

tos secundarios sistémicos, pero no producen vasodilatación de rebote. La comercialización de la combinación de un antihistamínico y descongestivo oral busca mejorar la obstrucción nasal que cambia mínimamente cuando se usan solo anti-H1.

Antileucotrienos

Un antagonista del receptor de los cystenyl-leucotrienos que desde hace años estaba siendo usado para el tratamiento del asma bronquial, montelukast, ha sido recientemente aprobado por la FDA americana (aún no en España) para el tratamiento de la rinitis alérgica. En la rinitis alérgica polínica, la combinación de montelukast y un antihistamínico fue más eficaz para tratar los síntomas de la rinitis y la conjuntivitis que cualquiera de ellos por separado y que el placebo.

Posteriores ensayos clínicos han comparado la eficacia de los antileucotrienos, antihistamínicos y corticoides intranasales en la rinitis alérgica polínica. En un seguimiento durante la estación de polinización de gramíneas, fluticasona intranasal y una combinación de montelukast-loratadina fueron significativamente más efectivos que montelukast en solitario o placebo para la prevención de los síntomas diurnos. El incremento en el número de eosinófilos en la biopsia nasal fue significativamente menor para los pacientes tratados con fluticasona comparado con los otros tratamientos⁴⁰.

La más reciente y completa comparativa se ha llevado a cabo con pacientes alérgicos a parietaria. Los grupos de tratamiento fueron: fluticasona en monoterapia, fluticasona-cetirizina, fluticasona-montelukast, cetirizina-montelukast y placebo. Todos los tratamientos mostraron diferencias significativas comparados con placebo en términos de síntomas totales de rinitis, aunque solo los grupos tratados con fluticasona mostraron diferencias significativas respecto a placebo para la congestión nasal. Respecto a los eosinófilos y ECP (proteína catiónica del eosinófilo) en lavado nasal, todos los tratamientos demostraron diferencias significativas comparados con placebo. El estudio concluye, que en pacientes con rinitis alérgica polínica, el tratamiento combinado regular con fluticasona más cetirizina o montelukast no parece ofrecer ventajas sustanciales con respecto a la utilización de fluticasona en monoterapia.⁴¹

Medicina alternativa

No ha podido confirmarse científicamente que los métodos usados en medicina alternativa (homeopatía, acupuntura, etc) sean efectivos en la clínica. La población debería conocer el peligro que conllevan algunos métodos de diagnóstico y tratamiento que pueden ser costosos y que no se han validado.

Inmunoterapia

La inmunoterapia específica (ITE) con el alérgeno consiste en administrar gradualmente cantidades cada vez mayores de una vacuna del alérgeno a un sujeto alérgico con el fin de mejorar los síntomas asociados con la exposición posterior al alérgeno causal. La ITE mejora los síntomas y reduce las necesidades de medicación de los pacientes con rinoconjuntivitis, y como consecuencia, mejora su calidad de vida. La ITE debe iniciarse en un período precoz de la enfermedad para reducir el riesgo de efectos secundarios y para evitar el desarrollo posterior de una enfermedad grave. La Organización Mundial de la Salud ha publicado un “*Position Paper*” sobre ITE que puede considerarse la referencia en el tema⁴². Para más detalles, en este mismo libro hay un capítulo dedicado a la ITE en polinosis.

Recientemente, ha sido comercializada en EEUU una nueva modalidad de tratamiento para el asma: los anticuerpos monoclonales humanizados anti-IgE. Ya se han publicado ensayos clínicos en rinitis polínica, con una reducción en síntomas y consumo de antihistamínicos⁴³. Pese al elevado precio del medicamento, puede ser una alternativa en pacientes con asma y rinitis alérgicos concomitantes graves.

TRATAMIENTO ESCALONADO

Anteriormente al documento ARIA, la EAACI en el año 2000 publicó una declaración de consenso sobre la rinitis alérgica que incluía una pauta práctica para el tratamiento de la rinitis estacional⁴⁴. Nos recordaba que algunos pacientes tienen una probada sensibilización al polen pero no presentan síntomas en ninguna circunstancia, por lo que en tales casos no debería efectuarse tratamiento.

En resumen (tabla 3), si los síntomas son leves u ocasionales, se recomiendan los antihistamínicos. Si los síntomas son moderados o de larga duración se recomienda un corticoide tópico nasal diariamente a lo largo de la estación polínica. Si los síntomas son graves o el tratamiento con corticoides nasales no tiene un efecto adecuado, está indicada una combinación de antihistamínico y corticoide nasal.

En una encuesta farmacoepidemiológica llevada a cabo en Francia en sujetos con rinitis alérgica durante la primavera de 2000¹, se constató que los antihistamínicos orales eran el tratamiento más empleado por los médicos generales (92%), seguido de los corticoides nasales (45%). El 74% de los pacientes recibían dos prescripciones, con una duración media del tratamiento de 6 semanas. El 75% de los pacientes preferían tratamiento oral, por solo el 13% que preferían tratamiento tópico. ¡La inmunoterapia específica sólo fue utili-

TABLA 3.

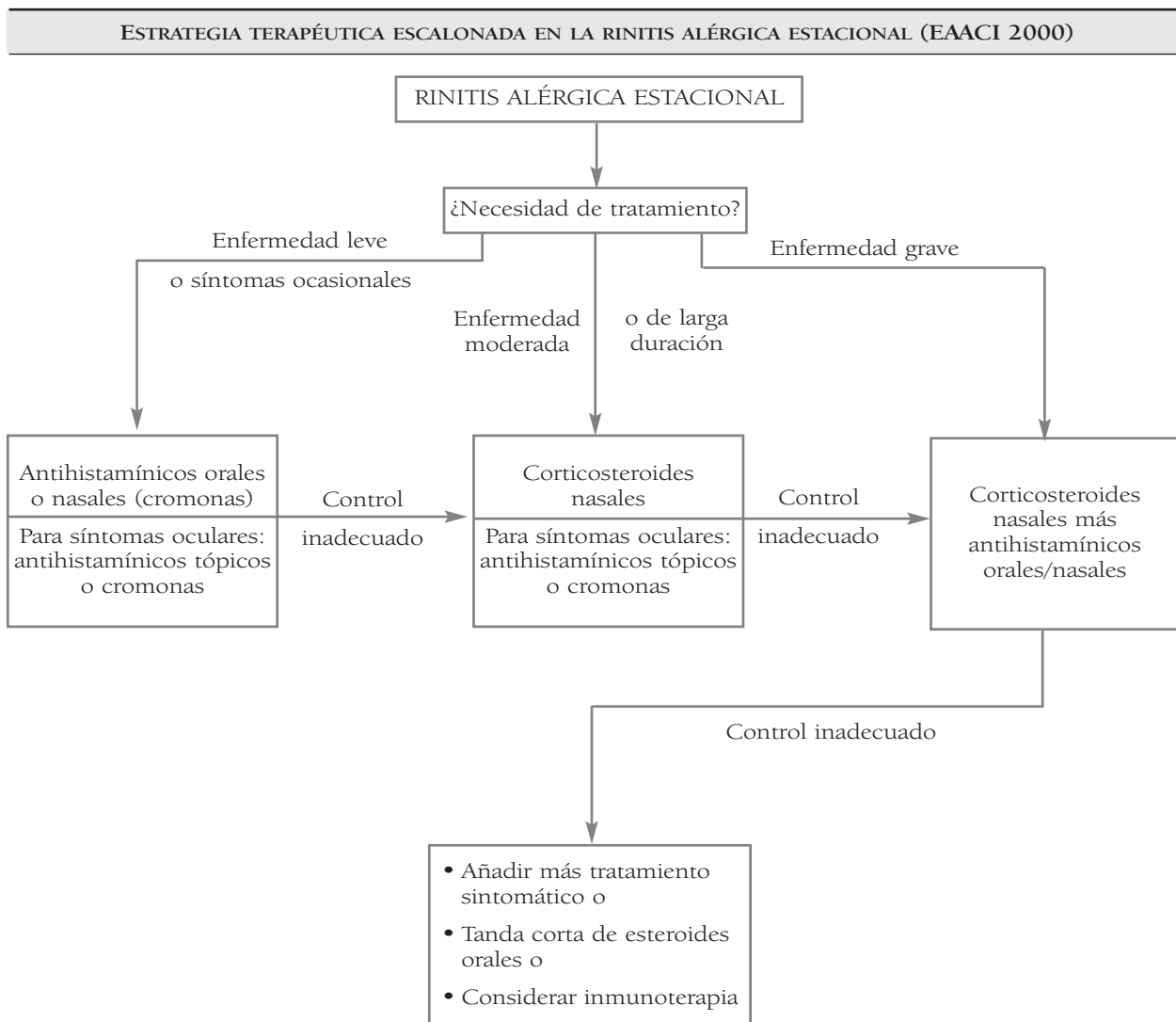
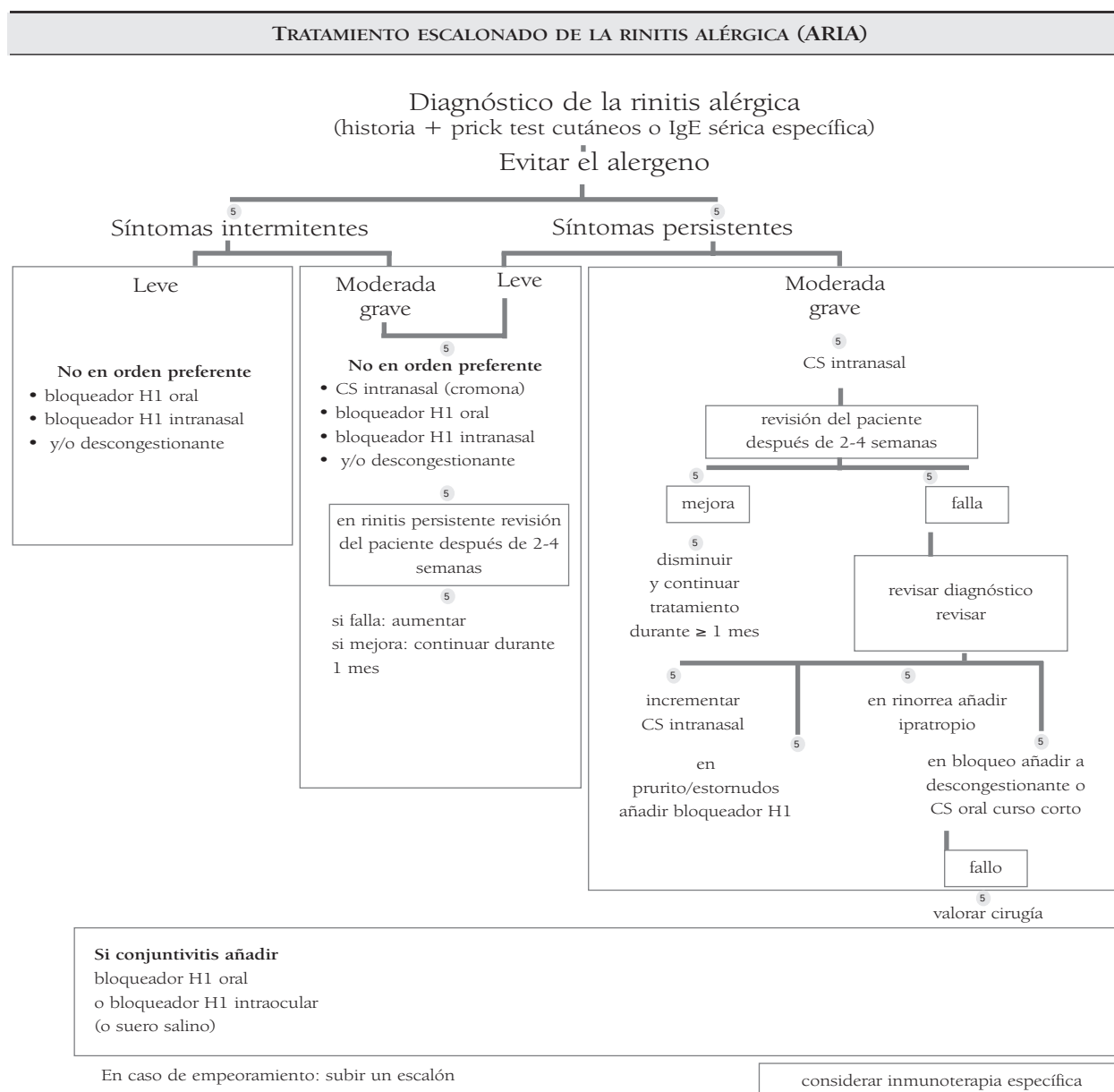


TABLA 4.



zada por el 1% de los pacientes! Sólo el 54% de los pacientes reconoció haber seguido escrupulosamente la prescripción médica y el 44% confesó haberse automedicado.

La propuesta de tratamiento farmacológico de la rinitis en el documento ARIA se escalona según la frecuencia e intensidad de los síntomas siguiendo la nueva clasificación propuesta anteriormente comentada (las opciones propuestas son sin orden de preferencia) (tabla 4).

- Intermitente leve: antihistamínicos (orales o intranasales) o descongestivos intranasales (durante menos de 10 días sin repetirse más de dos veces al mes).
- Intermitente moderada/grave: antihistamínicos orales o intranasales, o antihistamínicos orales y descongestivos, o corticoides intranasales.
- Persistente leve: antihistamínicos orales o intranasales, o antihistamínicos orales y descongestivos, o corticoides intranasales.

Los pacientes deberían valorarse de nuevo después de dos a cuatro semanas. Si el paciente no tiene síntomas o han disminuido se recomienda continuar el tratamiento. Sin embargo, en corticoides intranasales la dosis debe reducirse (ej. la mitad). Si los síntomas no mejoran y el paciente estaba siendo tratado con antihistamínicos, cambiar a corticoides intranasales.

- Persistente moderada/grave: se recomienda usar corticoides intranasales como primera línea de tratamiento. Si la nariz está muy bloqueada puede añadirse un curso corto de corticoides orales (1-2 semanas) o darse descongestivos intranasales (menos de 10 días)

El paciente debe revalorarse después de 2-4 semanas. Si el paciente no mejora (tras considerar posibles razones de falta de respuesta a corticoides intranasales): añadir un antihistamínico con posibilidad de asociarlo a un descongestivo. Si el paciente mejora, bajar un escalón (persistente leve). Sin embargo, el tratamiento debe durar al menos tres meses o toda la estación polínica.

Consideraciones específicas

Si el paciente, además, sufre conjuntivitis, las opciones son: anti-H1 oculares, anti-H1 orales o cromonas oculares.

En el caso de deportistas profesionales, hay que tener en cuenta las reglas de dopaje del Comité Olímpico Internacional. Los descongestivos nasales sistémicos, como pseudoefedrina o fenilpropanolamina, tienen un efecto estimulante central y, por tanto, no está permitida su utilización. Para recibir corticoides intranasales debe obtenerse un certificado médico. Los corticoides orales están prohibidos.

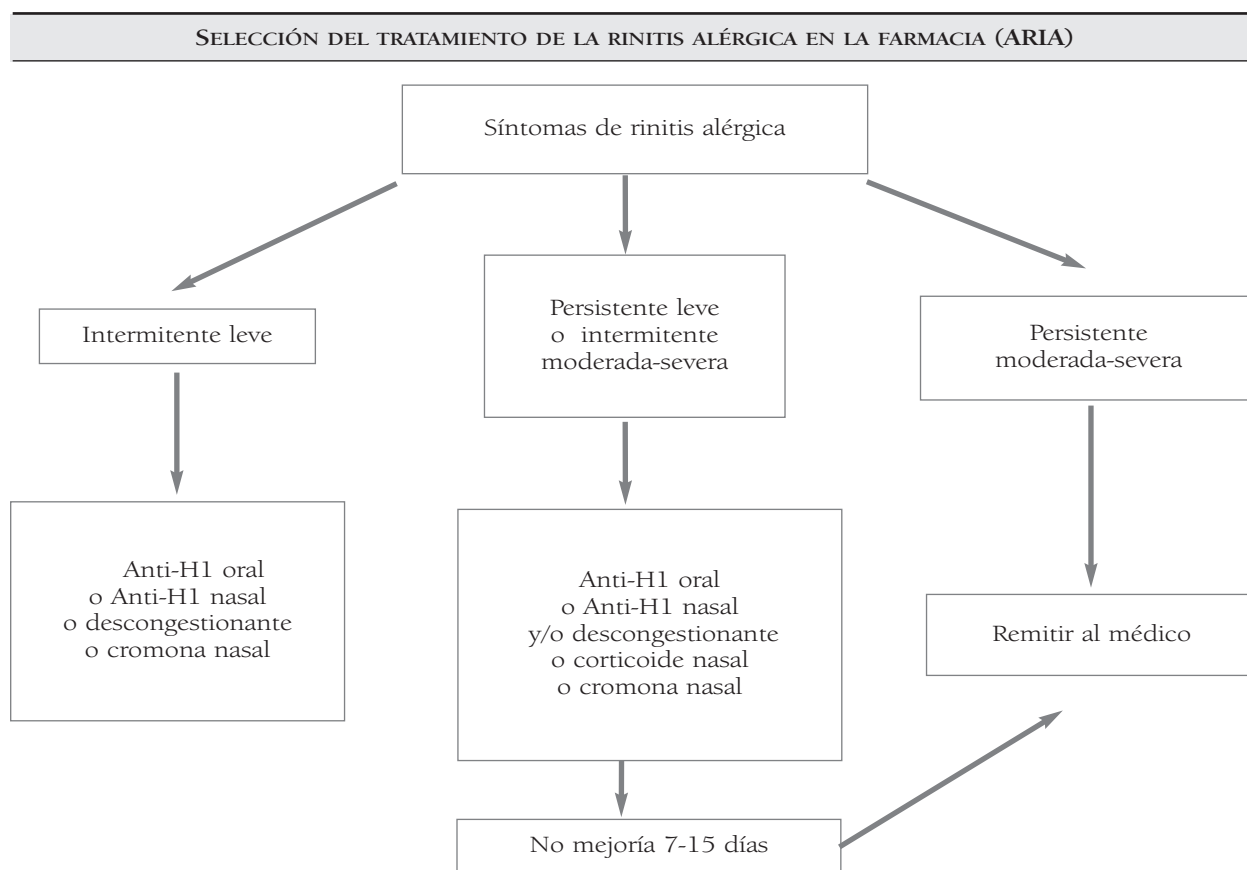
Durante el embarazo, respecto a los corticoides, aunque en animales todos son teratogénicos, no se ha encontrado ninguna alteración en seres humanos. Los antihistamínicos de segunda generación no han demostrado ser teratogénicos en la experimentación con animales. Sin embargo, la ausencia de ensayos controlados en seres humanos y la posibilidad de atravesar la barrera placentaria hace necesario evitarlos en la gestación. Algunos anti-H1 de primera generación (ej. bromfeniramina, prometacina, difenhidramina, hidroxicina) son teratogénicos en animales.

ARIA EN LA FARMACIA

Recientemente, los miembros del grupo ARIA realizaron un nuevo “workshop” para consensuar un documento con recomendaciones para la atención del sujeto con síntomas de rinitis alérgica en la farmacia⁴⁵. Una parte de los pacientes que van a la farmacia acuden a ella sin receta médica. Las medicaciones que se pueden obtener sin receta médica varía según los países. Estos pacientes pueden haber sido diagnosticados por el médico correctamente, acudir con un diagnóstico erróneo (ej. infección viral) o auto-diagnosticarse.

Si en la farmacia se va a dispensar un medicamento sin receta médica previa, se debe siempre preguntar a los pacientes sobre sus síntomas para ayudar a reconocer la enfermedad. Básicamente, es importante diferenciar entre pacientes en donde predomina la obstrucción versus aquellos en que predominan los estornudos y rinorrea. La presencia de picor nasal, rinorrea, estornudos y síntomas oculares es sugestivo de rinitis alérgica. Una vez la rinitis alérgica ha sido identificada, hay que valorar la severidad de los síntomas según la afectación de la vida diaria. Si los síntomas son intermitentes o leves, se puede manejar en la farmacia. Si los síntomas son persistentes o moderados-graves, si hay indicios de infección o asma, o no han respondido a un tratamiento correcto durante 2 semanas se debe recomendar que acuda a un médico (aunque se puede dispensar un tratamiento inicialmente). También se recomienda valoración médica en niños y embarazadas. El texto resume (respecto al documento ARIA) los diferentes tipos de tratamiento farmacológico y aporta un protocolo para el manejo de la rinitis alérgica en la farmacia (tabla 5).

TABLA 5.



BIBLIOGRAFÍA

1. P. DEMOLY, FA. ALLAERT, M. LECASBLE, PRAGMA. ERASM, a pharmacoepidemiologic survey on management of intermittent allergic rhinitis in every day general medical practice in France. *Allergy* 2002; 57: 546-54.
2. N. ABERG, J. SUNDELL, B. ERIKSSON, B. HESSELMAR, B. ABERG. Prevalence of allergic diseases in schoolchildren in relation to family history, upper respiratory infections, and residential characteristics. *Allergy* 1996; 51: 232-7.
3. C. GREGORY, M. CIFALDI, LA TANNER. Targeted intervention programs: creating a customized practice model to improve the treatment of allergic rhinitis in a managed care population. *Am J Manag Care* 1999; 5: 485-96.
4. J. SASTRE, J. CUESTA, MA DÍAZ, JM IGEA, JM OLAGUIBEL, G. SELLES. Alergia a pólenes. En: *Alergológica: factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España*. Madrid. Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica 1995: 259-79.
5. E. TAUDORE, L. MOSEHOLM. Pollen count, symptom and medicine score in birch pollinosis: a mathematical approach. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1988; 86: 225-33.
6. S. CAKMAK, R. DALES, R. BURNETT, S. JUDEK, F. COATES, J. BROOK. Effect of airborne allergens on emergency visits by children for conjunctivitis and rhinitis. *Lancet* 2002; 359: 947-8.
7. M. DYKEWICZ, S. FINEMAN, D. SKONER. Diagnosis and management of rhinitis: complete guidelines of the joint task force on practice parameters in allergy, asthma and immunology. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998; 81: 478-518.
8. J. BOUSQUET, P. VAN CAUWENBERGE, N. KHALTAEV. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA). *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 5174-334.
9. NATIONAL HEART, LUNG AND BLOOD INSTITUTE, NATIONAL INSTITUTES FOR HEALTH. *Global strategy for asthma management and prevention, revised 2002*. Bethesda, MD: National Heart, Lung and Blood Institute, National Institutes for Health; 2002.
10. P. DEMOLY, FA. ALLAERT, M. LECASBLE, J. BOUSQUET, PRAGMA. Validation of the classification of ARIA (allergic rhinitis and its impact of asthma). *Allergy* 2003; 58: 672-5.
11. V. RICCA, M. LANDI, P. FERRERO, A. BAIRIO, C. TAZZER, GW. CANONICA ET AL. Minimal persistent inflammation is also present in patients with seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 54-7.
12. JT CONNELL. Quantitative intranasal pollen challenges. 3. The priming effect in allergic rhinitis. *J Allergy* 1969; 43: 33-44.
13. M. WACHS, D. PROUD, LM. LICHTENSTEIN, A. KABEY-SOBOTKA, PS. NORMAN, RM. NACLEIRO. Observations on the pathogenesis of nasal priming. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84: 492-501.
14. A. ROQUAT, E. IHRE, M. VAN HAGE-HAMSTEN, G. HALLDEN, O. ZETTERSTROM. Allergen induced inflammation in the nose: a comparison of acute and repeated low dose allergen exposure. *Allergy* 1996; 51: 42-8.

15. MJJS. CROBACH, JO. HERMANS, AA. KAPTEIN, J. RIDDERIKHOFF, H. PETRI, JD. MULDER. *The diagnosis of allergic rhinitis: how to combine the medical history with the results of radioallergosorbent tests and skin prick tests.* Scan J Prim Health Care 1998; 16: 30-6.
16. JA NICKELSEN, JW. GEORGITIS, RE. REISMAN. *Lack of correlation between titers of serum allergen-specific IgE and symptoms in untreated patients with seasonal allergic rhinitis.* J Allergy Clin Immunol 1986; 77: 43-8.
17. L. PRIETO, M. LOPEZ, JM. BERTO, A. PERIS. *Modification of concentration-response curves to inhaled methacholine after the pollen season in subjects with pollen induced rhinitis.* Thorax 1994; 49: 711-3.
18. B. LEYNAERT, C. NEUKIRCH, S. KONY, A. GUENEGOU, J. BOUSQUET, M. AUBIER ET AL. *Association between asthma and rhinitis according to atopic sensitisation in a population based study.* J Allergy Clin Immunol 2004; 113:
19. F. ORHAN, BE. SEKEREL, G. ADALIOGLU, M. PINAR, A. TUNCER. *Effect of nasal triamcinolone acetone on seasonal variations of bronchial hyperresponsiveness and bronchial inflammation in nonasthmatic children with seasonal allergic rhinitis.* Ann Allergy Asthma Immunol 2004; 92: 438-45.
20. P. RUOPPI, J. SEPPA, J. NUUTINEN. *Acute frontal sinusitis: etiological factors and treatment outcome.* Acta Otolaryngol 1993; 113: 201-5.
21. G. KARLSSON, K. HOLMBERG. *Does allergic rhinitis predispose to sinusitis?* Acta Otolaryngol Suppl 1994; 515: 26-8.
22. GA. SETTIPANE, FH. CHAFEE. *Nasal polyps in asthma and rhinitis: a review of 6037 patients.* J Allergy Clin Immunol 1977; 59: 17-21.
23. SL. OSUR, B. VOLOVITZ, S. DICKSON, DC. ENCK, JM. BERNSTEIN. *Eustachian tube dysfunction in children with ragweed hayfever during natural pollen exposure.* Allergy Proc 1989; 10: 133-9.
24. JP. COREY, RE. ADHAM, AH. ABBASS, I. SELIGMAN. *The role of IgE-mediated hypersensitivity in otitis media with effusion.* Am J Otolaryngol 1994; 15: 138-44.
25. BA. STUCK, J. CZAJKOWSKI, AE. HAGNER, L. KLIMEK, T. VERSE, K. HORMANN ET AL. *Changes in daytime sleepiness, quality of life, and objective sleep patterns in seasonal allergic rhinitis: a controlled clinical trial.* J Allergy Clin Immunol 2004; 113: 663-8.
26. J. OSTINELLI, J. BOUSQUET. *Effect of nasal steroids on generic quality of life in seasonal allergic rhinitis.* J Allergy Clin Immunol 1998; 101: S246.
27. EF. JUNIPER, GH. GUYATT. *Development and testing of a new measure of health status for clinical trials in rhinoconjunctivitis.* Clin Exp Allergy 1991; 21: 77-83.
28. EF. JUNIPER, GH. GUYATT, J. DOLOVICH. *Assessment of quality of life in adolescents with allergic rhinoconjunctivitis: development and testing of a questionnaire for clinical trials.* J Allergy Clin Immunol 1994; 93: 413-23.
29. EF. JUNIPER, WC. HOWLAND, NB. ROBERTS, AK. THOMPSON, DR. KING. *Measuring quality of life in children with rhinoconjunctivitis.* J Allergy Clin Immunol 1998; 101: 163-70.
30. EF. JUNIPER, GH. GUYATT, B. ANDERSSON, PJ. FERRIE. *Comparison of powder and aerosolized budesonide in perennial rhinitis: validation of rhinitis quality of life questionnaire.*
31. DC. MALONE, KA. LAWSON, DH. SMITH, HM. ARRIGHI, C. BATTISTA. *A cost of illness study of allergic rhinitis in the United States.* J Allergy Clin Immunol 1997; 99: 22-7.
32. P. VAN CAUWENBERGE, C. BACHERT, G. PASSALACQUA, J. BOUSQUET, GW. CANONICA, SR. DURHAM ET AL. *Consensus statement on the treatment of allergic rhinitis.* Allergy 2000; 55: 116-34.
33. CH. KATELARI, TV. BURKE, K. BYTH. *Spatial variability in the pollen count in Sydney, Australia: can one sampling site accurately reflect the pollen count for a region?* Ann Allergy Asthma Immunol 2004; 93: 131-6.
34. T. ASENSIO, A. ARMENTIA, ML. ARRANZ, A. CALLEJO, S. REBOLLO, E. SEDANO. *¿Influye la altura de la vivienda en la sensibilización a pólenes?* Alergol Immunol Clin 2003; 18: 13-6.
35. B. FAHLBUSCH, D. HORNUNG, J. HEINRICH, HM. DAHSE, L. JAGER. *Quantification of group 5 grass pollen allergens in house dust.* Clin Exp Allergy 2000; 30: 1645-52.
36. S. SCHWETZ, H. OLZE, S. MELCHISEDECH, A. GRIGOROV, R. LATZA. *Efficacy of pollen blocker cream in the treatment of allergic rhinitis.* Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2004; 130: 979-84.
37. J. BOUSQUET, PV. CAUWENBERGE, C. BACHERT, GW. CANONICA, P. DEMOLY, SR. DURHAM. *Requirements for medications commonly used in the treatment of allergic rhinitis.* Allergy 2003; 58: 192-7.
38. JM. WEINER, MJ. ABRAMSON, RM. PUY. *Intranasal corticosteroids versus oral H1 receptor antagonists in allergic rhinitis: systematic review of randomised controlled trials.* BMJ 1998; 317: 1624-9.
39. RJ. PERRY, CA. FINDLAY, MD. DONALDSON. *Cushing's syndrome, growth impairment, and occult adrenal suppression associated with intranasal steroids.* Arch Dis Child 2002; 87: 45-8.
40. T. PULLERITS, L. PRAKS, V. RISTIOJA, J. LÖTVALL. *Comparison of a nasal glucocorticoid, antileukotriene, and a combination of antileukotriene and antihistamine in the treatment of seasonal allergic rhinitis.* J Allergy Clin Immunol 2002; 109: 949-55.
41. G. LORENZO, ML. PACOR, ME. PELLITTERI, G. MORICI, A. GREGOLI, C. BIANCO ET AL. *Randomized placebo-controlled trial comparing fluticasone aqueous nasal spray in mono-therapy, fluticasone plus cetirizine, fluticasone plus montelukast, and cetirizine plus montelukast for seasonal allergic rhinitis.* Clin Exp Allergy 2004; 34: 259-67.
42. J. BOUSQUET, R. LOCKEY, H. MALLING. WHO POSITION PAPER. *Allergen Immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases.* Allergy 1998; 53, suppl 54.
43. TB. CASALE, IL. BERNSTEIN, WW. BUSSE, CF. LAFORCE, DG. TINKELMAN, RR. STOLTZ ET AL. *Use of an anti-IgE humanized monoclonal antibody in ragweed-induced allergic rhinitis.* J Allergy Clin Immunol 1997; 100: 110-21.
44. P. VAN-CAUWENBERGE, C. BACHERT, G. PASSALACQUA, J. BOUSQUET, G. CANONICA, S. DURHAM ET AL. *Consensus statement on the treatment of allergic rhinitis.* EAACI position paper. Allergy 2000; 55:116-34.
45. J. BOUSQUET, P. VAN CAUWENBERGE, N. KHALTAEV. *ARIA in the pharmacy: management of allergic rhinitis symptoms in the pharmacy.* Allergy 2004; 59: 373-87.

Polinosis y alergia a alimentos

VICTÒRIA CARDONA DAHL, ESTHER MUÑOZ GARCÍA
MARÍA BASAGAÑA TORRENTÓ, MAR GUILARTE CLAVERO
Sección de Alergia. Hospital de la Vall d'Hebron. Barcelona

INTRODUCCIÓN

La asociación clínica entre la polinosis y la alergia a alimentos vegetales se describió inicialmente en la década de los 70¹⁻⁴. Este fenómeno ha sido objeto de un gran interés dentro de la alergología. El cuadro clínico se ha denominado síndrome de reacción cruzada entre polen y alimentos, síndrome polen-frutas, o en algún caso, síndrome polen-látex-frutas. La forma clínica más común de alergia alimentaria por reactividad cruzada con pólenes es el “síndrome de alergia oral”, que consiste en síntomas leves en la región orofaríngea como prurito labial, bucal o faríngeo, acompañado o no de angioedema de la zona. Sin embargo, en estudios recientes sometiendo a los pacientes a provocación oral a doble ciego controlada con placebo (PDCCP), se han objetivado numerosas reacciones sistémicas.⁵⁻⁷

En la actualidad, los alimentos de origen vegetal son la causa más frecuente de alergia alimentaria en adultos, y en un gran número de casos se asocia a alergia polínica.^{8,9} Los pólenes implicados en estas reacciones son el polen de abedul, artemisia, ambrosía, gramíneas y plátano de sombra. No se ha descrito hasta la fecha reactividad cruzada de polen de olivo, parietaria o ciprés con alimentos vegetales, a pesar de ser muy prevalentes en la zona mediterránea. Un aspecto interesante que condiciona la expresividad clínica del síndrome de reactividad cruzada entre polen y alimentos, es la región geográfica que se analice. Así, la presencia de especies vegetales autóctonas y de hábitos de alimentación diferentes darán lugar a distintas asociaciones. Por ejemplo, en España, excepto en la zona norte, apenas existen abedules y, por lo tanto, no se describe la reactividad cruzada con manzana que sí se observa en Escandinavia. Igualmente, el escaso consumo de bulbo de apio en nuestro país hace que no se hallen pacientes alérgicos a la artemisia que reaccionen con este alimento. El fenómeno de la globalización, con el desplazamiento a diferentes lugares de residencia de muchos individuos, así como la importación de nuevas frutas y verduras, inducirá la aparición de nuevos cuadros de reactividad cruzada.¹⁰ En la tabla 1 se describen las asociaciones más frecuentes.

El desarrollo progresivo de técnicas de laboratorio como la proteómica, técnicas de biología molecular, producción de alergen recombinantes, etc., han permitido aislar, caracterizar y estudiar la relevancia clínica de los alergen implicados en esta reactividad cruzada. Así, se han definido diversos grupos o familias proteicas que se expresan en diferentes especies vegetales y que contienen epítomos similares que pueden ser reconocidos por la IgE.¹² La familia de proteínas homólogas de Bet v1 (alergeno principal del polen de abedul), es la más relevante en la reactividad cruzada polen-alimentos. En la década de los 90 se acuñó el término de “panalergen” para designar a proteínas alergénicas muy ubicuas en diversas especies vegetales, incluso no relacionadas filogenéticamente, que se han conservado durante la evolución de las plantas.¹³

TABLA 1.

ALERGIA A ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL EN PACIENTES CON POLINOSIS	
Polen	Alimento
Abedul	Manzana, pera, cereza, melocotón, nectarina, albaricoque, ciruela, kiwi, avellana, otros frutos secos, almendras, apio, zanahoria, patata.
Abedul y artemisa o artemisa	Apio, zanahoria, especias, pipas de girasol, miel.
Gramíneas	Melón, sandía, naranja, tomate, patata, cacahuete, acelga.
Ambrosía	Sandía, melón, plátano, calabacín, pepino.
Plátano de sombra	Avellana, melocotón, manzana, melón, kiwi, cacahuete, maíz, garbanzos, lechuga, judías verdes.

ALERGENOS IMPLICADOS EN LA REACTIVIDAD CRUZADA POLEN-ALIMENTOS

Las *proteínas de defensa vegetal* son un grupo de proteínas que se acumulan en respuesta a situaciones como infecciones de patógenos, heridas, productos químicos, estrés, aunque también pueden expresarse durante ciertas fases del desarrollo vegetal sin ser inducidas por agentes externos. Su función suele estar relacionada con la defensa frente a diversas patologías y en inglés se denominan “*pathogenesis-related proteins*” (PR-proteins). Poseen unas características que, en mayor o menor medida, les permiten desempeñar su función biológica de defensa en condiciones adversas: estabilidad a pH bajo, resistencia a cambios de temperatura y a proteasas. Estas mismas propiedades les confieren la capacidad de actuar como alergenicos. En la tabla 2 se enumeran las más importantes.

Los *determinantes de carbohidratos* son otras estructuras relacionadas con el fenómeno de la reactividad cruzada entre vegetales. Muchas proteínas de los extractos alergénicos están glicosiladas y se ha demostrado que los pacientes alérgicos poseen IgE capaz de unirse a estas estructuras (cross-reactive carbohydrate determinants, CCD).¹⁵ El tratamiento con periodato, que “destruye” los determinantes glucídicos, reduce de forma significativa la fijación de IgE. No obstante, debido a su pequeño tamaño, los CCD representan epítopos monovalentes y, por lo tanto, un único determinante CCD no sería capaz de inducir el entrecruzamiento entre los complejos IgE-receptor adyacentes y parece que por ello no poseerían gran relevancia clínica.¹⁶ Además, se especula sobre la baja afinidad de estos anticuerpos IgE para explicar su escasa actividad biológica. Sin embargo, algunas proteínas que poseen múltiples glicosilaciones, o respuestas IgE policlonales dirigidas a CCDs y a otros epítopos proteicos serían capaces de inducir la degranulación mastocitaria, por lo que estas sensibilizaciones podrían ser importantes en algunos pacientes alérgicos a vegetales.^{17,18} En alérgicos al polen se encuentra una prevalencia de sensibilización a carbohidratos del orden del 40%.¹⁹

Las *profilinas* constituyen una familia de panalergenicos con un peso molecular de entre 12-15 kDa, presentes en la mayoría de células eucariotas y muy ubicuas encontrándose tanto en alimentos de origen vegetal como pólenes.¹² El porcentaje de prevalencia de sensibilización a profilinas es muy amplio y distinto en función de la población seleccionada (polínicos o polen-alimentos). Algunas de las profilinas identificadas son:

- *En polen*: abedul Bet v2, olivo Ole e2, avellano Cor a2, mercurialis Mer a1, artemisia Art v4, *Phleum* Phl p12, *Cynodon* Cyn d2, *parietaria* Par j3

TABLA 2.

FAMILIAS DE PROTEÍNAS VEGETALES IMPLICADAS EN LA REACTIVIDAD CRUZADA			
Familia	Tipo de proteína	Fuente alergénica	Alergeno
PR-1	Antifúngica	Látex, polen de olivo	Hev b 2, Ole e 9
PR-2	1,3- β -glucanasa	Aguacate, castaña, plátano, látex	Pers a 1, Cas s 5, Hev b 11
PR-3	Quitinasa clases I, II, IV	Látex, nabo	Hev b 6
PR-4	Quitinasa	Manzana, cereza, pimiento, polen de cedro	Mal d 2, Pru av 2, Cap a 1, Jun a 3
PR-5	Similar a la taumatina (TLP)		
PR-6	Inhibidor de proteinasa y α -amilasa		
PR-7	Endoproteinasa		
PR-8	Quitinasa clase III	Látex	Hevamina
PR-9	Peroxidasa		
PR-10	Homóloga a Bet v 1	Albaricoque, apio, castaña, cereza, manzana, melocotón, patata, pera, perejil, zanahoria, polen de abedul, avellano, aliso, etc.	Pru ar 1, Api g 1, Cas s 1, Pru av 1, Mal d 1, Pru p 1, Pyr c 1, Dau c 1, Bet v 1, Cor a 1, Aln g 1
PR-11	Quitinasa clase V		
PR-12	Defensina		
PR-13	Tionina		
PR-14	Proteína transferidora de lípidos	Albaricoque, avellana, castaña, cebada, cereza, ciruela, espárrago, manzana, maíz, melocotón, nuez, soja, uva, látex, polen de artemisia, olivo, ambrosía	Cor a 8, Cas a 8, Pru av 3, Mal d 3, Zea m 14, Pru p 3, Gly m 1, Vit v 1, Hev b 12, Art v 3, Ole e 7, Amb a 5

De van Loon LG et al¹⁴

- *En alimentos*: apio Api g4, zanahoria Dau c4, avellana Cor a2, cacahuete Ara h5, cereza Pru av4, melocotón Pru p4, pera Pyr c4, piña Ana c1, plátano Mus xp1, tomate Lyc e1, soja Gly m3, Pimiento Cap a2
- *Otros*: látex Hev b8.

Al hablar de la asociación entre alergia alimentaria y polínica, es preciso distinguir entre sensibilización e inducción de síntomas, ya que la presencia de IgE contra un determinado alimento no siempre implica la aparición de alergia tras su consumo. Además, es sabido que la reactividad cruzada *in vitro* es mucho más frecuente que la reactividad cruzada clínica.¹⁰ Por ejemplo, la relevancia clínica de la sensibilización a determinantes de carbohidratos es dudosa, tal como se ha comentado previamente. Los ensayos serológicos de inhibición pueden indicar cual es el alergenógeno origen de la sensibilización, pero no orientan sobre la expresividad clínica de ésta, que actualmente sólo puede determinarse correctamente mediante pruebas de provocación a doble ciego controladas con placebo (PDCCP). Se están investigando los factores que pueden condicionar que la presencia de ciertas IgE específicas se traduzcan en expresividad clínica y otras no, como el grado de afinidad o el número de epítomos reconocidos.²⁰

Platanus acerifolia

La sensibilización al polen de plátano de sombra o *Platanus acerifolia* ha sido descrita recientemente como causa de reactividad cruzada con alimentos de origen vegetal^{21,22}. Los alimentos relacionados han sido melocotón, manzana, cereza, ciruela, avellana, nuez, castaña, plátano, melón, kiwi, cacahuete, garbanzo, lechuga, judías verdes y maíz.

El tipo de proteínas candidatas a ser responsables de esta reactividad cruzada han sido varias. El grupo de Miralles et al²¹ considera plausible que se trate de proteínas de defensa vegetal de las familias PR-2 (glucanases), PR-5 (taumatinas), o PR-14 (LTP), y descartan que se trate de profilinas, aunque no han investigado estas posibilidades.

Por otro lado, Enrique et al, apuntaron inicialmente a que se tratara de alergia cruzada debida a profilinas²³, si bien en trabajos posteriores se inclinan hacia otras posibles familias proteicas, como la PR-14 (LTP)^{22,24}. Ninguno de los alergenos mayores del *Platanus*, Pla a 1 y Pla a 2, han podido demostrarse como implicados en la reactividad cruzada²⁵.

Betula verrucosa

Entre los síndromes polen-alimentos el mejor estudiado y el considerado más importante es el síndrome abedul-alimentos. La primera vez que se describió fue a mitad del siglo XX por Juhlin-Dannfeldt²⁶ en Suecia y Tuft y Blumstein en EEUU²⁷.

Hasta el 70% de los pacientes con alergia a polen de abedul desarrollan una alergia alimentaria IgE mediada a rosáceas, nueces u otros vegetales^{28,29}. Esta alergia alimentaria suele manifestarse en forma de síndrome de alergia oral (SAO)³⁰⁻³³. El hecho de que la mayoría de sujetos presenten reacciones locales en la mucosa de la orofaringe sugiere que los alergenos mayores de la familia Bet v1 son lábiles a la digestión. El sensibilizador primario es el alergeno mayor de polen de abedul Bet v1 por vía inhalatoria ya que se postula que sus frutas homólogas son incapaces de sensibilizar directamente porque son susceptibles al proceso digestivo (fácilmente digeribles en estómago e inactivadas por temperatura)^{28,29}.

Una lista de los alimentos que más frecuentemente causan reacciones orales en pacientes con alergia cruzada abedul-alimentos fue publicada en 1982 por Erikson et al⁴. Presentaron los resultados de un cuestionario realizado en 380 pacientes con alergia a polen de abedul. El 53% de los sujetos referían reacciones tipo I a avellana, 47% a manzana, 34% a melocotón, 29% a cereza, 27% a almendra, 26% a nuez, 26% a pera, 23% a zanahoria, 21% a ciruela, 20% a piel de patata, 20% a nuez de brasil y 14% a cacahuete. Otros autores han hallado frecuencias distintas, poniendo de manifiesto las diferencias regionales.³⁴

Se han caracterizado hasta el día de hoy siete alergenos del polen de abedul, incluidos en la lista oficial de alergenos de la WHO/IUIS^{35,36}. Tres de estos alergenos, Bet v1, Bet v2, y Bet v 6 muestran reactividad cruzada con alergenos alimentarios. Para dos alergenos menores de polen de abedul, Bet v7 y Bet v8, la reactividad cruzada con proteínas de alimentos es probable, aunque hasta la fecha no se hayan publicado casos.

Bet v1, alergeno principal de polen de abedul, es una proteína de 159 aminoácidos con un peso molecular de 17.4 kDa³⁷; existe en más de 20 isoformas que difieren en su capacidad de fijar IgE. Fue purificado en 1983 por Ipsen y Lowenstein³⁸ y posteriormente clonado en 1989 por Breiteneder y cols³⁹.

Los alergenos pertenecientes a la familia de homólogos de Bet v1 son la causa principal de alergia por reactividad cruzada polen-alimentos. Mal d 1, el alérgeno mayor de manzana, fue el primer homólogo de Bet v1 clonado en alimentos⁴⁰. Posteriormente Pru av 1 de cereza, Pru ar 1 de albaricoque, Pyr c de pera, Api g1 de apio y Dau c 1 de zanahoria han sido identificados¹⁰. La proteína de la soja, SAM22, homóloga de Bet v1 fue identificada como la proteína responsable de reacción a soja.⁷ (tabla 3)

TABLA 3.

HOMÓLOGOS DE BET v1							
Alergeno	Fuente	Peso molecular (kDa)	PI	Nº de residuos aminoácidos	Homología con Bet v 1 (%)	Homología con PcPR1-1 (%)	GenBank Acct. Nº
Mal d 1	manzana	17.5	5.5	158	58	40	X83672
Pru av 1	cereza	17.7	5.8	159	59	41	U66076
Pru ar 1	albaricoque	17.2	4.6	159	60	46	U93165
Pyr c 1	pera	17.4	5.6	158	57	38	AF057030
Api g 1.01	apio	16.2	4.5	153	40	61	Z48967
Api g 1.02	apio	17.1	4.5	158	39	60	Z75662
Dau c 1.0103	zanahoria	16.1	4.5	153	38	59	Z81361
Cor a 1.0401	avellana	17.5	6.1	160	67	43	AF136945
SAM 22	soja	16.6	4.4	156	48	36	X60043

Nota: La homología se refiere a la secuencia de aminoácidos. De Vieths et al¹⁰

Las características moleculares de los alergenitos alimentarios relacionados con Bet v1 se resumen en la tabla 3. Estos alergenitos poseen entre 153-160 residuos aminoácidos y comprenden puntos isoeléctricos entre 4.4 (SAM22) y 6.1 (Cor a 1.0401). La homología en la secuencia de aminoácidos con Bet v1 varía entre 67% (Cor a 1.0401) y el 38% de (Dau c 1.0103).⁴¹ Homólogos de Bet v 1 muestran entre el 35 y el 60% de identidad de secuencia con el grupo de proteínas PR-10.⁴¹

Bet v 2 fue identificada primariamente como un alérgeno menor en el polen de abedul por Valenta et al¹² y posteriormente clonada⁴². Se trata de una profilina con un peso molecular de 14 kDa. Las profilinas identificadas en vegetales se resumen en la tabla 4.

Los valores del punto isoeléctrico de las profilinas varían entre 4.3 y 9.2. La identidad en la secuencia de aminoácidos entre profilinas de diferentes órdenes taxonómicos es muy baja.¹⁰

Otro alérgeno encontrado en varios alimentos vegetales es *Bet v6*, proteína de 35 kDa, alérgeno menor del polen de abedul, que presenta reactividad cruzada con proteínas presentes en vegetales como manzana, melocotón, naranja, pera, plátano, mango, lychee, fresas, kaki, calabacín y zanahoria. *Bet v 6* presenta reactividad cruzada con *Pyr c 5*, alérgeno de pera; presentan propiedades de fijación de IgE similares. *Bet v 6* fue aislado por Wellhausen et al⁴³, posteriormente fue clonado y secuenciado³⁶, identificándose una secuencia de identidad de más del 81% con las proteínas homólogas de las reductasas de las isoflavonas y de las reductasas del éter benzílico de fenilcumarín, así como identidades del 60% con otras reductasas de las isoflavonas y 51% con reductasas del pinosresinol/lariciresinol.

Es bien conocido que pacientes con alergia a polen abedul-alimentos con hipersensibilidad a frutas como manzana, pera y cereza normalmente toleran estas frutas después de ser cocidas, indicando termolabilidad de los alergenitos de los alimentos, pero alimentos como el apio contienen componentes alérgenos termolábiles y termolábiles. Estudios recientes mediante PDCCP han confirmado que el apio cocido y la avellana tostada pueden causar síntomas en sujetos alérgicos al polen.^{5,6,44} Algunos estudios especialmente con apio y zanahoria en sujetos alérgicos al polen reportan reacciones sistémicas en aproximadamente el 50% de los pacientes de acuerdo con la historia clínica, y más del 50% de los pacientes presentaron reacciones sis-

TABLA 4.

HOMÓLOGOS DE BET V1						
Alergeno	Fuente	Peso molecular (kDa)	PI	Nº de residuos aminoácidos	Secuencia identidad con Bet v2 (%)	GenBank Acct. Nº
Pru av 4	Cereza	14	4.7	131	76	AF129425
Pyr c 4	Pera	14	5.1	131	83	AF129424
Mal d 4	Manzana	14.1	5.3	131	82	AF129426
		14.1	4.7	131	74	AF129427
		14	4.5	131	78	AF129428
Api g 4	Apio	14.3	4.5	134	80	AF129423
Gly m3	Soja	14	4.6	131	74	AJ223982
Ara h 5	Cacahuete	14	4.6	131	72	AF059616
Mus a?	Plátano	14	4.3	131	78	AF377948
Lit c?	Lychee	14	5	131	81	AY049013
Ana c?	Piña	14.2	4.5	131	71	AF377949
Cor a 2	Avellana	14.1	4.9	131	77	AF377949
		14	4.7	131	77	AF327622
Lyc e 1	Tomate	14.1	4.7	131	78	AY061819
		14.3	4.6	131	74	AJ417553
Cap a 2	Pimienta roja "bell pepper"	14.2	4.6	131	77	AJ417552

Nota: La homología se refiere a la secuencia de aminoácidos. De Vieths et al¹⁰

técnicas tras PDCCP¹⁰. Estos estudios demuestran que los síntomas de alergia al polen relacionados con ciertas frutas pueden ser más graves de lo que se asume comúnmente.^{5,6}

Los conocimientos actuales sobre reactividad cruzada entre polen de abedul y frutas han inducido a plantear la posible efectividad de la inmunoterapia con alergenitos de polen de abedul en pacientes con alergia alimentaria asociada. Así, estudios de Asero⁴⁵ y Kelso⁴⁶ muestran resultados beneficiosos, mientras que el grupo de Moller⁴⁷ no demostró mejoría.

Asero et al⁴⁸ demostraron en el seguimiento a 30 meses tras la inmunoterapia que el 50% de los pacientes toleraba manzana. El grupo de Bolhaar⁴⁹ realizó un estudio que mostró que la inmunoterapia con polen de abedul hace disminuir la alergia a alimentos que contienen alergenitos homólogos de Bet v 1. Además, concluyen que los alergenitos recombinantes y las PDCCP son herramientas útiles para la monitorización del efecto de la inmunoterapia sobre las alergias alimentarias asociadas.

Dado que las células T desempeñan un importante papel en el mecanismo de la inmunoterapia, se necesitan estudios sobre reactividad cruzada entre inhalantes y alergenitos alimentarios a nivel de las células T. Se ha mostrado reactividad cruzada para células T entre Bet v1 y Mal d1³⁷ y recientemente resultados similares han sido encontrados para homólogos de Bet v1 en apio.

Artemisia

Clínicamente la relevancia de la sensibilización a polen de *Artemisia* radica en su capacidad de producir reactividad cruzada con diversos alimentos, más que en su capacidad de producir polinosis a finales de verano-otoño. Un estudio realizado en nuestro medio destaca que el 27.3% de los pacientes monosensibilizados a *Artemisia* presenta alergia alimentaria⁵⁰. Uno de los síndromes de reactividad cruzada con *Artemisia* más frecuentemente descritos es el síndrome apio-zanahoria-artemisia-especias aunque en nuestro medio la frecuencia es baja, debido al bajo consumo de los alimentos implicados.

Los alimentos implicados en la reactividad cruzada se dividen en dos grupos:

- a) Alimentos pertenecientes a la familia de las compuestas (manzanilla, lechuga, alcachofa, salsifí, tupinambos, estragón, semillas de girasol, chicoria.....) o alimentos que pueden contener polen de *Artemisia* como la miel.
- b) Alimentos no relacionados taxonómicamente con las compuestas como el apio, la zanahoria y especias de la familia de las umbelíferas (perejil, hinojo, eneldo...)⁵⁰

Referente a la reactividad cruzada con manzanilla, el grupo de Reider estudió 14 pacientes con historia clínica compatible de alergia a la manzanilla, con pruebas cutáneas o RAST positivo, se analizaron las polinosis asociadas y los patrones de reactividad cruzada. Aproximadamente el 78% de los pacientes presentaba polinosis por artemisia asociada. *In vitro* sólo dos pacientes mostraban reactividad cruzada con homólogos de Bet v1, con lo que se considera un alérgeno no dominante, aunque puede implicar más riesgo ya que los pacientes que lo reconocían presentaron manifestaciones clínicas más graves⁵¹. No se identificaron tampoco las profilinas como responsables de esta reactividad cruzada; en cambio, se detectaron alérgenos de alto peso molecular resistentes al calor pendientes de identificar. En otro estudio realizado con 24 pacientes alérgicos *Artemisia vulgaris*, se confirmó la alta prevalencia de sensibilización a manzanilla, con pruebas cutáneas positivas en 21 individuos⁵².

Del resto de alimentos pertenecientes al grupo de las compuestas se han descrito casos de alergia, como por ejemplo con miel, aunque no se han estudiado los alérgenos responsables de esta reactividad cruzada.

Entre el grupo de alimentos no relacionados taxonómicamente, un estudio realizado en pacientes monosensibilizados a artemisia describe que sólo un 9.5% es además alérgico a alimentos no relacionados (pistacho, avellana, almendra, cacahuete y otros frutos secos).⁵⁰

El apio fue el primer alimento que se relacionó con la *Artemisia*. Un estudio comparó dos grupos de pacientes sensibilizados a apio⁵³; en el primer grupo los pacientes estaban además sensibilizados a abedul y en el segundo a *Artemisia*. En el primer grupo se identificaron proteínas homólogas de Bet v1, profilinas de abedul (Bet v2) y proteínas de 46-60 kDa de peso molecular. En este grupo la reactividad cruzada se debía a Bet v1 con alta homología con Api g1. En el segundo grupo no se reconocían proteínas homólogas de Bet v1, aunque sí reconocían profilinas y proteínas de 46-60 kDa responsables de la reactividad cruzada.

La alergia a zanahoria se incluye también en este síndrome. En cuanto a la reactividad cruzada con zanahoria se ha descrito Dau c1, proteína homóloga a Bet v1⁵⁴ y una profilina de 15 kDa⁵⁵ en el 20% de los pacientes. Los pacientes monosensibles a zanahoria sin sensibilización a abedul reconocían a una proteína de 18 kDa perteneciente a la familia de Bet v1.⁵⁶

Posteriormente se describió la alergia a especias (umbelíferas). La sensibilización a especias se asocia a polinosis por *Artemisia* y poco por abedul⁵⁷. Otro estudio analizó la alergia a las especias pimienta negra y pimienta roja, en pacientes afectos del síndrome apio-abeldul-artemisia. En el estudio *in vitro* los resultados demostraron dos alérgenos principales de 14 y 28 kDa en pimienta negra y otro de 23 kDa en pimienta roja. Las secuencias N-terminales de los 3 alérgenos no muestran una homología con los alérgenos conocidos. El alérgeno de 28 kDa es una proteína de almacenamiento de semillas y el de 23 kDa es un homólogo de una proteína relacionada con la patogénesis del tomate.⁵⁸

Gramíneas

Los alérgenos de las diferentes especies de gramíneas presentan grandes similitudes físico-químicas, que explican la gran reactividad cruzada entre ellas. Estas similitudes han permitido la clasificación de los alérgenos en grupos, de forma que los componentes de un mismo grupo tienen en común secuencias moleculares independientemente de la especie de procedencia. Los alérgenos de los grupos I/V son los más inmunodominantes, tanto por su mayor capacidad de unión a IgE, como por el porcentaje de pacientes que presentan IgE específica frente a ellos: 95% de pacientes alérgicos a las gramíneas presentan IgE específica frente a alérgenos del grupo I, 80% frente alérgenos del grupo V, 60-70% de los grupos II/III y 75% del grupo IV.

Las gramíneas además de su capacidad alérgica produciendo problemas respiratorios y nasales durante la polinosis también son causa de reactividad cruzada con distintos alimentos de origen vegetal. Los alimentos relacionados han sido melón, sandía, naranja, tomate, patata, cacahuete y acelga¹⁰. El tipo de proteínas candidatas a ser responsables de esta reactividad cruzada han sido varias, especialmente profilinas y proteínas carbohidratadas. Se cree que la sensibilización primaria de estas proteínas ocurre por la exposición al polen, como sucede también con las proteínas relacionadas con la patogénesis (PR).

En alérgicos a polen de gramíneas se ha encontrado en diversos estudios una sensibilización alrededor al 20-30%⁵⁹. Esta prevalencia puede llegar al 71% si se seleccionan pacientes polínicos con alergia IgE mediada frente a alimentos vegetales.⁴⁰ Respecto a la prevalencia de sensibilización de profilinas de alimentos, los valores encontrados las clasifican generalmente como alérgenos menores. En recientes estudios se postula que las profilinas tienen poca o ninguna relevancia clínica⁶⁰. Ésto sería debido a que normalmente hay pocos pacientes monosensibles a profilinas y la mayoría presenta co-sensibilizaciones con otras proteínas que también están involucradas en la reactividad cruzada. Los pacientes sensibilizados a profilinas, con síndrome polen-alimentos suelen tener síntomas limitados al área orofaríngea, tal como se ha comentado, puesto que estas proteínas son poco resistentes a la digestión gástrica y tienen alta resistencia a la saliva, si bien algunos estudios con pacientes seleccionados con síndrome polen-alimentos y provocación doble ciego controlada con placebo han demostrado que algunos de estos pacientes pueden presentar síntomas severos tras ingesta de determinados alimentos.

Según demuestran varios estudios en pacientes españoles con alergia IgE mediada a melocotón y manzana⁶¹ y con otras frutas en pacientes holandeses⁶², las profilinas pueden mediar la alergia alimentaria en pacientes que padezcan polinosis por gramíneas. Los alimentos implicados estarán influenciados por los hábitos nutricionales de los países estudiados. La profilina se ha reportado como el alérgeno dominante en pacientes seleccionados alérgicos al melón.

Se han identificado varios alérgenos glucoprotéicos tanto en pólenes, como Ole e1⁶³ y Lol p11 que es reconocido por el 65% de los pacientes alérgicos a gramíneas⁶⁴, así como en alimentos (Lyc e2 del tomate⁶⁵).

La impresión general recogida de varios estudios de la relevancia de la inducción de IgE frente a N-glicanos y profilinas es que ésta es limitada en el global de pacientes alérgicos a pólenes pero puede adquirir importancia en pacientes alérgicos a polen y alimentos.¹⁰

Además de la reactividad cruzada entre apio y polinosis por artemisia y abedul, se ha descrito también con polen de gramíneas, demostrándose por la presencia de determinantes carbohidratados y por profilinas.⁶⁶

BIBLIOGRAFÍA

1. ANDERSON LB JR, DREYFUSS EM, LOGAN J, ET AL. *Melon and banana sensitivity coincident with ragweed pollinosis*. J Allergy 1970; 45: 310-9.
2. HANNUKSELA M, LAHTI A. *Immediate reactions to fruits and vegetables*. Contact Dermatitis 1977; 3: 79-84.
3. ERIKSSON NE. *Food hypersensitivity reported by patients with asthma and hay fever*. Allergy 1978; 33: 189-96.
4. ERIKSSON NE, FORMAREN H, SVENONIUS E. *Food hypersensitivity in patients with pollen allergy*. Allergy 1982; 37: 437-43.

5. BALLMER-WEBER BK, VIETHS S, LÜTTKOPF D, HEUSCHMANN P, WÜTHRICH B. *Celery allergy confirmed by double-blind placebo-controlled food challenge*. J Allergy Clin Immunol 2000; 106: 373-8.
6. BALLMER-WEBER BK, WÜTHRICH B, WANGORSCH A, FÖTISCH K, ALTMANN F, VIETHS S. *Carrot allergy: double-blind placebo controlled food challenge and identification of allergens*. J Allergy Clin Immunol 2001; 108: 310-7.
7. KLEINE-TEBBE J, VIETHS S, FRANKE S, ET AL. *Severe allergic reactions to a dietary product containing soy protein due to IgE-mediated cross-reactivity and hypersensitivity to Bet v 1*. Allergo J 2001; 10: 154-9.
8. BIRCHER AJ, VAN MELLE G, HALLER E, ET AL. *IgE to food allergens are highly prevalent in patients allergic to pollen, with and without symptoms of food allergy*. Clin Exp Allergy 1994; 24: 367-74.
9. CABALLERO T, MARTÍN-ESTEBAN M. *Association between pollen hypersensitivity and edible vegetable allergy: a review*. Invest Allergol Clin Immunol 1998; 1: 6-16.
10. VIETHS S, SCHEURER S, BALLMER-WEBER B. *Current understanding of cross-reactivity of food allergens and pollen*. Ann NY Acad Sci 2002; 964: 47-68.
11. BREITENEDER H, EBNER C. *Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens*. J Allergy Clin Immunol 2000; 106: 27-36.
12. VALENTA R, DUCHENO M, EBNER C, ET AL. *Profilins constitute a novel family of functional plant pan-allergens*. J Exp Med 1992; 175: 377-85.
13. VAN LOON LG, VAN STRIEN EA. *The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins*. Physiol Mol Plant Pathol 1999; 55: 85-97.
14. AALBERSE RC. *Clinical relevance of carbohydrate allergen epitope*. Allergy 1998; 53: 54-7.
15. VAN REE R, AKKERDAAS JH, VAN LEEUWEN WA, ET AL. *New perspectives for the diagnosis of food allergy*. ACI Int 2000; 12: 7-12.
16. FÖTISCH K, ALTMANN F, HAUSTEIN D, VIETHS S. *Involvement of carbohydrate epitopes in the IgE response of celery-allergic patients*. Int Arch Allergy Immunol 1999; 120: 30-42.
17. ANLIKER MD, REINDL J, VIETHS S, WÜTHRICH B. *Allergy due to ingestion of persimmon (Diospyros kaki): detection of specific IgE and crossreactivity to profilin and carbohydrate determinants*. J Allergy Clin Immunol 2001; 107: 718-23.
18. MARI A, IACOVACCI P, AFFERNI C, BARLETTA B, TINGHINO R, DI FELICE G ET AL. *Specific IgE to cross-reactivity carbohydrate determinants strongly affect the in vitro diagnosis of allergic diseases*. J Allergy Clin Immunol 1999; 103: 1005-11.
19. VAN REE R. *Clinical importance of cross-reactivity in food allergy*. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2004; 4: 235-40.
20. VAN REE R, AALBERSE RC. *Specific IgE without clinical allergy*. J Allergy Clin Immunol 1999; 103: 1000-1.
21. MIRALLES JC, CARAVACA F, GUILLÉN F, LOMBARDEO M, NEGRO JM. *Cross-reactivity between Platanus pollen and vegetables*. Allergy 2002; 57: 156-9.
22. ENRIQUE E, CISTERÓ-BAHIMA A, BARTOLOMÉ B, ALONSO R, SAN MIGUEL-MONCÍN MM, BARTRA J, ET AL. *Platanus acerifolia pollinosis and food allergy*. Allergy 2002; 57: 351-6.
23. ENRIQUE E, BARTOLOMÉ B, SAN MIGUEL-MONCÍN MM, ALONSO R, BARTRA J, CISTERÓ-BAHIMA A. *Implicación de las profilinas en la reactividad cruzada entre alimentos y polen de Platanus acerifolia (abstract)*. Alergol Immunol Clin 2001; 16 (sup 2): 197-8.
24. SCHEURER S, CISTERÓ-BAHIMA A, SAN MIGUEL-MONCÍN MM, ENRIQUE E, RETZEK M, HAASE T, ET AL. *Immunological properties of lipid transfer proteins, a family of potentially severe food panallergens (abstract)*. XVIII Congress of the ICACI. Vancouver. September 2003.
25. ENRIQUE E. *Reactividad cruzada entre polen de Platanus acerifolia y alimentos*. En Cisteró-Bahima A, Enrique E, eds. *Reactividad cruzada en alergia a alimentos. Aplicación de las técnicas de biología molecular*. Barcelona, MRA ediciones, 2004. 189-96.
26. JUHLIN-DANNFELDT C. *About the occurrence of various forms of pollen allergy in Sweden*. Acta Med Scand 1948; 26: 367-8.
27. TUFT L, BLUMENSTEIN GI. *Studies in food allergy*. J Allergy 1942; 13: 574-81.
28. HOFFMANN-SOMMERGRUBER K, DEMOLY P, CRAMER R, BREITENEDER H, EBNER C, LAIMER DA, CAMARA MACHADO M ET AL. *IgE reactivity to Api g 1, a major celery allergen, in a Central European population is based on primary sensitization by Bet v 1*. J Allergy Clin Immunol 1999; 104: 478-84.
29. ASERO R, MASSIRONI F, VELATI C. *Detection of pronostic factors for oral allergy syndrome in patients with birch pollen hypersensitivity*. J Allergy Clin Immunol, 1996; 97: 611-6.
30. SICHERER SH. *Clinical implications of cross-reactive food allergens*. J Allergy Clin Immunol, 2001; 108: 881-90.
31. ORTOLANI C, BALLMER-WEBER BK, HANSEN KS, ISPANO M, WÜTHRICH B, BINDSLEV-JENSEN C ET AL. *Hazelnut allergy: a double-blind, placebo-controlled food challenge multicenter study*. J Allergy Clin Immunol 2000; 105: 577-581.
32. SKAMSTRUP HANSEN K, VESTERGAARD H, STAHL SKOV P, SONDERGAARD KHINCHI M, VIETHS S, POULSEN LK, ET AL. *Double-blind, placebo-controlled food challenge with apple*. Allergy 2000; 56: 109-117.
33. BALLMER-WEBER BK, SCHEURER S, FRITSCH K, ENRIQUE E, CISTERÓ-BAHIMA A, HAASE T ET AL. *Component resolved diagnosis using recombinant allergens in patients with cherry allergy*. J Allergy Clin Immunol 2002; 110: 167-73.
34. ETESAMIFAR M, WÜTHRICH B. *IgE-vermittelte Nahrungsmittelallergie bei 383 Patienten unter Berücksichtigung des oralen Allergie-Syndroms*. Allergologie 1998; 21: 451-7.
35. <http://www.allergen.org/List.htm>
36. KARAMLOO F, SCHMITZ N, SCHEURER S, FÖTISCH K, HOFFMANN A, HAUSTEIN D, ET AL. *Molecular cloning and characterization of a birch pollen minor allergen, Bet v 5, belonging to a family of isoflavone reductase-related proteins*. J Allergy Clin Immunol 1999; 104: 991-9.
37. FRITSCH R, BOHLE B, VOLLMANN U, WIEDERMANN U, JAHN-SCHMID B, KREBITZ M ET AL. *Bet v 1, the major birch pollen allergen, and Mal d 1, the major apple allergen, cross-react at the level of allergen-specific T helper cells*. J Allergy Clin Immunol 1998; 102: 679-86.
38. IPSSEN H, LOWENSTEIN H. *Isolation and immunochemical characterization of the major allergen of birch pollen (Betula verrucosa)*. J Allergy Clin Immunol 1983; 72: 150-9.
39. BREITENEDER H, PETTENBURGER K, BITO A, KRAFT D, RUMPOLD H, SCHEINER O, ET AL. *The gene coding for the major birch allergen, Bet v1, is highly homologous to a pea disease resistance response gene*. EMBO J, 1989; 8: 1935-8.
40. WENSING M, AKKERDAAS J, VAN LEEUWEN A, STAPEL SO, BRUIJNZEEL-KOOMEN C, AALBERSE RC ET AL. *IgE to Bet v1 and profilin: Cross-reactivity patterns and clinical relevance*. J Allergy Clin Immunol 2002; 110: 435-42.

41. HOFFMANN-SOMMERGRUBER, K. *Plant allergens and pathogenesis-related proteins. What do they have in common?* Int Arch Allergy Immunol 2000;122:155-66.
42. EBNER C, HIRSCHWEHR R, BAUER L, BREITENEDER H, VALENTA R, EBNER H ET AL. *Identification of allergens in fruits and vegetables: IgE cross-reactivities with the important birch pollen allergens Bet v 1 and Bet v 2 (birch profilin).* J Allergy Clin Immunol 1995;95:962-9.
43. WELLHAUSEN A, SCHÖNING B, PETERSEN A, VIETHS S. *IgE binding to a new cross-reactive structure: a 35-kDa protein in birch pollen, exotic fruit and other plant foods.* Z Ernährungswiss 1996;35:348-55.
44. BALLMER-WEBER BK, HOFFMANN A, WÜTHRICH B, LUTTKOPF D, POMPEI C, WANGORSCH A ET AL. *Influence of food processing on the allergenicity of celery: DBPCFC with celery spice and cooked celery in patients with celery allergy.* Allergy 2002;57:228-35.
45. ASERO R. *Effects of birch pollen-specific immunotherapy in apple allergy in birch pollen-hypersensitive patients.* Clin Exp Allergy 1998;28:1366-73.
46. KELSO JM, JONES RT, TELLEZ R, YUNGINGER JW. *Oral allergy syndrome successfully treated with pollen immunotherapy.* Ann Allergy Asthma Immunol 1995;74:391-6.
47. MOLLER C. *Effect of pollen immunotherapy on food hypersensitivity in children with birch pollinosis.* Ann Allergy 1999;62:343-5.
48. ASERO R. *How long does the effect of birch pollen injection SIT on apple allergy last?* Allergy 2003;58:435-8.
49. BOLHAAR ST, TIEMESSEN MM, ZUIDMEER L, VAN LEEUWEN A, HOFFMANN-SOMMERGRUBER K, BRUIJNZEEL-KOOMEN CA ET AL. *Efficacy of birch-pollen immunotherapy on cross-reactive food allergy confirmed by skin test and double-blind food challenges.* Clin Exp Allergy 2004;34:761-9.
50. GARCÍA ORTIZ JC, COSMES PM, LÓPEZ-ASUNSOLO A. *Allergy to foods in monosensitized to Artemisia pollen.* Allergy 1996;51: 927-31.
51. REIDER N, SEPP N, FRITSCH P, WEINLICH G, JENSEN-JAROLIM E. *Anaphylaxis to camomile: clinical features and allergen cross-reactivity.* Clin Exp Allergy 2000; 30: 1436-43.
52. DE LA TORRE MORÍN F, SÁNCHEZ MACHÍN I, GARCÍA ROBAINA JC, FERNÁNDEZ-CALDAS E, SÁNCHEZ TRIVIÑO M. *Clinical cross-reactivity between Artemisia vulgaris and Matricaria chamomilla (chamomile).* J Invest Allergol Clin Immunol 2001;11:118-22.
53. BAUER L, EBNER C, HIRSCHWEHR R, WÜTHRICH B, PICHLER C, FRITSCH R, ET AL. *IgE cross-reactivity between birch pollen, mugwort pollen and celery is due to at least three distinct cross-reacting allergens: immunoblot investigation of the birch-mugwort-celery syndrome.* Clin Exp Allergy 1996; 26:1161-70.
54. HOFFMANN-SOMMERGRUBER K, O'RIORDAIN G, AHORN H, EBNER C, LAIMER DA, CAMARA MACHADO M, PÜHRINGER H ET AL. *Molecular characterization of Dau c1, the Bet v1 homologous protein from carrot and its cross-reactivity with Bet v1 and Api g1.* Clin Exp Allergy 1999;29:840-7.
55. VALLIER P, DECHAMP C, VALENTA R, VIAL O, DEVILLER P. *Purification and characterization of an allergen from celery immunochemically related to an allergen present in several other plant species. Identification as a profilin.* Clin Exp Allergy 1992;22:774-82.
56. MONEO I, GÓMEZ M, SÁNCHEZ-MONGE R, ALDAY E, DE LAS HERAS M, ESTEBAN I ET AL. *Lack of crossreaction with Bet v1 in patients sensitized to Dau c1, a carrot allergen.* Ann Allergy Asthma Immunol 1999;83:71-5.
57. STÄGER J, WÜTHRICH B, JOHANSSON SGO. *Spice allergy in celery-sensitive patients.* Allergy 1991;46:475-8.
58. LEITNER A, JENSEN-JAROLIM E, GRIMM R, WÜTHRICH B, EBNER H, SCHEINER O, ET AL. *Allergens in pepper and paprika. Immunologic investigation of the celery-birch-mugwort-spice syndrome.* Allergy 1998; 53 :36-41.
59. LAFFER S, VRTALA S, DUCHENE M, VAN REE R, KRAFT D, SCHEINER O ET AL. *IgE-binding capacity of recombinant timothy grass (Phleum pratense) pollen allergens.* J Allergy Clin Immunol 1994; 94: 88-94.
60. ASERO R, MISTRELLO G, RONCAROLO D, AMATO S, ZANONI D, BAROCCI F, ET AL. *Detection of clinical markers of sensitization to profilins in patients allergic to plant-derived foods.* J Allergy Clin Immunol 2003;112:427-32.
61. VAN REE R, FERNÁNDEZ- RIVAS M, CUEVAS M, VAN WIJNGAARDEN M, AALBERSE RC. *Pollen-related allergy to peach and apple: an important role of profilin.* J Allergy Clin Immunol 1995; 95:726-34.
62. VAN REE R, AALBERSE RC. *Pollen vegetable food cross-reactivity-serological and clinical relevance of cross-reactivity IgE.* J Clin Immunoassay 1993;16:124-30.
63. BATANERO E, CRESPO JF, MONSALVE RI, MARTÍN-ESTEBAN M, VILLALBA M, RODRÍGUEZ R. *IgE binding and histamine-release-capabilities of the main carbohydrate component isolated from the major allergen of olive tree pollen Ole e1.* J Allergy Clin Immunol 1999;103:147-53.
64. VAN REE R, HOFFMAN DR, VAN DIJK W, BRODARD V, MAHIEU K, KOELEMAN CA, ET AL. *Lol p11, a new major grass pollen allergen, is a member of a family of soybean trypsin inhibitor-related proteins.* J Allergy Clin Immunol 1995;95:970-8.
65. FOETISCH K, WESTPHAL S, LAUER I, RETZEK M, ALTMANN F, KOLARICH D, ET AL. *Biological activity of IgE specific cross-reactive carbohydrate determinants.* J Allergy Clin Immunol 2003;111:889-96.
66. LÜTTKOPF D, BALLMER-WEBER BK, WÜTHRICH B, VIETHS S. *Celery allergens in patients with positive double-blind placebo-controlled food challenge.* J Allergy Clin Immunol 2000;106:390-9.

Polinosis e inmunoterapia

IGNACIO DAVILA GONZÁLEZ

Médico Adjunto del Servicio de Alergia
del Hospital Universitario de Salamanca
Profesor Asociado de Alergología de la Facultad
de Medicina de la Universidad de Salamanca

ESTHER MORENO RODILLA

Médico Adjunto del Servicio
de Alergia del Hospital
Universitario de Salamanca

INTRODUCCIÓN

Hace ahora casi una centuria que la inmunoterapia fue introducida por Noon¹ en el tratamiento de la alergia al polen, mucho antes incluso de conocer los mecanismos implicados en las reacciones de hipersensibilidad inmediata. Si bien Noon administraba este tratamiento creyendo, de acuerdo con las teorías de la época, que la polinosis se debía a una toxina que estaba presente en el polen, pudo objetivar una mejoría clínica en los pacientes; además, observó que esta mejoría se mantenía incluso un año después de suspender el tratamiento. Aunque durante este último siglo se han realizado notables avances en el conocimiento de las reacciones alérgicas y en su tratamiento, aún es posible afirmar que la inmunoterapia específica ocupa un papel central en el arsenal terapéutico de las enfermedades alérgicas, y que, incluso hoy en día, constituye el único método de tratamiento capaz de modificar la evolución natural de la enfermedad.

La inmunoterapia específica se basa en la administración de dosis progresivamente crecientes de un alérgeno, con el objetivo de modificar la respuesta inmunológica y clínica al mismo y, por lo tanto, de reducir o eliminar los síntomas debidos a su exposición. Desde los estudios pioneros de Noon y Freeman, se han realizado múltiples ensayos clínicos que han demostrado su eficacia en el tratamiento de la rinitis y el asma debidas a una hipersensibilidad a los pólenes.

En la actualidad, existen dos grandes tipos de inmunoterapia según la vía de administración, consagrados por el uso y los estudios clínicos: la inmunoterapia subcutánea (ITS) y la inmunoterapia sublingual (ITSL).

MECANISMO DE ACCIÓN DE LA INMUNOTERAPIA

La diferenciación, el fenotipo y la actividad de las células T específicas de alérgeno pueden ser reguladas, al menos parcialmente, por factores propios de éste, como la dosis administrada, la conformación antigénica o la vía de penetración en el organismo. Por lo tanto, es posible modular a las células T específicas de alérgeno mediante el empleo de antígenos. Tal es el principio de la inmunoterapia; si a esto se añade que el perfil de los alérgenos y de los epitopos no se modifica de modo significativo a lo largo del curso de la enfermedad, quedan establecidas las bases para un tratamiento inmunológico de las enfermedades alérgicas.

Aunque existen numerosos estudios que documentan claramente la eficacia de la inmunoterapia, su mecanismo de acción no se conoce completamente. Se pueden reconocer una serie de modificaciones que se producen sobre determinados parámetros inmunológicos durante el tratamiento, así como sus efectos sobre la célula T, en los cuales probablemente resida su mecanismo de acción (tabla 1).

TABLA 1.

EFECTOS INMUNOLÓGICOS DE LA INMUNOTERAPIA	
Parámetro inmunológico	Efecto
IgE específica de alérgeno	Incremento inicial, seguido de un descenso posterior Abolición del pico estacional
IgG específica de alérgeno	Incremento de IgG1 e IgG4 Actividad bloqueante
Células efectoras de las reacciones alérgicas (eosinófilos, basófilos, mastocitos)	Disminución de la infiltración tisular del órgano diana Disminución de la liberación de mediadores
Citocinas	Disminución de las citocinas Th2 (IL-4, IL-13) Incremento de las citocinas Th1 (INF- γ , IL-12) Incremento de las citocinas reguladoras (IL-10, TGF β)
Células T	Disminución de las células Th2 Incremento de las células Th1 Incremento de las células T reguladoras

MODIFICACIONES HUMORALES INDUCIDAS POR LA INMUNOTERAPIA

1) Inmunoglobulina E

Durante el tratamiento con inmunoterapia subcutánea se produce un ascenso inicial de los niveles de IgE específica, que disminuyen posteriormente a lo largo de varios meses hasta los niveles de partida. Además, en el caso concreto de la inmunoterapia con pólenes, se pueden abolir o reducir los incrementos de IgE específica que habitualmente se producen durante la época de polinización². Sin embargo, al tiempo que se modifican los niveles de la IgE se produce una disminución de la liberación de histamina por los basófilos³ o una reducción de la sensibilidad del órgano diana⁴. Sin embargo, estos cambios en la IgE no guardan una estrecha correlación con la respuesta clínica a la inmunoterapia⁵.

2) Inmunoglobulina G

Durante el tratamiento con inmunoterapia se observa un incremento de la IgG específica de alérgeno, observándose una relación cuantitativa entre la dosis administrada y los niveles de IgG específica. Cuando se analizan las subclases de IgG implicadas, se observa un incremento de los valores de IgG₁ e IgG₄, con escasa modificación de los valores de IgG₂ e IgG₃^{6,7}. En estos incrementos se basaba la teoría de los “anticuerpos bloqueantes”, que postulaba que la IgG competiría con la IgE por la unión al alérgeno, bloqueando, de este modo, la activación mastocitaria dependiente de la IgE. Sin embargo, cuando se ha tratado de buscar una correlación entre las modificaciones de la IgG y la mejoría clínica, en líneas generales no se ha encontrado^{5,8}. Sin embargo, estudios muy recientes han relanzado el interés de la teoría de los anticuerpos bloqueantes. Así, algunos estudios han demostrado que estos anticuerpos IgG compiten con la IgE en sus lugares de unión al alérgeno, lo que previene la activación de los basófilos y, en consecuencia, la liberación de los mediadores biológicos⁹. Además, van Neerven y cols⁹ demostraron que los anticuerpos bloqueantes producidos durante el tratamiento con inmunoterapia, previenen la activación de linfocitos CD4⁺ al inhibir la presentación de alérgenos mediada por la IgE a las células T, lo que podría reducir la activación de las células Th2 y la consiguiente liberación de citocinas Th2. También se ha demostrado en un reciente estudio que la inmunoterapia con pólenes puede inducir respuestas IgG₄ “protectoras” específicas del alérgeno y dependientes de la IL-10¹⁰.

3) Otras inmunoglobulinas

No se han observado modificaciones de la inmunoterapia sobre la IgA sérica¹¹. En general, no existen datos concluyentes sobre el papel de la IgM y la IgD durante el tratamiento con inmunoterapia¹².

EFEECTO DE LA INMUNOTERAPIA SOBRE LAS CÉLULAS EFECTORAS DE LAS REACCIONES ALÉRGICAS

Una de los posibles acciones de la inmunoterapia pudiera ser sobre los eosinófilos. Se ha podido comprobar, en los pacientes tratados con inmunoterapia, una reducción de la infiltración de eosinófilos en los distintos órganos tras la exposición al alérgeno¹³. Otro posible nivel de actuación de la inmunoterapia sería su efecto sobre los basófilos y mastocitos. Se ha observado, si bien de modo inconstante, que la inmunoterapia es capaz de incrementar notablemente la dosis de alérgeno requerida para producir liberación de histamina por parte de los basófilos^{14,15}. También se ha observado una disminución de la liberación de mediadores en la mucosa nasal tras el tratamiento con inmunoterapia¹⁶. Asimismo, disminuye el número de mastocitos en el órgano de choque¹⁷.

En conjunto, se piensa que estos cambios podrían ser más importantes en el caso de las pautas rápidas. No parece que el efecto duradero de la inmunoterapia se pueda justificar por los cambios en las células efectoras, dada la corta vida media de éstas.

EFEECTO DE LA INMUNOTERAPIA SOBRE LA RESPUESTA LINFOCITARIA

La célula T

Los estudios más recientes han demostrado que la inmunoterapia convencional produce una disminución de los niveles de IL-4 y un incremento de los niveles de INF- γ , es decir, o bien una disminución de las respuestas Th2 o un incremento de las respuestas Th1. Se ha comprobado una reducción local de células T CD4⁺; estos cambios se acompañan de un incremento de la subpoblación de células CD4⁺ que expresan mRNA para INF- γ después de la exposición al alérgeno, mientras que no se incrementan las subpoblaciones de células que expresan mRNA para IL-4 e IL-5¹⁸. En el órgano de choque, el incremento de células positivas para INF- γ se correlaciona con la respuesta a la inmunoterapia. Estos autores sugirieron que podría tratarse de un cambio desde un fenotipo Th2 (productor de IL-4, IL-5, IL-10, e IL-13) a un fenotipo Th1 (productor de IL-2, IFN- γ y TNF- β). Además, estas respuestas pueden ser amplificadas o mantenidas por la producción local de IL-12¹⁹, una interleucina que induce respuestas Th1 y cuyo origen se sitúa en los macrófagos tisulares. La mayoría de los estudios sugieren que el mecanismo básico sería el cambio Th2 a Th1²⁰⁻²⁴. El mecanismo que subyace debajo de este cambio no está aún bien aclarado. Los factores que determinan la respuesta Th1 o Th2 incluyen la naturaleza del antígeno (alérgeno en este caso), la dosis del mismo y la naturaleza de las células presentadoras del antígeno. La presentación de antígenos a bajas dosis por las células B o las células dendríticas favorece las respuestas Th2, mientras que el procesamiento y presentación de antígenos a dosis altas por parte de los macrófagos favorece las respuestas Th1.

Recientemente, se ha descrito que la inmunoterapia con pólenes de gramíneas o con venenos de himenópteros, induce la aparición de células T colaboradoras CD4⁺CD25⁺²⁵, denominadas células T reguladoras, que son capaces de reducir tanto la respuesta Th1 como la respuesta Th2 mediante la producción de IL-10 o de TGF- β .

Otra posibilidad que se discute es si la inmunoterapia produce una anergia selectiva de la célula T²¹. En este sentido podría ser importante la IL-10, mediante una inhibición selectiva de la vía de coestimulación del CD28²¹.

La célula B

En un estudio se ha demostrado una abolición del incremento de la expresión de CD19, CD40 y HLA-DR en la superficie de las células B durante la época de polinización en los pacientes tratados con inmunoterapia²⁶. Se ha demostrado también una reducción en los niveles de expresión de CD23 en la superficie de las células B²⁷.

INMUNOTERAPIA SUBLINGUAL

No están claros los mecanismos de acción de la inmunoterapia sublingual. En principio, cabe suponer que esta vía puede utilizar los mecanismos de tolerancia oral, cuya implicación está claramente establecida en el caso de los antígenos alimentarios. El sistema inmunitario de las mucosas se caracteriza porque tiene un gran número de células dendríticas especializadas en la captación de los antígenos, con un escaso número de mastocitos y de eosinófilos. Su respuesta principal de anticuerpos es del tipo IgA. En líneas generales, existen datos de eficacia y seguridad de la ITSL, pero son escasos los estudios en los que se demuestran alteraciones inmunológicas durante su utilización. En algunos estudios se han demostrado cambios en los niveles de IgE y de IgG (incluyendo IgG₄) específicas del alérgeno, si bien con escasa correlación con los datos clínicos²⁸⁻³². En otros estudios, sin embargo, no se han objetivado tales cambios³³⁻³⁶. Existen también algunos datos sobre otras modificaciones inmunológicas, si bien los datos están escasamente contrastados. En un estudio de inmunoterapia sublingual-deglutida rápida comprada con placebo³⁷, se encontró una disminución de la infiltración de neutrófilos, eosinófilos y de la expresión de ICAM-1 en la provocación nasal en el grupo tratado con inmunoterapia sublingual. Otro estudio³⁸ ha demostrado que la inmunoterapia sublingual no induce un incremento en los niveles de proteína catiónica de los eosinófilos ni de triptasa sublinguales. Yuksel y col.³⁹ han descrito que la administración de ITSL produce una reducción significativa de los niveles de leucotrieno C₄ en orina en los pacientes con rinitis alérgica pero no así en los pacientes con asma. Reich y col.⁴⁰ también han descrito, tras un año de tratamiento con ITSL, una reducción en los niveles plasmáticos de ICAM-1, IL-2R y E-selectina, sin que se modificasen los niveles de IL-12 ni de IgG4.

INMUNOTERAPIA SUBCUTÁNEA

Es la forma más frecuente de administración de la inmunoterapia y la más estudiada.

Tipos de vacunas

Las vacunas utilizadas para inmunoterapia pueden ser tanto vacunas no modificadas o acuosas como vacunas modificadas por procedimientos físicos o químicos.

- 1 Vacunas acuosas: La mayoría de estas vacunas son mezclas heterogéneas de alérgenos y materiales no alérgénicos.

2. Vacunas modificadas: El objetivo de estas vacunas es reducir o eliminar la alergenicidad, es decir, la capacidad de inducir la reacción mediada por IgE, y al mismo tiempo conservar o aumentar la inmunogenicidad. Pueden realizarse distintos tipos de modificaciones:
- Modificaciones física, que incluye la adsorción a determinadas sustancias como el aluminio, fosfato cálcico, tirosina o los liposomas, dando lugar a las vacunas depot.
 - Modificaciones químicas con sustancias como el formaldehído, el glutaraldehído o el alginato, dando lugar a los denominados alergoides.
 - Modificaciones combinadas: Vacunas modificadas física y químicamente, como aquellas modificadas por glutaraldehído y adsorbidas a tirosina o las vacunas de formaldehído adsorbidas a hidróxido de aluminio.

MANEJO PRÁCTICO DE LA INMUNOTERAPIA SUBCUTÁNEA

La inmunoterapia específica con pólenes puede administrarse pre-estacionalmente o con pautas perennes o co-estacionales. En el primer caso la administración de la inmunoterapia suele iniciarse en el otoño suspendiéndose al comenzar la primavera y la sintomatología del paciente. La principal ventaja de este tipo de pautas es que se reduce riesgo de que se produzcan reacciones sistémicas en los pacientes durante la época de síntomas sobre todo en pacientes asmáticos. En los últimos años, sin embargo, ha aumentado el interés por las pautas co-estacionales en las que la inmunoterapia se va a administrar a lo largo de todo el año lo que se supone derivará en un mayor beneficio clínico al conseguirse mayores dosis acumuladas. En muchos casos la dosis de mantenimiento se reducirá en los meses de polinización para disminuir el riesgo de reacciones en esa época.

La inmunoterapia tanto pre-estacional como co-estacional puede administrarse según diferentes pautas:

- *Pautas convencionales*: Se administran dosis semanales ascendentes hasta llegar a una dosis de mantenimiento. El tiempo necesario para conseguir esta dosis de mantenimiento oscila entre las 10 y 14 semanas.
- *Pautas ultrarrápidas*: En este tipo de pautas se administran varias dosis en un día con intervalos habitualmente de unos 30 minutos. Se emplean extractos acuosos y deben administrarse en el hospital. La principal ventaja de este tipo de pautas reside en que la dosis de mantenimiento se consigue en horas o pocos días. Entre las desventajas, destaca el posible mayor riesgo de reacciones adversas aunque esto no está del todo claro.
- *Pautas agrupadas o cluster*: La vacuna se administra en visitas semanales pero en cada una de ellas se inyectan varias dosis crecientes con intervalos que varían entre los 30 minutos y las 2 horas. La dosis máxima se consigue entre 3 y 6 semanas y su administración puede ser hospitalaria o ambulatoria. Pueden utilizarse además extractos acuosos o depot.

En los últimos años ha aumentado mucho el interés por este tipo de pautas. El acortamiento en la fase de iniciación supone una mayor comodidad para los pacientes al reducirse el número de visitas y probablemente una disminución en el tiempo necesario para conseguir una mejoría clínica. El principal inconveniente sería la posibilidad de que se produzcan mayor número de reacciones adversas. En este sentido recientemente se ha realizado en nuestro país un estudio de tolerancia de pautas agrupadas con extractos depot de pólenes⁴¹. Se trata de trabajo multicéntrico, prospectivo y abierto en el que fueron incluidos 306 pacientes con rinoconjuntivitis y/o asma por pólenes de gramíneas u olivo. Se siguió una pauta de inicio de 4 visitas con 2 inyecciones en cada visita. Se registraron reacciones sistémicas en un 9,5% pacientes, leves en su mayoría, y locales en un 7%. La frecuencia de reacciones no estaba en relación con que el extracto admi-

nistrado fuera de gramíneas u olivo, ni con el diagnóstico del paciente (rinitis o asma), a excepción de las reacciones sistémicas inmediatas que fueron más frecuentes en asmáticos. La mayoría de las reacciones se produjeron al iniciar el vial de máxima concentración, siendo sobre todo reacciones tardías.

EFICACIA CLÍNICA

La inmunoterapia específica con alérgenos ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de la rinitis y el asma, en diversos estudios doble ciego y controlados con placebo, tanto en niños como en adultos. La eficacia de la inmunoterapia subcutánea con extractos de polen se ha valorado en los diferentes estudios utilizando parámetros de intensidad de síntomas, de uso de la medicación y comparando la respuesta en las pruebas de exposición controlada nasal, bronquial u ocular antes y después del tratamiento.

La mayoría de los estudios de eficacia clínica de la inmunoterapia con pólenes se han realizado en pacientes con rinitis. La eficacia ha sido documentada científicamente en gran parte de los estudios doble ciego y controlados con placebo en rinitis por hipersensibilidad a pólenes de gramíneas⁴²⁻⁴⁸, de ambrosía⁴⁹⁻⁵¹, de parietaria^{52,53}, de abedul⁵⁴, o de olivo⁵⁵.

Otros estudios han evaluado la eficacia de la inmunoterapia con pólenes en el asma. En general, han demostrado que la inmunoterapia tiene un efecto beneficioso sobre los síntomas, la necesidad de medicación y sobre la hiperreactividad bronquial tanto específica como inespecífica^{4,26,56-65}.

En un metanálisis publicado en el año 2003, en el que se usó el método de la colaboración Cochrane, se demostró que la inmunoterapia específica es eficaz para el tratamiento del asma⁶⁶. Este meta-análisis es una actualización de uno anterior realizado en el año 2001. En él se incluyeron 75 estudios que abarcaron a 3.188 pacientes con asma. De los 72 estudios, 20 correspondían a ensayos con inmunoterapia con pólenes. La principal conclusión de los revisores fue que la inmunoterapia reducía los síntomas del asma y el uso de medicación y mejoraba la hiperreactividad bronquial.

En la tabla 2 se muestran los estudios con pólenes evaluados en dicho metanálisis.

La eficacia de la inmunoterapia depende de la dosis administrada. Así, dosis bajas no son eficaces y las dosis elevadas pueden ser causa de reacciones adversas sistémicas graves. La dosis óptima se define como la dosis que induce un efecto clínico relevante sin producir efectos adversos inaceptables. Esta dosis óptima debe ser el objetivo como dosis de mantenimiento para todos los pacientes. Las dosis entre 5 y 20 µg del alérgeno principal o mayoritario se consideran óptimas para la mayoría de los alérgenos⁶⁷. Así, por ejemplo en un estudio realizado por Creticos y col.⁵⁷ con inmunoterapia con polen de ambrosía, la dosis óptima fue la de 10 µg de Amb a 1. Con esta dosis de mantenimiento se consiguió una reducción significativa de la reactividad bronquial específica frente al polen de ambrosía.

La eficacia a largo plazo de la inmunoterapia específica subcutánea, después de la suspensión de su administración, ha sido demostrada en otros estudios. Durham y col.⁶⁸ en un estudio a doble ciego y controlado con placebo, la administración durante 3-4 años de inmunoterapia con pólenes de gramíneas produjo una mejoría importante en la sintomatología estacional que se mantuvo al menos 3 años después de la suspensión del tratamiento. En otro estudio más reciente de Eng y col.⁶⁹ realizado en niños, también empleando inmunoterapia específica con pólenes de gramíneas, el beneficio clínico fue significativo seis años después de suspendida la vacunación.

Por último, también se ha evaluado en algunos estudios la eficacia de la inmunoterapia específica con pólenes sobre los síntomas del síndrome de alergia oral por frutas. Así, Asero y col.⁷⁰ demuestran que la inmunoterapia específica con polen de abedul reduce o incluso hace desaparecer los síntomas del síndrome de alergia oral por sensibilización a manzana. Además, en otro estudio realizado por estos mismos autores encuentran que los efectos de la inmunoterapia sobre la alergia a la manzana se mantenían a los 30 meses de suspendida la vacuna⁷¹.

TABLA 2.

ESTUDIOS INMUNOTERAPIA CON PÓLENES [TOMADO DE ⁽⁶⁶⁾]				
Referencia	Pólenes	Nº Pacientes	Puntuación síntomas/medicación	HRBE e HRBE
Armentia 1989	Gramíneas	30		HRBE HRBI
Bousquet 1985	Gramíneas	48	Sí	No
Bousquet 1989	Gramíneas	60	Sí	
Bousquet 1990	Gramíneas	57	Sí	
Bruce 1977	Ambrosía	39	Sí	
Creticos 1996	Ambrosía	77	Sí	HRBE
Dolz 1996	Gramíneas	28	Sí	HRBE
Frankland 1954	Gramíneas	200	Sí (síntomas)	
Hakansson 1998	Abedul	24	Sí	HRBI
Hill 1982	Gramíneas	20	Fracaso	
Johnstone 1957	Ambrosía	112	Sí (síntomas)	
Kuna 1989	Gramíneas	24	Sí (síntomas)	HRBI
Machiels 1990	Gramíneas	30	Sí	
Machiels 1991	Gramíneas	51	Sí	
Ortolani 1984	Gramíneas	15	Sí (síntomas)	HRBE
Reid 1986	Gramíneas	18	Sí	
Sin 1996	Gramíneas	31	Sí	
Varney 1991	Gramíneas	40	Sí (síntomas)	
Walker 2000	Gramíneas	44	Sí	HRBI
Zenner 1999	Gramíneas	87	Sí	HRBE

HRBI: hiperreactividad bronquial inespecífica; HRBE: hiperreactividad bronquial específica.

Otro de los aspectos que es necesario considerar es si la inmunoterapia posee un efecto preventivo. En este sentido, en varios trabajos se ha demostrado que en los pacientes que reciben inmunoterapia específica se reduce de manera significativa el riesgo de desarrollar sensibilizaciones a otros alérgenos^{72,73}. Es decir, la inmunoterapia serviría, además de como tratamiento etiológico, como tratamiento preventivo evitando la aparición de nuevas sensibilizaciones. Otros estudios han evaluado la capacidad de la inmunoterapia en la prevención del desarrollo de asma en pacientes con rinitis. Se sabe que entre un 25% y un 50% de los pacientes con rinitis alérgica desarrollarán asma en algún momento de su evolución y en pacientes con rinitis polínica el riesgo de presentar asma es hasta 4 veces superior. Son varios los estudios que han demostrado que la inmunoterapia específica reduce el riesgo de desarrollar asma. El más importante de ellos es quizás, el estudio PAT (Preventive Allergy Treatment)⁷⁴. Este es un estudio prospectivo en el que participaron 205 niños, con edades comprendidas entre los 5 y los 13 años, afectados de rinoconjuntivitis polínica (Phleum o Betula). En este estudio la inmunoterapia demostró ser eficaz disminuyendo de manera significativa los síntomas de los pacientes. También se demostró eficaz en la prevención de asma en los pacientes con rinitis con respecto al grupo control. Además, la inmunoterapia fue un tratamiento seguro sin reacciones adversas graves en ningún caso.

SEGURIDAD

El principal inconveniente de la inmunoterapia específica subcutánea es la posibilidad de que se produzcan reacciones alérgicas sistémicas^{41,66,75-77}. Estas reacciones sistémicas pueden representar una limitación para el uso de inmunoterapia específica. Las reacciones más graves incluyen el asma grave y la anafilaxia. El riesgo de reacciones anafilácticas graves es más bajo en pacientes con rinitis que en pacientes con asma. En el metanálisis publicado en la base Cochrane la incidencia de reacciones sistémicas, en 3 estudios, osciló entre 1/1250 y 1/2206 inyecciones. La mayoría de estas reacciones fueron leves⁶⁶.

La mayoría de las reacciones se suelen producir con las dosis más elevadas. Moreno y col.⁴¹, utilizando una pauta agrupada con extractos de pólenes, encuentran que la mayor parte de las reacciones sistémicas se produjeron con el vial más concentrado. El porcentaje de reacciones sistémicas puede estar también relacionado con el tipo de extracto empleado. En un estudio reciente en el que se analizaron las reacciones producidas por diferentes extractos⁷⁷ se encontraron diferencias en la frecuencia de reacciones, sobre todo con los extractos de pólenes, no sólo en función del alérgeno sino también diferencias dependiendo del fabricante. Los autores concluyeron que es necesario un consenso para la estandarización de extractos de alérgenos para inmunoterapia.

INDICACIONES Y CONTRAINDICACIONES

Las medidas de control ambiental para reducir la exposición a los alérgenos junto con un tratamiento farmacológico apropiado, pueden conseguir un control de los síntomas en los pacientes con síntomas alérgicos. Sin embargo, la evitación de alérgeno en los pacientes afectados de polinosis implicaría medidas de aislamiento domiciliario que afectarían de manera importante a la actividad laboral y social de los pacientes. Por otro lado, la inmunoterapia es el único tratamiento capaz de modificar la historia natural de la enfermedad y en el caso de los pólenes son numerosos los estudios que demuestran la eficacia de la inmunoterapia específica.

Las indicaciones y contraindicaciones de la inmunoterapia específica con alérgenos inhalados han sido establecidas en varias guías elaborados por diferentes grupos de expertos, como el actual documento de consenso realizado en colaboración con la OMS⁶⁷, el documento GINA (Global Initiative for Asthma)⁷⁸ o el documento ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma)⁷⁹ y se encuentran resumidas en las tablas 3 y 4.

TABLA 3.

INDICACIONES DE LA INMUNOTERAPIA ESPECÍFICA	
Rinitis alérgica	Asma alérgica
Cuando el tratamiento farmacológico es insuficiente para controlar los síntomas	Los pacientes no presentan una forma grave de enfermedad: los valores de FEV1 son superiores al 70% del valor esperado tras recibir tratamiento farmacológico
Pacientes que no aceptan el tratamiento farmacológico.	Cuando los síntomas no se controlan adecuadamente tras la evitación del alérgeno y el tratamiento farmacológico
Pacientes en los que la farmacoterapia produce efectos secundarios indeseables	El tratamiento farmacológico produce efectos adversos no deseados
Pacientes que no desean recibir tratamiento farmacológico a largo plazo.	Pacientes que no desean recibir tratamiento farmacológico a largo plazo.

TABLA 4.

CONTRAINDICACIONES DE LA INMUNOTERAPIA ESPECÍFICA	
Absolutas	Relativas
Enfermedades inmunopatológicas e inmunodeficiencias graves	Tratamiento con β -bloqueantes
Neoplasias	Enfermedades cardiovasculares importantes que aumentan el riesgo de efectos secundarios de la adrenalina
Trastornos psicológicos graves.	Asma grave no controlada con el tratamiento farmacológico y/o pacientes con obstrucción irreversible de las vías respiratorias (FEV1 menor del 70%)
	Niños menores de 5 años, a menos que haya una indicación específica
	Escasa aceptación por parte del paciente
	Embarazo

OTRAS FORMAS DE INMUNOTERAPIA

Inmunoterapia nasal

La inmunoterapia nasal puede administrarse tanto de modo pre-estacional como coestacional. Los alérgenos son administrados por el propio paciente, tanto en forma de polvo como en solución (extracto acuoso). Durante la administración del alérgeno, el paciente exhala o vocaliza con el fin de evitar la deposición bronquial del alérgeno. Los extractos se administran diariamente o en días alternos durante la fase de inducción y posteriormente semanalmente durante la fase de mantenimiento.

La eficacia de la inmunoterapia nasal en pacientes con polinosis ha sido valorada en diferentes estudios con inmunoterapia con pólenes (gramíneas, abedul, parietaria y ambrosía) demostrando la mayoría de ellos una eficacia clínica significativa a corto plazo, que sin embargo, no se ha observado en los estudios a largo plazo⁸⁰⁻⁸³. De esta forma, la inmunoterapia nasal sólo podría recomendarse actualmente como tratamiento profiláctico pre-estacional para la rinitis inducida por polen⁸⁴.

Los efectos secundarios más frecuentes incluyen fundamentalmente síntomas locales (nasales) como prurito, estornudos e irritación. El principal problema de la inmunoterapia nasal es que puede inducir síntomas asmáticos.

Inmunoterapia oral

La eficacia de la inmunoterapia oral no está suficientemente documentada y el Grupo de Trabajo sobre Inmunoterapia Local de la EAACI no recomienda este tipo de inmunoterapia para su uso clínico⁸⁴.

En algunos estudios con inmunoterapia con pólenes se ha encontrado una eficacia clínica con una reducción significativa de los síntomas después del tratamiento. Entre estos se incluyen varios estudios realizados con pólenes de abedul, ambrosía y gramíneas⁸⁵⁻⁸⁷. Alguno de ellos se han realizado con polen de gramíneas microencapsulado⁸⁸.

Se han descrito efectos secundarios sistémicos con la inmunoterapia oral tales como rinitis, urticaria y un caso de asma. También se describen efectos secundarios gastrointestinales atribuidos a las dosis requeridas para que la vacuna sea eficaz por vía oral.

Inmunoterapia sublingual

Eficacia clínica

La inmunoterapia sublingual puede administrarse de dos formas diferentes; una estrictamente sublingual, donde el extracto se mantiene en la boca para que se produzca la absorción a través de la mucosa oral y después se escupe (sublingual escupida), o bien la administración combinada sublingual/oral donde el extracto se traga después de un cierto tiempo en la boca (sublingual deglutida). En el actual documento del grupo de trabajo sobre Inmunoterapia sólo se atribuye a este último método de inmunoterapia pruebas de eficacia clínica⁶⁷.

La inmunoterapia sublingual se utiliza tanto de modo pre-estacional como co-estacional. Los pacientes se administran la vacuna en casa, como solución acuosa, diariamente o cada 2 días en la fase de inducción, y de 1 a 3 veces por semana durante la fase de mantenimiento.

En la mayoría de los estudios realizados con inmunoterapia sublingual en pacientes con rinitis alérgica inducida por pólenes se observa una reducción en las puntuaciones de síntomas y medicación. El grupo de trabajo ARIA⁷⁹ ha adjudicado el grado más alto "A" (de acuerdo a los criterios de la medicina basada en pruebas) de eficacia a la inmunoterapia sublingual en el tratamiento de la rinitis estacional y perenne en adultos y en la rinitis estacional en niños. Sin embargo, esto es aplicable sólo para altas dosis de inmunoterapia sublingual-deglutida, en la cual la dosis es de 50 a 100 veces más alta en comparación con la forma subcutánea.

La eficacia de la inmunoterapia específica sublingual con dosis altas de alérgenos se ha documentado en estudios doble ciego-controlados con placebo en rinitis alérgicas por hipersensibilidad a diferentes pólenes^{31,51,89-95}. También se ha demostrado su eficacia en el asma. Así, en un estudio realizado en Grecia³⁶, la administración sublingual de un extracto de polen de olivo a altas dosis produjo un descenso significativo de la disnea durante la época polinización del olivo en niños con rinoconjuntivitis y asma leve. Pajno y col.⁹⁶ estudian 30 niños alérgicos a parietaria, en los que evalúan la respuesta al tratamiento con inmunoterapia sublingual más fluticasona inhalada, concluyendo que la ITSL no añade ningún efecto adicional al de la fluticasona sobre los síntomas bronquiales, pero mejora los síntomas no bronquiales. En un metanálisis publicado recientemente sobre la inmunoterapia sublingual deglutida⁹⁷ se evaluaron 22 estudios que incluyeron 979 pacientes. Del total de estudios, 5 fueron realizados con inmunoterapia con pólenes de gramíneas, 5 con Parietaria, 2 con olivo, uno con ambrosía y otro con Cupressus. Analizados en conjunto, se encontró una reducción significativa en la puntuación de síntomas y en la necesidad de medicación. En este metanálisis se incluyeron 4 estudios que englobaron a niños no encontrando en éstos una mejoría significativa con el tratamiento. No obstante, los autores concluyen que el número de estudios es insuficiente para sacar conclusiones.

La eficacia de la IT sublingual con pólenes comparada con la administración subcutánea ha sido valorada en algunos estudios. En uno de ellos³², la inmunoterapia con pólenes de gramíneas produjo una reducción del 50% en la escala de síntomas con las dos vías de administración. Sin embargo, este ensayo no incluyó un grupo placebo. En otro estudio publicado recientemente⁹⁸, se analizó la eficacia de la inmunoterapia sublingual y subcutánea comparadas con el placebo en pacientes con alergia a pólenes de gramíneas. En este estudio controlado con placebo, a doble-cego y con doble enmascaramiento, la IT sublingual disminuyó la gravedad de los síntomas a la mitad y la subcutánea a un tercio comparado con el placebo. No se encontraron diferencias significativas en la eficacia al comparar las 2 vías de administración aunque esto podría estar en relación con escaso número de pacientes evaluado. Por otro lado, la inmunoterapia sublingual produjo sólo reacciones locales leves mientras que la administración subcutánea se relacionó con algunos efectos secundarios sistémicos graves. El problema de este estudio es que únicamente se analizó un año de los dos estudiados.

También existen algunos datos sobre la duración del efecto tras la suspensión de la ITSL. Así, Di Rienzo y col.⁹⁹ objetivaron, comparando un grupo tratado con ITSAL y otro con farmacoterapia que la aquélla mantenía su eficacia clínica hasta 4-5 años después de haber sido suspendida. Por su parte, Mandonni y col.¹⁰⁰ en

un estudio de seguimiento a largo plazo, observan que en más del 80% de los pacientes tratados con ITSL se mantienen los efectos beneficiosos obtenidos y que se previene la aparición de nuevas sensibilizaciones.

Las indicaciones para la inmunoterapia sublingual serían las mismas de la inmunoterapia subcutánea⁷⁹.

Seguridad

No se han registrado efectos secundarios graves en adultos y en la mayoría de los estudios no se encontraron diferencias entre el grupo tratado activamente y el grupo placebo. Los efectos secundarios más frecuentes fueron los efectos locales como el prurito en lengua, nariz o región oral, seguido de los síntomas gastrointestinales (náuseas, vómitos, dolor abdominal). Inicialmente, en algunos estudios realizados en niños se encontró una incidencia mayor de reacciones adversas sistémicas que sin embargo no ha podido ser demostrado en estudios más recientes. En el metanálisis publicado recientemente sobre la inmunoterapia sublingual de glúten⁹⁷ no hubo reacciones anafilácticas ni otras reacciones adversas graves en los 22 estudios examinados. Hubo una incidencia igual de reacciones locales leves en adultos y en niños.

BIBLIOGRAFÍA

1. NOON L. *Prophylactic inoculation against hay fever*. Int Arch Allergy Appl Immunol 1953; 4(4): 285-288.
2. OHASHI Y, TANAKA A, KAKINOKI Y, OHNO Y, SAKAMOTO H, KATO A ET AL. *Effect of immunotherapy on seasonal changes in serum-specific IgE and IgG4 in patients with pollen allergic rhinitis*. Laryngoscope 1997; 107(9): 1270-1275.
3. LENG X, YE ST. *One year observation of immunotherapy for Artemisia hay fever in China: a clinical and immunological study*. Asian Pac J Allergy Immunol 1987; 5(2): 167-172.
4. ARMENTIA-MEDINA A, BLANCO-QUIROS A, MARTIN-SANTOS JM, ALVAREZ-CUESTA E, MONEO-GOIRI I, CARREIRA P ET AL. *Rush immunotherapy with a standardized Bermuda grass pollen extract*. Ann Allergy 1989; 63(2): 127-135.
5. BOUSQUET J, MAASCH H, MARTINOT B, HEJJAOUI A, WAHL R, MICHEL FB. *Double-blind, placebo-controlled immunotherapy with mixed grass-pollen allergoids. II. Comparison between parameters assessing the efficacy of immunotherapy*. J Allergy Clin Immunol 1988; 82(3 Pt 1): 439-446.
6. BIRKNER T, RUMPOLD H, JAROLIM E, EBNER H, BREITENBACH M, SKVARIL F ET AL. *Evaluation of immunotherapy-induced changes in specific IgE, IgG and IgG subclasses in birch pollen allergic patients by means of immunoblotting. Correlation with clinical response*. Allergy 1990; 45(6): 418-426.
7. GARCIA V, I, HERNANDEZ MD, CAMPOS A, GINER AM, POLO F, CORTES C ET AL. *Immunotherapy with a mass unit Parietaria judaica extract: a tolerance study with evidence of immunological changes to the major allergen Par j 1*. J Investig Allergol Clin Immunol 1999; 9(5): 321-329.
8. ZEISS CR, METZGER WJ, LEVITZ D. *Quantitative relationships between IgE antibody and blocking antibodies specific for antigen E in patients given immunotherapy with ragweed antigen E*. Clin Exp Immunol 1977; 28(2): 250-255.
9. MOTHES N, HEINZKILL M, DRACHENBERG KJ, SPERR WR, KRAUTH MT, MAJLESI Y ET AL. *Allergen-specific immunotherapy with a monophosphoryl lipid A-adjuvanted vaccine: reduced seasonally boosted immunoglobulin E production and inhibition of basophil histamine release by therapy-induced blocking antibodies*. Clin Exp Allergy 2003; 33(9): 1198-1208.
10. NOURI-ARIA KT, WACHHOLZ PA, FRANCIS JN, JACOBSON MR, WALKER SM, WILCOCK LK ET AL. *Grass pollen immunotherapy induces mucosal and peripheral IL-10 responses and blocking IgG activity*. J Immunol 2004; 172(5): 3252-3259.
11. TAUDORF E, LAURSEN L, LANNER A, BJORKSTEN B, DREBORG S, WEEKE B. *Specific IgE, IgG, and IgA antibody response to oral immunotherapy in birch pollinosis*. J Allergy Clin Immunol 1989; 83(3): 589-594.
12. HANASZ-JARZYNSKA T, KOSTANSKA H. *The behaviour of immunoglobulins in children and adolescents hyposensitized for pollinosis and pollen asthma*. Allergol Immunopathol (Madr) 1982; 10(1): 11-16.
13. FURIN MJ, NORMAN PS, CRETICOS PS, PROUD D, KAGEY-SOBOTKA A, LICHTENSTEIN LM ET AL. *Immunotherapy decreases antigen-induced eosinophil cell migration into the nasal cavity*. J Allergy Clin Immunol 1991; 88(1): 27-32.
14. BRUNET C, BEDARD PM, LAVOIE A, JOBIN M, HEBERT J. *Allergic rhinitis to ragweed pollen. II. Modulation of histamine-releasing factor production by specific immunotherapy*. J Allergy Clin Immunol 1992; 89(1 Pt 1): 87-94.
15. CASTILLO JG, GAMBOA PM, OEHLING A, WONG E, DE LA CUESTA CG. *Variations in antigen-specific histamine release related with immunotherapeutic treatment*. Allergol Immunopathol (Madr) 1989; 17(3): 149-153.
16. CRETICOS PS, ADKINSON NF, JR., KAGEY-SOBOTKA A, PROUD D, MEIER HL, NACLERIO RM ET AL. *Nasal challenge with ragweed pollen in hay fever patients. Effect of immunotherapy*. J Clin Invest 1985; 76(6): 2247-2253.
17. DURHAM SR, VARNEY VA, GAGA M, JACOBSON MR, VARGA EM, FREW AJ ET AL. *Grass pollen immunotherapy decreases the number of mast cells in the skin*. Clin Exp Allergy 1999; 29(11): 1490-1496.
18. DURHAM SR, YING S, VARNEY VA, JACOBSON MR, SUDDERICK RM, MACKAY IS ET AL. *Grass pollen immunotherapy inhibits allergen-induced infiltration of CD4+ T lymphocytes and eosinophils in the nasal mucosa and increases the number of cells expressing messenger RNA for interferon-gamma*. J Allergy Clin Immunol 1996; 97(6): 1356-1365.

19. HAMID QA, SCHOTMAN E, JACOBSON MR, WALKER SM, DURHAM SR. Increases in IL-12 messenger RNA⁺ cells accompany inhibition of allergen-induced late skin responses after successful grass pollen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99(2): 254-260.
20. DURHAM SR, VARNEY V, GAGA M, FREW AJ, JACOBSON M, KAY AB. Immunotherapy and allergic inflammation. *Clin Exp Allergy* 1991; 21 Suppl 1: 206-10: 206-210.
21. EBNER C, SIEMANN U, BOHLE B, WILLHEIM M, WIEDERMANN U, SCHENK S ET AL. Immunological changes during specific immunotherapy of grass pollen allergy: reduced lymphoproliferative responses to allergen and shift from TH2 to TH1 in T-cell clones specific for Phl p 1, a major grass pollen allergen. *Clin Exp Allergy* 1997; 27(9): 1007-1015.
22. NAKAI Y, OHASHI Y, TANAKA A, KAKINOKI Y, WASHIO Y, MASAMOTO T ET AL. Cry j 1-induced synthesis of interleukin-5 and interferon-gamma by peripheral blood mononuclear cells of patients with seasonal allergic rhinitis due to Japanese cedar pollens. *Acta Otolaryngol Suppl* 1998; 538: 143-51.: 143-151.
23. TANAKA A, OHASHI Y, KAKINOKI Y, NAKAI Y. Immunotherapy suppresses both Th1 and Th2 responses by allergen stimulation, but suppression of the Th2 response is a more important mechanism related to the clinical efficacy of immunotherapy for perennial allergic rhinitis. *Scand J Immunol* 1998; 48(2): 201-211.
24. TSUDA M, OHASHI Y, WASHIO Y, KAKINOKI Y, NAKAI Y, TANAKA A ET AL. Seasonal changes in phytohemagglutinin-induced cytokine synthesis by peripheral blood lymphocytes of patients with seasonal allergic rhinitis due to Japanese cedar pollens. *Acta Otolaryngol Suppl* 1998; 538: 156-68.: 156-168.
25. FRANCIS JN, TILL SJ, DURHAM SR. Induction of IL-10⁺CD4⁺CD25⁺ T cells by grass pollen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111(6): 1255-1261.
26. HAKANSSON L, HEINRICH C, RAK S, VENGE P. Activation of B-lymphocytes during pollen season. Effect of immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 1998; 28(7): 791-798.
27. JUNG CM, PRINZ JC, RIEBER EP, RING J. A reduction in allergen-induced Fc epsilon R2/CD23 expression on peripheral B cells correlates with successful hyposensitization in grass pollinosis. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95(1 Pt 1): 77-87.
28. BUFE A, ZIEGLER-KIRBACH E, STOECKMANN E, HEIDEMANN P, GEHLHAR K, HOLLAND-LETZ T ET AL. Efficacy of sublingual swallow immunotherapy in children with severe grass pollen allergic symptoms: a double-blind placebo-controlled study. *Allergy* 2004; 59(5): 498-504.
29. CLAVEL R, BOUSQUET J, ANDRE C. Clinical efficacy of sublingual-swallow immunotherapy: a double-blind, placebo-controlled trial of a standardized five-grass-pollen extract in rhinitis. *Allergy* 1998; 53(5): 493-498.
30. GUEZ S, VATRINET C, FADEL R, ANDRE C. House-dust-mite sublingual-swallow immunotherapy (SLIT) in perennial rhinitis: a double-blind, placebo-controlled study. *Allergy* 2000; 55(4): 369-375.
31. LIMA MT, WILSON D, PITKIN L, ROBERTS A, NOURI-ARIA K, JACOBSON M ET AL. Grass pollen sublingual immunotherapy for seasonal rhinoconjunctivitis: a randomized controlled trial. *Clin Exp Allergy* 2002; 32(4): 507-514.
32. QUIRINO T, IEMOLI E, SICILIANI E, PARMIANI S, MILAZZO F. Sublingual versus injective immunotherapy in grass pollen allergic patients: a double blind (double dummy) study. *Clin Exp Allergy* 1996; 26(11): 1253-1261.
33. FELIZIANI V, MARFISI RM, PARMIANI S. Rush immunotherapy with sublingual administration of grass allergen extract. *Allergol Immunopathol (Madr)* 1993; 21(5): 173-178.
34. PAJNO GB, MORABITO L, BARBERIO G, PARMIANI S. Clinical and immunologic effects of long-term sublingual immunotherapy in asthmatic children sensitized to mites: a double-blind, placebo-controlled study. *Allergy* 2000; 55(9): 842-849.
35. PURELLO-D'AMBROSIO F, GANGEMI S, ISOLA S, LA MOTTA N, PUCCINELLI P, PARMIANI S ET AL. Sublingual immunotherapy: a double-blind, placebo-controlled trial with *Parietaria judaica* extract standardized in mass units in patients with rhinoconjunctivitis, asthma, or both. *Allergy* 1999; 54(9): 968-973.
36. VOURDAS D, SYRIGOU E, POTAMIANOU P, CARAT F, BATARD T, ANDRE C ET AL. Double-blind, placebo-controlled evaluation of sublingual immunotherapy with standardized olive pollen extract in pediatric patients with allergic rhinoconjunctivitis and mild asthma due to olive pollen sensitization. *Allergy* 1998; 53(7): 662-672.
37. PASSALACQUA G, ALBANO M, RICCIO A, FREGONESE L, PUCCINELLI P, PARMIANI S ET AL. Clinical and immunologic effects of a rush sublingual immunotherapy to *Parietaria* species: A double-blind, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104(5): 964-968.
38. SWOBODA I, DE WEERD N, BHALLA PL, NIEDERBERGER V, SPERR WR, VALENT P ET AL. Mutants of the major ryegrass pollen allergen, Lol p 5, with reduced IgE-binding capacity: candidates for grass pollen-specific immunotherapy. *Eur J Immunol* 2002; 32(1): 270-280.
39. YUKSEL H, TANAC R, GOUSSEINOV A, DEMIR E. Sublingual immunotherapy and influence on urinary leukotrienes in seasonal pediatric allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1999; 9(5): 305-313.
40. REICH M, ZWACKA G, MARKERT UR. Nonspecific plasma proteins during sublingual immunotherapy. *Chem Immunol Allergy* 2003; 82: 99-108.: 99-108.
41. MORENO C, FERNANDEZ-TAVORA L, ACERO S, ALONSO MD, BARAHONA MJ, BLANCO R ET AL. Tolerance of a cluster schedule on the treatment of seasonal allergic respiratory disease with pollen extracts quantified in mass units. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2003; 13(4): 221-227.
42. BOUSQUET J, GUERIN B, DOTTE A, DHIVERT H, DJOUKHADAR F, HEWITT B ET AL. Comparison between rush immunotherapy with a standardized allergen and an alum adjuved pyridine extracted material in grass pollen allergy. *Clin Allergy* 1985; 15(2): 179-193.
43. BOUSQUET J, MAASCH HJ, HEJJAOUI A, SKASSA-BROCIK W, WAHL R, DHIVERT H ET AL. Double-blind, placebo-controlled immunotherapy with mixed grass-pollen allergoids. III. Efficacy and safety of unfractionated and high-molecular-weight preparations in rhinoconjunctivitis and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84(4 Pt 1): 546-556.
44. BOUSQUET J, HEJJAOUI A, SOUSSANA M, MICHEL FB. Double-blind, placebo-controlled immunotherapy with mixed grass-pollen allergoids. IV. Comparison of the safety and efficacy of two dosages of a high-molecular-weight allergoid. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 85(2): 490-497.
45. DOLZ I, MARTINEZ-COCERA C, BARTOLOME JM, CIMARRA M. A double-blind, placebo-controlled study of immunotherapy with grass-pollen extract Alutard SQ during a 3-year period with initial rush immunotherapy. *Allergy* 1996; 51(7): 489-500.

46. FRANKLAND AW, AUGUSTIN R. Prophylaxis of summer hay-fever and asthma: a controlled trial comparing crude grass-pollen extracts with the isolated main protein component. *Lancet* 1954; 266(6821): 1055-1057.
47. ORTOLANI C, PASTORELLO E, MOSS RB, HSU YP, RESTUCCIA M, JOPPOLO G ET AL. Grass pollen immunotherapy: a single year double-blind, placebo-controlled study in patients with grass pollen-induced asthma and rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73(2): 283-290.
48. ZENNER HP, BAUMGARTEN C, RASP G, FUCHS T, KUNKEL G, HAUSWALD B ET AL. Short-term immunotherapy: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter study of molecular standardized grass and rye allergens in patients with grass pollen-induced allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100(1): 23-29.
49. MERINEY DK, KOTHARI H, CHINOY P, GRIECO MH. The clinical and immunologic efficacy of immunotherapy with modified ragweed extract (allergoid) for ragweed hay fever. *Ann Allergy* 1986; 56(1): 34-38.
50. NORMAN PS, LICHTENSTEIN LM, KAGEY-SOBOTKA A, MARSH DG. Controlled evaluation of allergoid in the immunotherapy of ragweed hay fever. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 70(4): 248-260.
51. ANDRE C, PERRIN-FAYOLLE M, GROSCLAUDE M, COUTURIER P, BASSET D, CORNILLON J ET AL. A double-blind placebo-controlled evaluation of sublingual immunotherapy with a standardized ragweed extract in patients with seasonal rhinitis. Evidence for a dose-response relationship. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 131(2): 111-118.
52. D'AMATO G, KORDASH TR, LICCARDI G, LOBEFALO G, CAZZOLA M, FRESHWATER LL. Immunotherapy with Alpare in patients with respiratory allergy to *Parietaria* pollen: a two year double-blind placebo-controlled study. *Clin Exp Allergy* 1995; 25(2): 149-158.
53. ORTOLANI C, PASTORELLO EA, INCORVAIA C, ISPARO M, FARIOLI L, ZARA C ET AL. A double-blind, placebo-controlled study of immunotherapy with an alginate-conjugated extract of *Parietaria judaica* in patients with *Parietaria* hay fever. *Allergy* 1994; 49(1): 13-21.
54. BODTGER U, POULSEN LK, JACOBI HH, MALLING HJ. The safety and efficacy of subcutaneous birch pollen immunotherapy - a one-year, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Allergy* 2002; 57(4): 297-305.
55. GUERRA F, DAZA JC, ALMEDA E. Immunotherapy with a depigmented, polymerized vaccine of *Olea europaea* pollen allergens. Significantly reduces specific bronchial and skin test reactivity in sensitized patients after one year of treatment. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2003; 13(2): 108-117.
56. BRUCE CA, NORMAN PS, ROSENTHAL RR, LICHTENSTEIN LM. The role of ragweed pollen in autumnal asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1977; 59(6): 449-459.
57. CRETICOS PS, REED CE, NORMAN PS, KHOURY J, ADKINSON NF, JR., BUNCHER CR ET AL. Ragweed immunotherapy in adult asthma. *N Engl J Med* 1996; 334(8): 501-506.
58. HILL DJ, HOSKING CS, SHELTON MJ, TURNER MW. Failure of hyposensitisation in treatment of children with grass-pollen asthma. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982; 284(6312): 306-309.
59. KUNA P, ALAM R, KUZMINSKA B, ROZNIECKI J. The effect of preseasonal immunotherapy on the production of histamine-releasing factor (HRF) by mononuclear cells from patients with seasonal asthma: results of a double-blind, placebo-controlled, randomized study. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 83(4): 816-824.
60. MACHIELS JJ, SOMVILLE MA, JACQUEMIN MG, SAINT-REMY JM. Allergen-antibody complexes can efficiently prevent seasonal rhinitis and asthma in grass pollen hypersensitive patients. Allergen-antibody complex immunotherapy. *Allergy* 1991; 46(5): 335-348.
61. MACHIELS JJ, LEBRUN PM, JACQUEMIN MG, SAINT-REMY JM. Significant reduction of nonspecific bronchial reactivity in patients with *Dermatophagoides pteronyssinus*-sensitive allergic asthma under therapy with allergen-antibody complexes. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147(6 Pt 1): 1407-1412.
62. REID MJ, MOSS RB, HSU YP, KWASNICKI JM, COMMERFORD TM, NELSON BL. Seasonal asthma in northern California: allergic causes and efficacy of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78(4 Pt 1): 590-600.
63. WALKER SM, PAJNO GB, LIMA MT, WILSON DR, DURHAM SR. Grass pollen immunotherapy for seasonal rhinitis and asthma: a randomized, controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107(1): 87-93.
64. ARVIDSSON MB, LOWHAGEN O, RAK S. Effect of 2-year placebo-controlled immunotherapy on airway symptoms and medication in patients with birch pollen allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109(5): 777-783.
65. ARVIDSSON MB, LOWHAGEN O, RAK S. Allergen specific immunotherapy attenuates early and late phase reactions in lower airways of birch pollen asthmatic patients: a double blind placebo-controlled study. *Allergy* 2004; 59(1): 74-80.
66. ABRAMSON MJ, PUY RM, WEINER JM. Allergen immunotherapy for asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; (4): CD001186.
67. BOUSQUET J, LOCKEY R, MALLING HJ. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. A WHO position paper. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102(4 Pt 1): 558-562.
68. DURHAM SR, WALKER SM, VARGA EM, JACOBSON MR, O'BRIEN F, NOBLE W ET AL. Long-term clinical efficacy of grass-pollen immunotherapy. *N Engl J Med* 1999; 341(7): 468-475.
69. ENG PA, REINHOLD M, GNEHM HP. Long-term efficacy of preseasonal grass pollen immunotherapy in children. *Allergy* 2002; 57(4): 306-312.
70. ASERO R. Effects of birch pollen-specific immunotherapy on apple allergy in birch pollen-hypersensitive patients. *Clin Exp Allergy* 1998; 28(11): 1368-1373.
71. ASERO R. How long does the effect of birch pollen injection SIT on apple allergy last? *Allergy* 2003; 58(5): 435-438.
72. DES RA, PARADIS L, MENARDO JL, BOUGES S, DAURES JP, BOUSQUET J. Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. VI. Specific immunotherapy prevents the onset of new sensitizations in children. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99(4): 450-453.
73. PAJNO GB, BARBERIO G, DE LUCA F, MORABITO L, PARMIANI S. Prevention of new sensitizations in asthmatic children monosensitized to house dust mite by specific immunotherapy. A six-year follow-up study. *Clin Exp Allergy* 2001; 31(9): 1392-1397.
74. MOLLER C, DREBORG S, FERDOUSI HA, HALKEN S, HOST A, JACOBSEN L ET AL. Pollen immunotherapy reduces the development of asthma in children with seasonal rhinoconjunctivitis (the PAT-study). *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109(2): 251-256.
75. HEJJAQUI A, FERRANDO R, DHIVERT H, MICHEL FB, BOUSQUET J. Systemic reactions occurring during immunotherapy with standardized pollen extracts. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89(5): 925-933.
76. ARIFHODZIC N, BEHBEHANI N, DUWAISAN AR, AL MOSAWI M, KHAN M. Safety of subcutaneous specific immunotherapy with pollen allergen extracts for respiratory allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 132(3): 258-262.

77. GASTAMINZA G, ALGORTA J, AUDICANA M, ETXENAGUSIA M, FERNANDEZ E, MUNOZ D. *Systemic reactions to immunotherapy: influence of composition and manufacturer*. Clin Exp Allergy 2003; 33(4): 470-474.
78. GINA Workshop Report, *Global Strategy for Asthma Management and Prevention*. www.ginasthma.com/ginawr20clean.pdf 2004.
79. BOUSQUET J, VAN CAUWENBERGE P, KHALTAEV N. *Allergic rhinitis and its impact on asthma*. J Allergy Clin Immunol 2001; 108(5 Suppl): S147-S334.
80. ANDRI L, SENNA GE, BETTELI C, GIVANNI S, ANDRI G, FALAGIANI P ET AL. *Local nasal immunotherapy in allergic rhinitis to Parietaria. A double-blind controlled study*. Allergy 1992; 47(4 Pt 1): 318-323.
81. PASSALACQUA G, ALBANO M, RUFFONI S, PRONZATO C, RICCIO AM, DI BERARDINO L ET AL. *Nasal immunotherapy to Parietaria: evidence of reduction of local allergic inflammation*. Am J Respir Crit Care Med 1995; 152(2): 461-466.
82. ANDRI L, SENNA G, ANDRI G, DAMA A, GIVANNI S, BETTELI C ET AL. *Local nasal immunotherapy for birch allergic rhinitis with extract in powder form*. Clin Exp Allergy 1995; 25(11): 1092-1099.
83. ANDRI L, SENNA G, BETTELI C, GIVANNI S, ANDRI G, DIMITRI G ET AL. *Local nasal immunotherapy with extract in powder form is effective and safe in grass pollen rhinitis: a double-blind study*. J Allergy Clin Immunol 1996; 97(1 Pt 1): 34-41.
84. MALLING HJ, ABREU-NOGUEIRA J, ALVAREZ-CUESTA E, BJORKSTEN B, BOUSQUET J, CAILLOT D ET AL. *Local immunotherapy*. Allergy 1998; 53(10): 933-944.
85. TAUDORF E, LAURSEN LC, DJURUP R, KAPPELGAARD E, PEDERSEN CT, SOBORG M ET AL. *Oral administration of grass pollen to hay fever patients. An efficacy study in oral hyposensitization*. Allergy 1985; 40(5): 321-335.
86. TAUDORF E, LAURSEN LC, LANNER A, BJORKSTEN B, DREBORG S, SOBORG M ET AL. *Oral immunotherapy in birch pollen hay fever*. J Allergy Clin Immunol 1987; 80(2): 153-161.
87. LITWIN A, FLANAGAN M, ENTIS G, GOTTSCHLICH G, ESCH R, GARTSIDE P ET AL. *Oral immunotherapy with short ragweed extract in a novel encapsulated preparation: a double-blind study*. J Allergy Clin Immunol 1997; 100(1): 30-38.
88. TEPAS EC, HOYTE EG, MCINTIRE JJ, UMETSU DT. *Clinical efficacy of microencapsulated timothy grass pollen extract in grass-allergic individuals*. Ann Allergy Asthma Immunol 2004; 92(1): 25-31.
89. CIRLA AM, CIRLA PE, PARMIANI S, PECORA S. *A pre-seasonal birch/hazel sublingual immunotherapy can improve the outcome of grass pollen injective treatment in bisensitized individuals. A case-referent, two-year controlled study*. Allergol Immunopathol (Madr) 2003; 31(1): 31-43.
90. D'AMBROSIO FP, RICCIARDI L, ISOLA S, SAVI E, PARMIANI S, PUCCINELLI P ET AL. *Rush sublingual immunotherapy in Parietaria allergic patients*. Allergol Immunopathol (Madr) 1996; 24(4): 146-151.
91. GOZALO F, MARTIN S, RICO P, ALVAREZ E, CORTES C. *Clinical efficacy and tolerance of two year Lolium perenne sublingual immunotherapy*. Allergol Immunopathol (Madr) 1997; 25(5): 219-227.
92. HORDIJK GJ, ANTVELINK JB, LUWEMA RA. *Sublingual immunotherapy with a standardised grass pollen extract; a double-blind placebo-controlled study*. Allergol Immunopathol (Madr) 1998; 26(5): 234-240.
93. TROISE C, VOLTOLINI S, CANESSA A, PECORA S, NEGRINI AC. *Sublingual immunotherapy in Parietaria pollen-induced rhinitis: a double-blind study*. J Investig Allergol Clin Immunol 1995; 5(1): 25-30.
94. WUTHRICH B, BUCHER C, JORG W, BIRCHER A, ENG P, SCHNEIDER Y, ET AL. *Double-blind, placebo-controlled study with sublingual immunotherapy in children with seasonal allergic rhinitis to grass pollen*. J Investig Allergol Clin Immunol 2003; 13(3): 145-148.
95. Rolinck-Werninghaus C, Wolf H, Liebke C, Baars JC, Lange J, Kopp MV, et al. *A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled multi-centre study on the efficacy and safety of sublingual immunotherapy (SLIT) in children with seasonal allergic rhinoconjunctivitis to grass pollen*. Allergy 2004; 59(12): 1285-1293.
96. PAJNO GB, VITA D, PARMIANI S, CAMINITI L, LA GRUTTA S, BARBERIO G. *Impact of sublingual immunotherapy on seasonal asthma and skin reactivity in children allergic to Parietaria pollen treated with inhaled fluticasone propionate*. Clin Exp Allergy 2003; 33(12): 1641-1647.
97. WILSON DR, TORRES LI, DURHAM SR. *Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis*. Cochrane Database Syst Rev 2003; (2): CD002893.
98. KHINCHI MS, POULSEN LK, CARAT F, ANDRE C, HANSEN AB, MALLING HJ. *Clinical efficacy of sublingual and subcutaneous birch pollen allergen-specific immunotherapy: a randomized, placebo-controlled, double-blind, double-dummy study*. Allergy 2004; 59(1): 45-53.
99. DI R, V, MARCUCCI F, PUCCINELLI P, PARMIANI S, FRATI F, SENSI L, ET AL. *Long-lasting effect of sublingual immunotherapy in children with asthma due to house dust mite: a 10-year prospective study*. Clin Exp Allergy 2003; 33(2): 206-210.
100. MADONINI E, AGOSTINIS F, BARRA R, BERRA A, DONADIO D, PAPPACODA A, ET AL. *Long-term and preventive effects of sublingual allergen-specific immunotherapy: a retrospective, multicentric study*. Int J Immunopathol Pharmacol 2003; 16(1): 73-79.

Asma y polinosis

CARLOS SERRANO REYES

ANTONIO VALERO SANTIAGO, CÉSAR PICADO VALLÉS

Unidad de Alergia. ICPCT. Hospital Clínic. Barcelona

INTRODUCCIÓN

La polinosis se define como la alergia respiratoria causada por los alergenios contenidos en los granos del polen de las plantas. Es más frecuente con el polen de las plantas anémofilas, que realizan su polinización a través del lanzamiento y posterior dispersión del polen en el aire. Las manifestaciones clínicas son fundamentalmente nasales y conjuntivales, pero también puede aparecer asma en un porcentaje variable de pacientes, dependiendo del tipo de pólenes implicados, y de la naturaleza de la exposición. La prevalencia de la polinosis se ha duplicado en las tres últimas décadas, siendo actualmente responsable del 40% de las rinoconjuntivitis y del 27% de los casos de asma visitados en las consultas de alergología en nuestro país.

En los últimos años se ha puesto una especial atención en la interrelación entre la nariz y los bronquios, llegando a la conclusión de que el asma y la rinitis son manifestaciones clínicas en diferentes órganos de un mismo proceso^{1,2}. Esta interrelación se ha constatado por evidencias aportadas en estudios epidemiológicos, fisiopatológicos y clínicos. Ambas enfermedades coexisten frecuentemente: el 70-90% de los pacientes con asma tienen rinitis, y el 19-38% de los pacientes con rinitis tienen asma. Ambas poseen una base inflamatoria que se caracteriza por infiltración celular y por la participación de diferentes mediadores proinflamatorios. Además, se ha visto que los tratamientos empleados en la rinitis pueden modular diferentes aspectos clínicos del asma, como los síntomas, la función pulmonar, el asma inducido por ejercicio y la hiperreactividad bronquial, y que cuando se exacerba la rinitis puede repercutir sobre la evolución y la gravedad del asma bronquial³⁻⁵.

Este capítulo se ha dividido en varios apartados: aspectos epidemiológicos del asma en la polinosis, proceso de penetración de los alergenios del polen en la vía respiratoria inferior y las propiedades inflamatorias de estos, descripción del concepto de “una vía aérea, una enfermedad”, y finalmente se abordan de forma comparativa el desarrollo del asma en sujetos con polinosis y alergia a ácaros.

EPIDEMIOLOGÍA DEL ASMA EN POLINOSIS

El asma es un problema de salud global cuya mayor frecuencia se da en países desarrollados. La prevalencia tiene una gran variabilidad geográfica, y los datos más recientes muestran un aumento de ésta en las últimas décadas. La estimación en niños se sitúa entre el 0 y el 38% de acuerdo a la zona geográfica^{6,7}. En los adultos, los datos son menos fiables debido a la frecuente superposición con la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), pero la prevalencia varía entre el 2 y el 12%⁸.

Entre los factores relacionados con el desarrollo de asma, la predisposición genética es un condicionamiento importante. Aproximadamente un diez por cien de los niños sin herencia de atopia desarrollan alguna enfermedad alérgica, pero cuando uno de los padres o un hermano mayor es atópico, el riesgo de desarrollar enfermedades alérgicas se eleva a un 20-30%, y si los dos padres son atópicos, la probabilidad es del 50%⁹. No obstante, el desarrollo de la enfermedad alérgica está condicionado por otros factores como las características del alérgeno y de la exposición a éste^{10,11}.

Se ha demostrado que a mayor exposición alérgica, mayor será la probabilidad de sensibilización. Se ha descrito en niños de edad pre-escolar, que la exposición a niveles altos de alérgenos durante la primera infancia aumenta el riesgo de sensibilización alérgica¹², riesgo que también ha sido observado en niños durante la edad escolar, lo que sugiere que el efecto de la concentración alérgica sobre la sensibilización se prolonga más allá de la primera infancia^{13,14}. En un interesante estudio, Kihlstrom y cols.¹⁵, describieron el efecto de la concentración de polen sobre el desarrollo de asma y alergias, en una cohorte de pacientes nacidos en Estocolmo (Suecia) durante la primavera de 1993 a los que se realizó un seguimiento durante 5 años. Durante la primavera de reclutamiento, los niveles de polen de abedul fueron 10 veces más altos que en 1992 y 50 veces más altos que en 1994. Al finalizar los 5 años de seguimiento, los investigadores encontraron una prevalencia de asma del 12,2% en el grupo de estudio comparada con el 5,1% en aquellos nacidos en 1994, lo que sugiere la importancia de la intensidad de la exposición alérgica en el desarrollo de asma. No obstante, esta hipótesis no está del todo confirmada e incluso es discutida por algunos autores.

La rinitis alérgica es un factor de riesgo que incrementa la frecuencia de asma por exposición a polen y otros alérgenos. Linnenberg y cols.¹⁶, encontraron una prevalencia de asma del 14,1% en pacientes con rinitis polínica, y del 1,8 % en aquellos sin patología nasal, siendo la prevalencia más elevada en pacientes con rinitis perenne por alergia a ácaros o epitelios que en los polínicos. Casasnovas y cols.¹⁷, describen una frecuencia de síntomas bronquiales entre el 33 y el 57% de los pacientes con rinitis por pólenes, siendo más frecuente en el subgrupo de pacientes que iniciaron la rinitis antes de los 18 años.

Las exposiciones alérgicas más intensas se relacionan con un mayor grado de obstrucción bronquial¹⁸, y aunque los síntomas pueden ser más intensos en el asma estacional desarrollado por pólenes, la alteración de los parámetros de obstrucción bronquial son mayores en el asma debida a una exposición alérgica persistente¹⁹.

A pesar de que la mayoría de pacientes con asma de origen polínico están polisensibilizados, en términos poblacionales, las gramíneas son la causa más importante de asma asociada a pólenes, ya que debido a la alta distribución de estas plantas es la polinosis más prevalente. Entre los pacientes sensibilizados a las gramíneas la prevalencia de asma es del 52%²⁰. El 40% de los sensibilizados al olivo desarrollan asma. Se ha descrito en pacientes alérgicos a polen de olivo la presencia de síntomas bronquiales fuera de la época de polinización, hecho que se explica por la exposición a altas concentraciones de alérgenos en momentos en los que, teóricamente, no hay polen, como sucede durante la época de recolección^{21,22}. El 60% de los sensibilizados a *Parietaria* desarrollan asma. Siendo este polen el responsable del 7,3% de los casos de asma por pólenes en España²². El 62% de los sensibilizados a *Platanus acerifolia* desarrollan asma. Se considera que éste es el causante del 28% de los síntomas respiratorios presentes en los pacientes polínicos durante los meses de marzo y abril²³. La prevalencia de asma en pacientes sensibilizados *Cupresáceas* es menor del 20%, porcentaje similar al reportado en los sensibilizados a las *quenopodiáceas*^{24,25}. En los sensibilizados a las *Betuláceas* la prevalencia de asma es del 30%.

En resumen, se puede decir que un porcentaje importante de los pacientes sensibilizados a un determinado polen desarrolla asma. No obstante, un gran número de ellos no lo hacen. Igualmente se ha mencionado como ciertos pólenes tienen mayor capacidad de generar asma. La razón de estas observaciones no se conoce con certeza. Es probable que el desarrollo de asma en pacientes genéticamente susceptibles pueda explicarse por la interacción de tres factores: las características propias del alérgeno, la naturaleza de la exposición alérgica y el grado de penetración de los alérgenos en el árbol bronquial.

EXPOSICIÓN Y PENETRACIÓN DE ALERGENOS EN EL ÁRBOL BRONQUIAL

Partículas con capacidad de transportar alergen del polen

Los granos de polen son las estructuras reproductoras masculinas de las plantas con semilla. Un grano de polen se compone de una cubierta externa rica en esporopoleína (exina), debajo de la cual se encuentra otra cubierta de composición celulósica (intina) (figura 1). La exina le proporciona al grano dureza y resistencia y además es esencial en el reconocimiento específico. Aparte de la celulosa, la intina posee componentes proteicos esenciales para el desarrollo del tubo polínico, una estructura tubular cuya función es

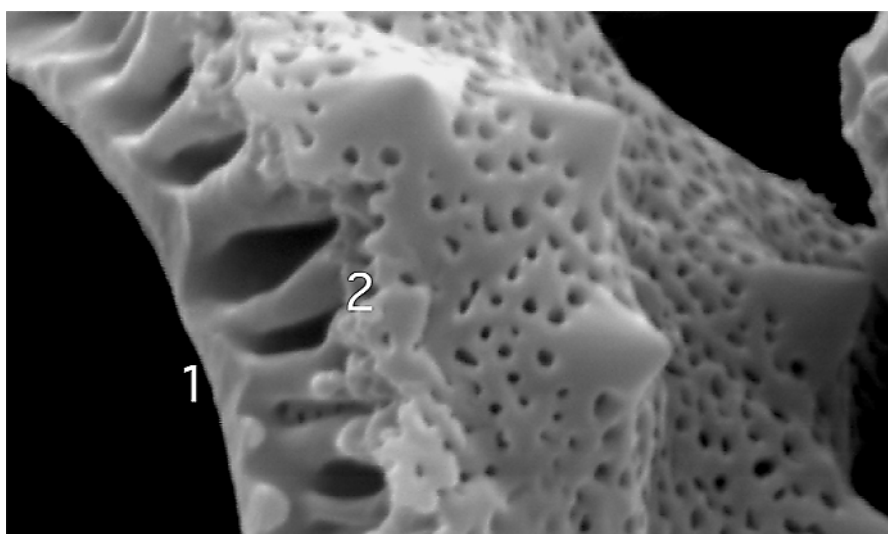
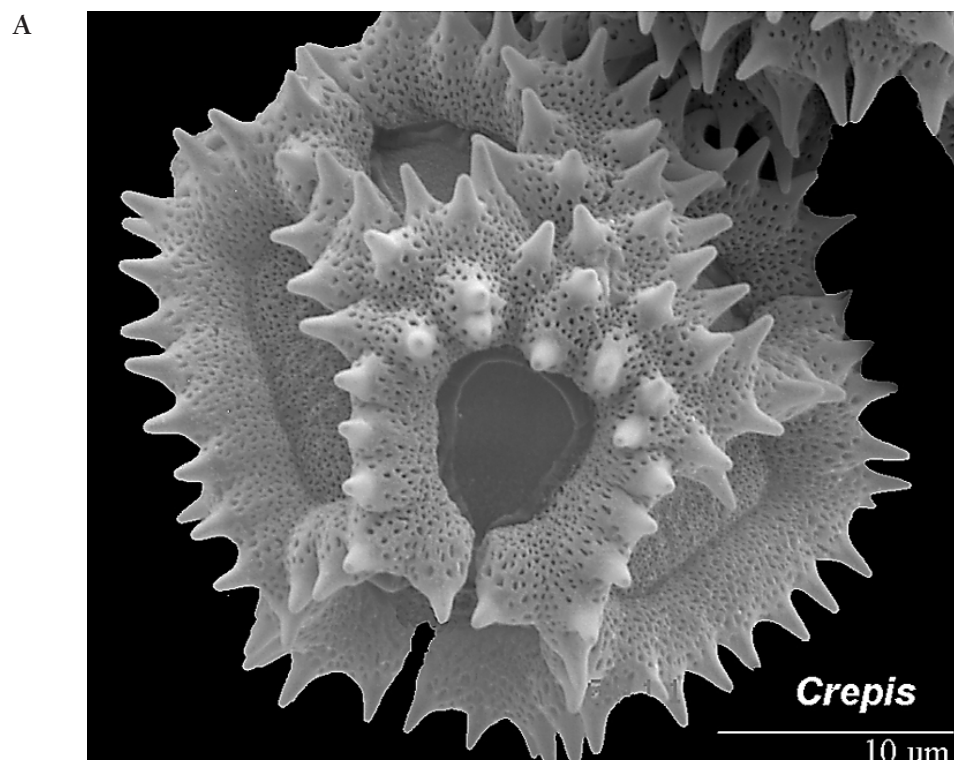


FIGURA 1. A) Estructura microscópica de un grano de polen de *Taraxacum*. B) Corte del mismo polen visto bajo un campo de mayor aumento donde pueden diferenciarse la intina (1) y la exina (2).

B

reproductiva, desarrollándose en condiciones de hidratación isotónica del grano de polen. Su presencia además representa un marcador de actividad del grano, y por ende, del efecto alérgico, ya que el tubo polínico sirve de conducto para el transporte de los alérgenos desde el interior del grano hasta la mucosa respiratoria en la que se ha depositado el polen.

La exposición a los alérgenos del polen está determinada por el proceso de polinización que ocurre generalmente en las plantas polinizadas por el viento (anemófilas) tales como árboles y hierbas. Esta exposición depende de los tipos de plantas que crecen en un área en particular, de las características propias del polen y de la producción o no de partículas submicrónicas, u otras partículas aerotransportadas con capacidad para transportar alérgenos. Las partículas submicrónicas pueden encontrarse en dos lugares: en el citoplasma del polen (por ejemplo, los gránulos de almidón), o en otras estructuras de la planta que se relacionen con el polen. Su tamaño varía entre 0,5 y 2 μm , lo cual es bastante menos que el tamaño de un grano de polen (10 a 200 μm). La exposición a estas partículas está determinada por el grado de hidratación del polen. Si el grano de polen se expone bruscamente a una humedad ambiental elevada, puede ocurrir una expulsión vigorosa del contenido citoplasmático, ocasionando su liberación²⁶ (figura 2). Algunas publicaciones sugieren que este proceso puede contribuir a los brotes de síntomas respiratorios y asma que ocurren en pacientes polínicos después de una tormenta^{27,28}.

Por otro lado, se ha visto que son necesarios entre 20 y 100 granos de polen por m^3 para causar enfermedad, pero se desconoce la concentración de alérgenos o de partículas submicrónicas necesarias para desencadenar síntomas.

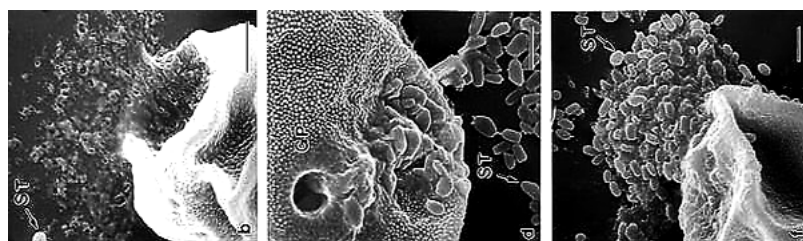


FIGURA 2. Fotografías de microscopio electrónico donde se puede apreciar la expulsión vigorosa del contenido citoplasmático (partículas submicrónicas) de tres granos de polen.

FIGURA 3. Fotografía de un grano de polen obtenida por microscopio electrónico. En el acercamiento (foto de la derecha) se pueden apreciar los cuerpos de Ubisch asociados a la superficie.

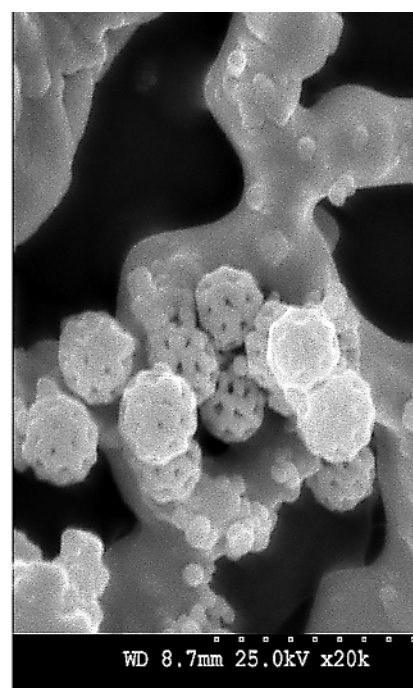
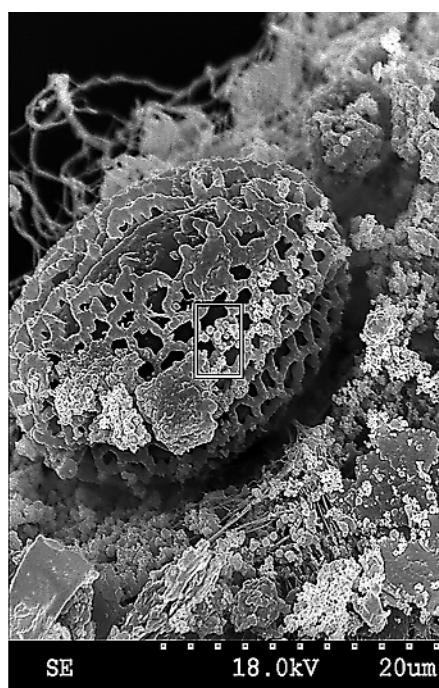


TABLA 1.

PARTÍCULAS CON CAPACIDAD PARA TRANSPORTAR ALERGENOS. ADAPTADO DE D'AMATO G²⁹

- Fragmentos de polen
- Gránulos de Almidón
- Fragmentos de las plantas no derivados del polen
- Partículas no vegetales (partículas de la combustión de motores diesel)

Recientemente se ha descrito la presencia de otras partículas de pequeño tamaño con capacidad alérgica, aunque no parece ser que sean fragmentos de polen ya que éste es muy resistente a la ruptura. Se ha sugerido que podrían derivarse de otros productos de las plantas como por ejemplo las hojas o los tallos²⁹, y que podrían transferirse por contacto físico, por arrastre o contenidas en microgotas, a otras partículas pequeñas presentes en la atmósfera, como por ejemplo las partículas producidas por la combustión de motores diesel, las cuales pueden penetrar en las vías aéreas periféricas. Otra posibilidad descrita, es que los alérgenos se depositen y se transporten en los cuerpos de Ubish u orbículos. Estas partículas son estructuras esféricas que se encuentran en las anteras de muchas plantas (Betuláceas, Urticáceas, Chenopodiáceas, etc.) asociadas a los granos de polen (figura 3). Sin embargo, no se han encontrado en ciertas familias como las Asteráceas o las Oleáceas. Su función se desconoce, pero se sabe que se desarrollan simultáneamente con la exina del polen. De hecho, su pared externa también está formada por esporopoleína. Su forma y su arquitectura son similares al grano de polen con el cual se asocian, y generalmente aparecen en gran número. Se cree que los cuerpos de Ubish podrían estar involucrados en la dispersión de los alérgenos y que su tamaño es óptimo para la penetración en las vías aéreas inferiores. En la tabla 1 se enumeran las principales micro-partículas con capacidad de transportar alérgenos.

Filtración de partículas en el árbol respiratorio

1. *Papel de la nariz*: los estudios aerodinámicos realizados sugieren que las partículas de dimensiones superiores a 10 μm quedan retenidas en las vías respiratorias superiores³⁰. De acuerdo con lo mencionado previamente, el tamaño de los granos de polen varía entre 10 y 200 μm . En este sentido, la nariz a través de la producción de moco y del movimiento mucociliar, tendría la capacidad de filtrar casi todos los granos de polen, evitando su paso hacia la vía aérea inferior.

2. *Depósito de partículas en el árbol bronquial de acuerdo a su tamaño*: en estudios farmacológicos dirigidos al desarrollo de nuevos fármacos inhalados se ha podido evaluar la geometría del árbol bronquial y su relación con el tamaño de las partículas que en él penetran (tabla 2). De acuerdo con estos datos, resulta improbable que los granos de polen penetren más allá de la tráquea.

TABLA 2.

RELACIÓN ENTRE EL DIÁMETRO EN LOS DIFERENTES SEGMENTOS DE LA VÍA AÉREA Y EL TAMAÑO DE LAS PARTÍCULAS QUE PENETRAN EN ELLA

Segmento	Diámetro	Tamaño de las partículas
Tráquea	18 mm	7-10 μm
Bronquios lobares	8,3 mm	2-7 μm
Bronquiólos terminales	0,6 mm	0,5-2 μm
Conductos alveolares	0,43 mm	0,5-2 μm

3. *Mecanismos de depósito dentro del árbol bronquial*³¹: la posibilidad de que una partícula aerotransportada penetre en la vía aérea y se deposite en ella depende fundamentalmente de dos condiciones:

1. De las propiedades aerodinámicas de la partícula.
2. De la geometría de la vía aérea. Se han descrito diferentes mecanismos de deposición de partículas en la vía aérea bronquial:
 - a) *Sedimentación*: representa el depósito causado por la fuerza de gravedad. La posibilidad de que ocurra un depósito por sedimentación aumenta mientras más grande y pesada sea una partícula, y cuanto más tiempo permanezca en la vía aérea.
 - b) *Impactación*: ocurre en los lugares donde se produce un cambio brusco en la dirección del flujo aéreo, como por ejemplo la nariz y la faringe. La probabilidad de impactación es directamente proporcional al tamaño, la densidad de la partícula y a la velocidad del aire.
 - c) *Intercepción*: el depósito de una partícula en el tracto respiratorio puede ocurrir cuando uno de sus extremos contacte con la pared de la vía aérea. Para las partículas alargadas éste es un importante mecanismo de depósito dentro de la vía aérea. La probabilidad de que esto ocurra aumenta a medida que el diámetro de la vía aérea disminuye.
 - d) *Difusión Browniana*: sucede en partículas muy pequeñas. Este mecanismo constituye una forma de depósito dentro de la vía aérea distal, donde el flujo es prácticamente inexistente. El fenómeno se produce porque las partículas son “bombardeadas” por las moléculas de aire adyacentes, las cuales generan el movimiento de las mismas, aumentando la posibilidad de que entren en contacto con la pared de la vía aérea.
 - e) *Carga eléctrica*: las partículas inhaladas pueden estar cargadas eléctricamente. Si esto ocurre, pueden exhibir un mayor depósito regional del esperado para su tamaño, forma y densidad.

Funciones y capacidad pro-inflamatoria de los alérgenos del polen

En términos generales, se ha prestado poca atención a los interrogantes de porqué y cómo los alérgenos desencadenan respuestas inmunológicas potentes que terminan en el desarrollo de enfermedades alérgicas. Originalmente, se pensó que la inmunogeneicidad dependía únicamente de factores como el tamaño del alérgeno, su concentración y la duración de la exposición, pero recientemente se ha visto que la vía de exposición y los eventos inflamatorios que ocurren en el lugar donde se deposita, juegan papeles muy importantes (tabla 3)³². El reconocimiento de la inflamación ha dado origen al concepto de “señal de daño”, el cual pro-

TABLA 3.

FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE EL DESARROLLO DE UNA RESPUESTA INMUNE DE TIPO ALÉRGICO. ADAPTADO DE THOMPSON PJ Y COLS. ³²		
Intrínsecos (propios del alérgeno)	Extrínsecos	
	Endógenos	Exógenos
Tamaño molecular	Sexo, predisposición genética y peso al nacer	Contaminantes
Concentración		Humo de tabaco
Solubilidad	Vía de exposición	Infecciones víricas
Estabilidad		Higiene
Actividad bioquímica	Eventos inflamatorios locales	Estación del año en la que se nace
Distancia filogenética		

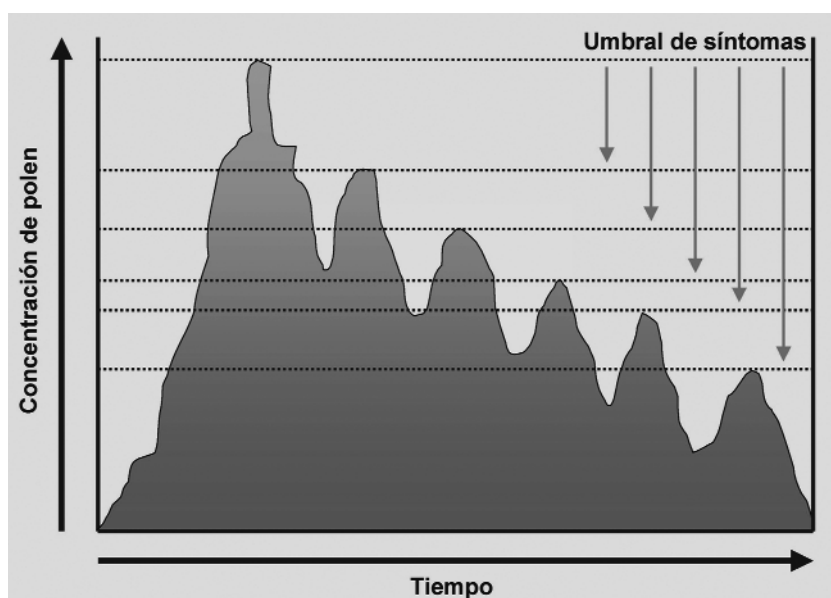


FIGURA 4. Efecto “Priming”. En un paciente dado, se requiere un determinado umbral de concentración de alérgenos para la aparición de síntomas. Sin embargo, una vez se supera dicho umbral, se producen una serie de alteraciones en la vía aérea que facilitan la persistencia de la inflamación y la aparición de síntomas con concentraciones progresivamente menores.

pone que una respuesta inmune no ocurre a menos de que se generen señales inflamatorias, las cuales se dan principalmente en el tejido comprometido y en su vecindad³³. Una vez se ha iniciado la respuesta alérgica, el umbral para el desarrollo de síntomas se reduce por el efecto “priming”³⁴ (figura 4) o de cebado, es decir el aumento de la dosis necesaria de alérgeno para desencadenar síntomas tras una primera exposición. Por otro lado, los tipos celulares más importantes que interactúan con los aeroalérgenos en la vía aérea y generan estímulos inflamatorios son las células epiteliales, los mastocitos, los macrófagos y las células dendríticas. Estas interacciones pueden ocurrir directamente a través de receptores específicos o indirectamente a través de factores humorales. Más aún, las interacciones funcionales entre diferentes alérgenos pueden tener un significado muy importante en el desenlace de la exposición a uno de ellos, aunque esto todavía es especulativo debido a que aún no se han caracterizado muchos de los componentes de los alérgenos. Lo que está claro es que los alérgenos representan una amplia diversidad de moléculas y por ende, la manera como producen sensibilización y enfermedad está determinada más probablemente por su función que por su estructura^{35,36}.

En un interesante estudio recientemente publicado, Traidl-Hoffmann y cols.³⁷, utilizando un modelo *in vitro*, proponen que bajo ciertas condiciones de humedad (por ejemplo, la que se alcanza al contactar con la fase acuosa de la mucosa respiratoria), los granos de polen tienen la capacidad de liberar mediadores lipídicos relacionados estrechamente con los leucotrienos. Estos mediadores pueden actuar a su vez como factores quimiotácticos para el reclutamiento de células inflamatorias, los cuales a su vez pueden contribuir a la aparición o el empeoramiento de la inflamación alérgica. En este trabajo, también se encontró un aumento del reclutamiento de neutrófilos, lo que indica que los alérgenos del polen pueden tener la capacidad de producir otro tipo de respuesta inflamatoria diferente a la respuesta alérgica clásica.

Uno de los mecanismos que han sido implicados en la aparición o el empeoramiento de otros tipos de inflamación es la actividad enzimática que poseen los alérgenos de los polenes. Si bien esta actividad es muy importante para el adecuado funcionamiento de la planta, también puede tener una gran relevancia en el desarrollo de enfermedad en los seres humanos. Las características de los pólenes de los principales grupos de plantas se resumen en la tabla 4.

TABLA 4.

Función biológica de los principales grupos de alérgenos del polen producido por las diferentes familias de plantas. Adaptado de Thompson PJ y cols. ³² , y Valenta R y cols. ⁴⁰ . PTE: proteína de transporte de electrones; LTP: proteína transportadora de lípidos.				
Familias y ejemplos		Grupo	Alérgenos	Función
Gramíneas	Pooideae (Lolium, Phleum)	1, 2, 3 4 y 13 5 y 6	<i>Lol p 1</i> , <i>Phl p 1</i> ---- <i>Phl p 5</i>	Extensinas Degradación de la pectina Ribonucleasas
	Chloridoideae (Cynodon)	7 12	<i>Cyn d 7</i> <i>Cyn d 12</i>	Unión de calcio Profilinas
Hierbas	Aster (Ambrosía)	1, 2 3, 7 6 10 ----	<i>Amb a 1</i> , <i>Amb a 2</i> <i>Amb a 3</i> , <i>Amb a 7</i> <i>Amb a 6</i> <i>Amb a 10</i> <i>Cistatina</i>	Pectatoliasas? Homología con PTE LTP? Citocromo C Inhibidor de cisteínproteasas
	Urticácea (Parietaria)	1	<i>Par o 1</i> , <i>par o 2</i>	LTP
Árboles (angiospermas)	Fagáceas (Abedul, roble)	1 2 3 4	<i>Bet v 1</i> ---- ---- ----	Ribonucleasas Profilina Proteína similar a la calmodulina Unión de calcio
	Lamiales (Oliveo, Fresno)	1 2 3 4 5	<i>Ole e 1</i> <i>Ole e 2</i> <i>Ole e 3</i> <i>Ole e 4</i> <i>Ole e 5</i>	Inhibidor de tripsina Profilina Unión de calcio Homología con <i>Ole e 1</i> Superóxidodismutasa
Árboles (gimnospermas)	Cedro, Sabina	1	<i>Cry j 1</i> , <i>Jun o 1</i>	Pectatoliasa

CONCEPTO DE UNA VÍA AÉREA, UNA ENFERMEDAD

Documento ARIA¹

La rinitis y el asma son dos enfermedades muy prevalentes. Los estudios epidemiológicos han puesto de manifiesto que la rinitis alérgica y la no alérgica se presentan con mucha frecuencia asociadas al asma. Estos estudios han mostrado que el asma se presenta con mucha más frecuencia en sujetos con rinitis que en aquellos sin síntomas nasales. Algunos de los datos disponibles indican que el asma se presenta hasta en el 40% de los pacientes con rinitis, mientras que tan sólo lo hace en el 5% de los sujetos sin afectación nasal. En definitiva, los datos epidemiológicos actuales sugieren que:

- El asma y la rinitis coexisten en muchos pacientes, el 70-90% de los pacientes con asma tienen rinitis, y el 19-38% de los pacientes con rinitis tienen asma.
- La rinitis se desarrolla de forma más precoz en el 70% de los casos.
- Se desarrollan de forma simultánea en el 25% de los pacientes.
- La presencia de rinitis es un factor de riesgo para desarrollar asma.

Posteriormente a la publicación del documento ARIA, diversos autores han publicado revisiones donde se actualizan los datos más recientes sobre la relación entre asma y rinitis^{2,39}, insistiéndose en todos ellos sobre

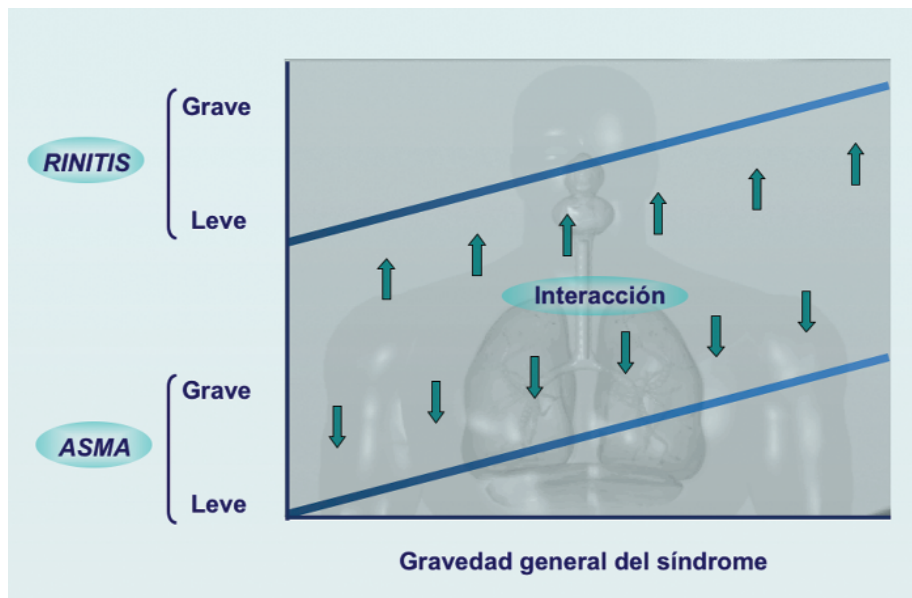


FIGURA 5. Interrelación entre asma y rinitis. La gravedad del asma está determinada por la presencia y la gravedad de la rinitis. Adaptado de Togias A².

que el asma y la rinitis, son manifestaciones de un mismo síndrome en diferentes lugares del aparato respiratorio, y que la gravedad de una de ellas es directamente proporcional a la gravedad de la otra (figura 5).

INTERRELACIÓN ENTRE NARIZ Y BRONQUIO

Inflamación nasal y respuesta bronquial

Diversos ensayos clínicos y experimentales han estudiado la conexión existente entre la rinitis y la vía aérea inferior. Tras provocaciones nasales con alérgenos en pacientes con rinitis alérgica se ha demostrado un incremento en la hiperreactividad bronquial y cambios en la función pulmonar⁴⁰⁻⁴³. Otros estudios han evaluado la presencia de inflamación alérgica sistémica tras la provocación nasal en modelos animales y en humanos.

McCuster y cols.⁴⁴, realizaron provocaciones nasales con ovoalbúmina en un modelo murino, demostrando cambios inflamatorios tanto en vías aéreas nasales como bronquiales y encontrando niveles elevados de interleucina 5 (IL-5) y polifomonucleares en el lavado broncoalveolar. Braunstahl y cols.⁴⁵, estudiaron la expresión de las moléculas de adhesión en biopsias nasales y bronquiales obtenidas de forma previa y a las 24 horas tras la provocación nasal con alérgeno en pacientes con rinitis estacional. Encontraron aumentos significativos de los eosinófilos en el epitelio, la lámina propia nasal y en el epitelio bronquial a las 24 horas, lo cual se correlacionó con la expresión de las moléculas de adhesión. Igualmente detectaron un aumento significativo del número de eosinófilos y del nivel de IL-5 en las muestras de sangre obtenidas a las 24 horas.

Beeh y cols.⁴⁵, estudiaron marcadores de la inflamación en esputo inducido y en plasma de forma previa y a las 24 horas después de realizar una provocación nasal con pólenes en pacientes alérgicos fuera de la época estacional. Encontraron un aumento de los marcadores de la inflamación (ECP e ICAM) en esputo que se correlacionó con un aumento de la IL-5 en plasma. Otros trabajos han demostrado una respuesta inflamatoria bronquial en pacientes con rinitis alérgica sin asma tras la exposición natural a pólenes, y tras provocaciones bronquiales repetidas a bajas dosis⁴⁶⁻⁵⁰.

Inflamación bronquial y respuesta nasal

Braunstahl y cols.^{51,52}, estudiaron desde el punto de vista opuesto la respuesta inflamatoria nasal tras la provocación bronquial segmentaria con alérgeno (gramíneas) en pacientes con rinitis pero sin asma, y al igual que sucede en el bronquio tras la provocación nasal, encontraron presencia de inflamación en la biopsia nasal.

Inflamación nasal y respuesta gastrointestinal

Existen muy pocos datos acerca de las interacciones fisiopatológicas que ocurren entre la mucosa del tracto respiratorio y la del tracto gastrointestinal en individuos alérgicos. En un estudio reciente, Magnusson y cols.⁵³, practicaron biopsias de duodeno a 9 pacientes con alergia al polen de abedul al final de la época estacional y repitieron el procedimiento 6 meses más tarde. Encontraron que en la primera muestra existía un aumento significativo de eosinófilos con presencia de la proteína básica mayor, y de células positivas para la inmunoglobulina E (IgE) con respecto a la segunda muestra, con lo cual proporcionan una evidencia importante de la interrelación que ocurre entre células inmunológicamente activas en la vía aérea y en el intestino.

Mecanismos de la interrelación

Varios mecanismos han sido propuestos para explicar la interrelación entre la nariz y los bronquios:

Reflejo nasobronquial: no existe una evidencia firme de que exista un aumento en la expresión de este reflejo en los pacientes con rinitis. Habrá que investigar en el futuro la posibilidad de que las interacciones neurales entre la nariz y los bronquios sean las responsables de la tos crónica relatada por muchos pacientes con síndrome respiratorio alérgico². Lo que está claro es el papel crucial que juega la nariz en el acondicionamiento del aire (filtración de partículas sólidas y de gases, humidificación, y calentamiento), de hecho se ha comprobado que la respiración bucal, a diferencia de la nasal, se asocia a una mayor caída del FEV₁ en pacientes asmáticos a quienes se les realiza una prueba de broncoprovocación con esfuerzo⁵⁴.

Drenaje de mediadores inflamatorios: esta hipótesis plantea que existe una aspiración de mediadores, los cuales están presentes en las secreciones o en el aire inspirado, que alcanzan la vía aérea inferior especialmente durante la noche, llevando a un deterioro de la función pulmonar, aumento de la hiperreactividad bronquial y presencia de síntomas al despertarse². No obstante, el único estudio realizado en humanos donde se ha tratado de aclarar este aspecto no lo ha podido conformar. En dicho estudio, Bardin y cols.⁵⁵, inyectaron Tc 99 en los senos maxilares de pacientes con sinusitis crónica y asma moderada a grave, y realizaron un monitoreo de la vía aérea inferior durante 24 horas evaluando la presencia de radioactividad, no encontrándose indicios de material radioactivo en ningún punto de los campos pulmonares a pesar de que sí lo hallaron en el tracto gastrointestinal. A pesar de estos resultados, se sabe que varias sustancias inflamatorias producidas durante las reacciones alérgicas pueden entrar en una fase gaseosa, o generar aerosoles que se pueden distribuir en el árbol bronquial⁵⁶, por lo cual esta hipótesis no puede ser descartada de forma categórica.

Diseminación sistémica de mediadores: probablemente la información más relevante y más reciente con respecto a los mecanismos de interacción entre la vía aérea superior e inferior se ha derivado de uno de los trabajos realizado por Braunstahl y cols.⁴⁵. Estos investigadores realizaron provocaciones nasales con alérgeno a pacientes con rinitis alérgica. Previamente y 24 horas después de la provocación nasal, se tomaron biopsias de la mucosa bronquial. Encontraron que el número de eosinófilos en la vía aérea inferior así como la expresión de moléculas de adhesión se incrementaba después de la provocación nasal. Estos datos sumados a que

la provocación nasal con alérgeno induce eosinofilia^{2,43}, y activación leucocitaria⁵⁷ en sangre periférica, han permitido proponer la hipótesis de que uno de los mecanismos primarios de la interacción entre rinitis y asma es la propagación sistémica de la inflamación desde la mucosa nasal a la bronquial. Además se ha visto que éste no es un fenómeno unidireccional, pues tal como se comentó previamente, Braunstahl y cols.^{51,52}, también han encontrado aumento de marcadores inflamatorios en la mucosa nasal al realizar una provocación bronquial segmentaria con alérgeno. Todo lo anterior, proporciona un claro convencimiento sobre la existencia de una cascada inflamatoria alérgica que tiene su origen sobre una superficie mucosa, pero que tiende a propagarse sistémicamente².

En resumen, se puede decir que el mecanismo más probablemente implicado en la interrelación nariz-bronquios es la diseminación sistémica de la respuesta alérgica. La aspiración de mediadores, especialmente en fase gaseosa, pudiera tener alguna importancia pero esto no se ha demostrado claramente.

DESARROLLO DE ASMA EN ALERGIA A POLEN VS ÁCAROS

Epidemiología del asma en pacientes con alergia a ácaros

Los alérgenos de los ácaros son los aeroalérgenos interiores más prevalentes en todo el mundo. En Europa, aproximadamente un 20% de la población está sensibilizada a los ácaros del polvo⁵⁸. La exposición, y la sensibilización a los alérgenos de los ácaros se han relacionado directamente con el desarrollo de asma, sibilancias e hiperreactividad bronquial^{59,60}. En un estudio prospectivo, Sears y cols.⁶¹, evaluaron una cohorte de 613 niños y llevaron a cabo un seguimiento durante un promedio de 17 años. Las evaluaciones comprendieron la realización repetida de pruebas de función pulmonar, provocaciones bronquiales, cuestionarios de calidad de vida y pruebas de alergia. Los autores encontraron que a la edad de 26 años, el 51% de los sujetos evaluados había reportado la presencia de sibilancias en más de una de las visitas de seguimiento, el 14,5% tenía sibilancias persistentes desde la infancia, y el 12,4% había recaído después de haber presentado una mejoría transitoria. Tanto la persistencia de sibilancias como la recaída se asociaron de forma significativa con la sensibilización previa a los ácaros del polvo.

Se ha visto que la concentración de alérgenos juega un papel fundamental en el desarrollo de asma. La exposición a 2 µg de *Der p 1* o *Der f 1* por gramo de polvo (aproximadamente 100 ácaros por gramo) se considera un factor de riesgo para desarrollar sensibilización. Si esta concentración se eleva a 10 µg por gramo de polvo o más (aproximadamente 500 ácaros por gramo), se considera un factor de riesgo mayor para el desarrollo de asma en individuos genéticamente predispuestos⁶².

Por otro lado se ha visto que la rinitis persistente (comúnmente producida por los ácaros y los epitelios de animales), es un factor de riesgo importante para el desarrollo de asma. Leynaert y cols.⁶³, encontraron una prevalencia de asma cercana al 14% en pacientes con rinitis persistente frente al 4% en pacientes con rinitis intermitente. Por otro lado, en el Estudio de Alergia de Copenhague⁶⁸, la incidencia de asma en pacientes con rinitis alérgica y sensibilización a los ácaros fue del 26%, frente al 14% en aquellos con rinitis alérgica sensibilizados a pólenes.

En España específicamente, el estudio Alergológica²², reporta una incidencia de asma extrínseca del 80%. De este porcentaje, el 53% está relacionado con los ácaros y el 34% con los pólenes.

Características diferenciales de la exposición a ácaros

Aunque el ciclo vital de los ácaros está influenciado por factores como la temperatura y la humedad, sus partículas alérgicas pueden considerarse como alérgenos interiores perennes. Estas características determi-

nan que los individuos sensibilizados experimenten una exposición permanente, que aunque no necesariamente se relacione con la presencia de síntomas, puede ocasionar una inflamación mínima persistente, disminuyendo el umbral para el desarrollo de síntomas y favoreciendo la aparición con mayor facilidad de alteraciones funcionales e inflamación bronquial. A diferencia de este modelo, los alergenitos de los pólenes pueden considerarse en principio como alergenitos exteriores y estacionales, con lo cual se lograría un período de tiempo prolongado sin presencia de inflamación ni síntomas. No obstante, algunos alergenitos (por ejemplo los de las gramíneas), pueden estar presentes durante gran parte del año dando lugar a la aparición de síntomas y de inflamación persistentes. Por otro lado, la polisensibilización a diferentes tipos de pólenes puede asociarse con estas alteraciones. Para resumir, es probable que en el desarrollo de rinitis alérgica y asma, las características de la exposición alérgica tengan una importancia igual o mayor a las propias características del alergenito. Esto puede ser reafirmado si se tienen en cuenta los resultados del estudio de Kihlstrom y cols.¹⁵, comentado al principio de este capítulo, o los de aquellos estudios donde se describen la asociación de tormentas con síntomas de asma y visitas a urgencias en pacientes polínicos^{27,28}.

Penetración de los alergenitos de los ácaros en el árbol bronquial

Los alergenitos de los ácaros tienen forma esférica. La actividad alérgica ha sido detectada tanto en partículas menores de 1 μm como en partículas mayores de 10 μm ⁶⁵. Es decir, según estos datos, se puede inferir su capacidad de llegar incluso hasta las regiones más distales de la vía aérea. Fergusson y Broide⁶⁶, demostraron la presencia de *Der p 1* en el lavado broncoalveolar de niños asmáticos después de una exposición nocturna a niveles de *Der p 1* de 13,4 y 27,3 μg en alfombras y colchones respectivamente.

Capacidad inflamatoria de los alergenitos de los ácaros (tabla 5)⁶⁷

La mayoría de los alergenitos de los ácaros son enzimas proteolíticas relacionadas con su proceso digestivo. De hecho, las partículas fecales de los ácaros transportan la mayoría de sus alergenitos. *Der p 1* es una cisteína proteasa. Esta actividad enzimática ha sido señalada como uno de los factores que contribuye a su potencial alérgico y proinflamatorio. *Der p 1* y *Der p 9*, un alergenito con actividad colagenasa, inducen la producción de IL-8, IL-6 y factor estimulante de colonias de granulocitos-monocitos (GM-CSF) en el epitelio bronquial, lo cual puede contribuir a la acumulación de células proinflamatorias como neutrófilos, eosinófilos y linfocitos⁶⁸. La potencia alérgica de *Der p 1* también ha sido asociada a los siguientes efectos, producto de su actividad enzimática:

1. Ruptura de la alfa 1 antitripsina.
2. Ruptura selectiva del receptor de baja afinidad para la IgE, lo que elimina mecanismos reguladores que controlan su síntesis y conduce a aumentar la respuesta alérgica.
3. Ruptura de la subunidad alfa del receptor de la interleucina (IL) 2 (CD25), lo cual favorece el desvío de la respuesta inmunológica hacia el perfil Th2 (alérgico)⁶⁹. Recientemente se ha demostrado que *Der p 1* tiene efectos adicionales sobre los mecanismos de defensa innata del pulmón. Este alergenito inactiva los inhibidores de elastasa, los cuales cumplen funciones antimicrobianas y antielastasa. Esta propiedad podría representar un aumento en el riesgo de infección en los pacientes con inflamación alérgica⁷⁰.

Aproximadamente el 80% de los pacientes alérgicos a los ácaros tiene IgE específica contra los alergenitos del grupo 2, *Der p 2* y *Der f 2*. Entre el 60 y el 80% de los pacientes alérgicos a *Dermatophagoides* presentan IgE contra alergenitos del grupo 3, los cuales tienen actividad de tripsina. *Der p 4* tiene actividad de

TABLA 5.

Alergenos de los ácaros. Actualmente se han caracterizado 14 grupos de alergenios, muchos de los cuales presentan actividad enzimática y homología en la secuencia de aminoácidos entre ellos mismos y con otras proteínas. Ver texto. PM (kDa): peso molecular en kilodaltons. Adaptado de Fernández-Caldas E⁷¹

Grupo	Alergenos	Pm (kda)	Actividad enzimática	Homologías estructurales
1	Der p 1, Der f 1, Eur m 1, Der m 1	25	Cisteína proteasa	• Entre Der p 1, Der f 1 y Der m 1: 80% • Con Actinidina, Papaína, Catepsinas
2	Der p 2, Der f 2, Eur m 2, Tyr p 2	14	----	• Entre Der p 2 y Der f 2: 88% • Con Proteínas epididimales
3	Der p 3, Der f 3, Eur m 3	28-30	Serina proteasa (tripsina)	• Entre Der p 3, Der f 3 y Eur m 3 : 81% • Con Serina proteasas: 50%
4	Der p 4	56-63	----	• Con Amilasa
5	Der p 5, Blo t 5	14	----	• Entre Der p 5 y Blo t 5: 43%
6	Der p 6	25	Serina proteasa (Quimiotripsina)	• Entre Der p 6 y Der p 3: 37%
7	Der p 7, Der f 7	22	----	• Entre Der p 7 y Der f 7: 88%
8	Der p 8	25	----	• Entre Der p 8 y Bla g 5: 25% • Con Glutathion S transferasa roedores
9	Der p 9	24-28	Colagenolítica	----
10	Der p 10, Der f 10	37	Tropomiosina	• Con Alfa tropomiosina
11	Der f 11	98	----	• Con Paramiosina
12	Blo t 12	14	----	----
13	Blo t 13	14,8	----	• Con Proteínas citosólicas que unen ácidos grasos
14	Der p 14 y Der f 14	177	Proteasa parecida a la apolipoproteína	----

amilasa. Al *Der p 5* y el *Der p 7* no se les conoce actividad biológica pero el *Der p 5* tiene una frecuencia de reactividad del 60% en asmáticos alérgicos. *Der p 6* y *Der f 6* son proteasas de serina y *Der p 8* es homólogo a la glutathion transferasa S. *Der p 10* y *Der f 10* son tropomiosinas y son los responsables de la existencia de reactividad cruzada entre moluscos, crustáceos, cucarachas y ácaros. *Der f 11* tiene actividad de paramiosina. *Der p 14* y *Der f 14* son proteasas similares a la apolipoproteína.

Acciones biológicas de las peptidasas de los ácaros: las células dendríticas (CD) son las principales células presentadoras de antígeno del tracto respiratorio y por ello son de crucial importancia en el desarrollo de alergia respiratoria. Durante el proceso de sensibilización, los alergenios deben penetrar la barrera formada por las células epiteliales y establecer contacto con las CD que se ubican por debajo de éstas. Existen dos formas potenciales de llevar a cabo este proceso: atravesando las células (transcelular) o penetrando a través de las uniones entre ellas (paracelular). Las membranas celulares tienen una permeabilidad baja a los alergenios de los ácaros; además, hasta el día de hoy no se ha identificado ningún transportador trans-celular. En este sentido, la vía paracelular parece ser la más lógica para el paso de los alergenios a través del epitelio. No obstante,

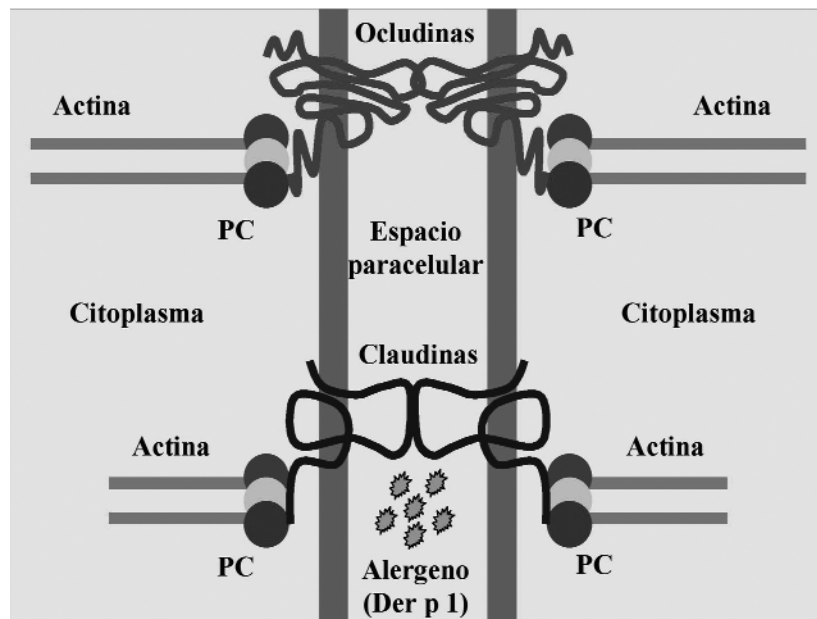


FIGURA 6. Representación esquemática del espacio intercelular (unión estrecha) del epitelio respiratorio. La alteración a este nivel constituye el principal medio para la entrada de los alérgenos (véase texto). Adaptado de Stewart GA y cols.⁴¹

te, el acceso a los espacios paracelulares está restringido por las “*uniones estrechas*” que sellan los canales paracelulares apicalmente regulando la permeabilidad. Los estudios realizados con los alérgenos de las peptidasas indican que las “*uniones estrechas*” representan un blanco clave en el proceso de penetración del epitelio por estos alérgenos. El punto central para este descubrimiento fue la teoría de que los alérgenos son moléculas bioactivas, cuyas acciones independientes de la IgE influyen de manera significativa en el desarrollo de *alergia*⁷¹⁻⁷³.

Las “*uniones estrechas*” están conformadas por ensamblajes moleculares localizados en el punto más apical de la membrana lateral de las células epiteliales (figura 6). Las proteínas incluidas en las uniones estrechas comprenden proteínas de adhesión transmembrana (occludinas, claudinas y moléculas de adhesión de la unión) y proteínas citoplasmáticas (proteínas asociadas a la membrana relacionadas con la guanilato kinasa) que interaccionan a su vez con las primeras y con proteínas del citoesqueleto (actina)⁷⁴. Las peptidasas de los ácaros atacan los enlaces peptídicos de los dominios extracelulares de las occludinas y las claudinas, iniciando la desintegración de la unión. Cuando este proceso es limitado, ocurre un reensamblaje rápido y completo de las proteínas sin mayores repercusiones nocivas⁷⁵, pero cuando es extenso, las células del epitelio desarrollan apoptosis, ocurriendo exfoliación de las mismas y creándose una permeabilidad muy alta que facilita la entrada de los alérgenos⁷⁶ y de algunas macromoléculas como la albúmina.

En resumen, existe evidencia suficiente de que la exposición y sensibilización a los ácaros constituye un factor de riesgo mayor para el desarrollo y la persistencia del asma. Al ser alérgenos perennes, el efecto de la inflamación persistente probablemente contribuye a la mayor prevalencia de asma en pacientes sensibilizados a ácaros que en aquellos sensibilizados a pólenes. No obstante, aunque no existen trabajos que lo demuestren, la exposición a pólenes que generen altas concentraciones durante varios meses, o la polisensibilización, también podrían ocasionar este fenómeno.

La capacidad inflamatoria de los alérgenos de los ácaros ha sido estudiada ampliamente. La actividad enzimática de éstos es diferente a la de los alérgenos de los pólenes y esto podría contribuir a la diferencia en la incidencia de asma. Una característica fundamental es su actividad peptidasa, a través de la cual se puede explicar cómo los alérgenos penetran a través del epitelio respiratorio.

CONCLUSIONES

El asma es un problema de salud global cuya prevalencia va en aumento. La frecuencia de asma en la polinosis es variable pudiendo incluso sobrepasar el 50%. En España, los dos principales pólenes causantes de asma son el de las gramíneas y el olivo. No obstante, ciertos pólenes, como el de la *Parietaria* y el platanero parecen tener mayor capacidad de generar síntomas de la vía aérea inferior, pues la frecuencia de asma en los pacientes sensibilizados a éstos es mayor al 60%.

Según la información disponible respecto al tamaño de las partículas y su entrada en la vía aérea, es poco probable que los granos de polen penetren más allá de la tráquea. No obstante, se ha descrito la presencia de algunas partículas de pequeño tamaño contenidas en el grano de polen o asociadas a éste, que poseen la capacidad de transportar alérgenos, y que pueden ser las responsables de la penetración de alérgenos en los bronquios y sus ramificaciones. Muchos de los alérgenos de los diferentes tipos de polen poseen actividad enzimática que les puede conferir un efecto proinflamatorio adicional.

En los últimos años se han publicado varios estudios epidemiológicos, clínicos y experimentales donde se ha demostrado la relación entre la rinitis y el asma. Existen varias teorías que podrían explicar dicha interrelación, pero la más previsible es la que propone que los mediadores generados en una mucosa, se diseminan sistémicamente, generando inflamación en otras mucosas.

Los ácaros desencadenan asma más frecuentemente que los pólenes. Esto puede ser debido a que son alérgenos perennes, lo cual puede facilitar la presencia de inflamación persistente, y del empeoramiento de los síntomas. No obstante, algunas condiciones de la polinosis tales como la polisensibilización, la exposición a concentraciones de polen demasiado altas, o la persistencia de niveles elevados por tiempo prolongado, podrían eventualmente imitar las características de exposición a los ácaros.

BIBLIOGRAFÍA

1. BOUSQUET J, VAN CAWENBERGE P, KHALTOEV N, AND THE WORLD HEALTH ORGANIZATION. ARIA. *Allergic rhinitis and its impact on asthma*. J Allergy Clin Immunol 2001; 108: S147-333.
2. TOGIAS A. *Rhinitis and asthma: Evidence for respiratory system integration*. J Allergy Clin Immunol 2003; 111: 1171-83.
3. ADAMS JB, FUHLBRIGGE AL, FINKELSTEIN JA, WEISS T. *Intranasal steroids and the risk of emergency department visits for asthma*. J Allergy Clin Immunol 2002; 109: 636-42.
4. GREISNER W, SETTIPANE R, SETTIPANE G. *The course of asthma parallels that of allergic rhinitis: a 23 year follow-up study of college students*. Allergy Asthma Proc 2000; 21: 371-76.
5. CORREN J. *Allergic rhinitis and asthma: how important is the link?* J Allergy Clin Immunol 1997; 99: S781-6.
6. NACIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH), NACIONAL HEART, LUNG AND BLOOD INSTITUTE. *Global initiative for asthma: global strategy for asthma management and prevention*. NIH pub N° 02-3659, Bethesda, Md, 2002, NIH.
7. BEASLEY R, KEIL U, VON MUTIUS E, PEARCE N. *World wide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis and atopic eczema*, ISAAC. Lancet 1998; 351: 1225-32.
8. JANSON C, ANTO J, BURNEY P, CHINN S, DE MARCO R, HEINRICH J, ET AL. *The European Community Respiratory Health Survey: what are the main results is far?* Eur Respir J 2001; 18: 598-611.
9. BERGMANN RL, EDENHARTER G, BERGMANN KE, GUGGENMOOS-HOLZMANN I, FORSTER J, BAUER CP, ET AL. *Predictability of early atopy by cord blood IgE and parental history*. Clin Exp Allergy 1997; 27: 752-60.
10. SPORIK R, HOLGATE S, PLATTS-MILLS TAE, COGSWELL J. *Exposure to house dust mite allergen (Der p 1) and the development of asthma in childhood. A prospective study*. New Engl J Med 1990; 323: 502-7.
11. ARSHAD S, MATTHEWS, GANT C, HIDE D. *Effect of allergen avoidance on development of allergic disorders in infancy*. Lancet 1992; 339: 1493-97.
12. WAHN U, LAU S, BERGMANN R, KULIG M, FORSTER J, BERGMANN K, ET AL. *Indoor allergen exposure is a risk factor for sensitization during the first three years of life*. J Allergy Clin Immunol 1997; 99: 763-69.
13. KUEHR J, FRISCHER T, MEINERT R, BARTH R, FORSTER J, SCHRAUB S, ET AL. *Mite allergen exposure is a risk for the incidence of specific sensitization*. J Allergy Clin Immunol 1994; 94: 44-52.
14. VON MUTIUS E, SEARS MR. Chapter 3: *Risk factors for development of asthma*. En: Asthma European Respiratory Monograph 2003. pp 57-73.
15. KIHLMSTROM A, LIJIA G, PERSHAGEN G, HEDLIN G. *Exposure to birch pollen in infancy and the development of atopic disease in childhood*. J Allergy Clin Immunol 2002; 110: 78-84.
16. A.LINNENBERG, N. HENRIK NIELSEN, L. FROLUND, F. MADSEN, A. DIRKSEN, T. JORGENSEN. *The Link between allergic rhinitis and allergic asthma: a prospective population based study. The Copenhagen Allergy Study*. Allergy 2002; 57:1048-52.

17. CASASNOVAS P, RUANO F, CÁRDENAS R, FELIU A, HIDALGO P, DAROCA P, ET AL. Historia natural de la rinitis polínica II: desarrollo de otras enfermedades alérgicas. *Abstract. Alergol Immunol Clin* 2003; 18 (E3): 160.
18. LÓPEZ CAMPOS C, RINCÓN CASTAÑEDA CB, BORJA ABURTO V, GÓMEZ MUÑOZ A, TELLEZ VALDES O, MARTÍNEZ ORDAZ V, ET AL. Respiratory function in allergic asthmatic children and its relation to the environmental pollen concentration. *Rev Alerg Mex* 2003; 50: 129-34.
19. BOUSQUET J, BOUSHEY HA, BUSSE W, CANONICA GW, DURHAM SR, IRVIN CG, ET AL. Characteristics of patients with seasonal allergic rhinitis and concomitant asthma. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 897-903.
20. SUBIZA J, JEREZ M, JIMÉNEZ JA, NARGANES MJ, CABRERA M, VARELA S, ET AL. Allergenic pollen pollinosis in Madrid. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 15-23.
21. LICCARDI G, KORDASH TR, RUSSO M, NOSCHESI P, CALIFANO C, D'AMATO M. Why are nasal and bronchial symptoms mostly perennial in patients monosensitized to *olea europaea* pollen allergens? *J Invest Allergol Clin Immunol* 1996; 6: 371-7.
22. SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ALERGOLOGÍA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA. *Alergológica (Factores Epidemiológicos, Clínicos y Socioeconómicos de las Enfermedades Alérgicas en España)*. Madrid. ALK-Abelló 1995.
23. VARELA S, SUBIZA J, SUBIZA JL, RODRÍGUEZ R, GARCÍA B, JEREZ M, ET AL. *Platanus* pollen as an important cause of pollinosis. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 748-54.
24. RAMÍREZ DA. The natural history of mountain cedar pollinosis. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73: 88-93.
25. POLA POLA J. Alergia a pólenes de *quenopodiáceas*. *Alergol Immunol Clin* 2003; 18 (E3): 39-44.
26. STEWART GA, ROBINSON C. Allergen structure and function. En: Adkinson NF, Yunginger JW, Busse WW, Bochner BS, Holgate ST, Simons FE. *Middleton's Allergy Principles and Practice*. Mosby Inc. 2003: 585-609.
27. SUPHIOGLU C, SINGH MB, TAYLOR P, BELLOMO R, HOLMES P, PUY R, ET AL. Mechanism of grass-pollen-induced asthma. *Lancet* 1992; 339: 569-72.
28. WARK PAB, SIMPSON J, HENSLEY MJ, GIBSON PG. Airway inflammation in thunderstorm asthma. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 1750-6.
29. D'AMATO G. Airborne paucimicronic allergen-carrying particles and seasonal respiratory allergy. *Allergy* 2001; 56: 1109-11.
30. WILSON AF, NOVEY HS, BERKE MD, SURPRENANT EL. Deposition of inhaled pollen and pollen extract in human airways. *N Engl J Med* 1973; 288: 1056-88.
31. CHENG YS, SMITH SM, YEH AC. Deposition of ultrafine particles in human tracheobronchial airways. *Ann Occup Hyg* 1997; 41: S714-18.
32. THOMPSON PJ, STEWART GA, SAMET JM. Capítulo 15: Alergenos y agentes contaminantes. En: Holgate ST, Church MK, Lichtenstein LM. *Alergia*. Ediciones Harcourt S.A. 2002: 213-42.
33. GALLUCCI S, MATZINGER P. Danger signals: SOS to the immune system. *Curr Opin Immunol* 2001; 13: 114-9.
34. CONNELL JT. Quantitative intranasal pollen challenge, environmental pollen exposure, and placebo challenge on the nasal membrane. *J Allergy* 1968; 41: 123-39.
35. ROBINSON C, KALSHEKER NA, SRINIVASAN N, KING CM, GARROD DR, THOMPSON PJ, ET AL. On the potential significance of the enzymatic activity of mite allergens to immunogenicity: clues to structure, and function revealed by molecular characterization. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 10-21.
36. STEWART GA, THOMPSON PJ, MC WILLIAM AS. Biochemical properties of aeroallergens: contributory factors in allergic sensitization? *Pediatr Allergy Immunol* 1993; 4: 163-72.
37. TRAUHL-HOFFMANN C, KASCHE A, JAKOB T, HUGER M, PLÖTZ S, FEUSSNER I, ET AL. Lipid mediators from pollen act as chemoattractants and activators of polymorphonuclear granulocytes. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 831-8.
38. TINGHINO R, TWARDOSZ A, BARLETTA B, PUGGIONI EM, LACOVACCI P, BUTTERONI C, ET AL. Molecular, structural, and immunologic relationship between different families of recombinant calcium-binding pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 314-20.
39. BORISH L. Allergic rhinitis: systemic inflammation and implications to management. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 1021-31.
40. CORREN J, ADINOFF A, IRVIN C. Changes in bronchial responsiveness following nasal provocation with allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89: 611-618.
41. SCHUMACHER M, COTA K, TAUSSIG L. Pulmonary response to nasal-challenge testing of atopic subjects with stable asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78: 30-35.
42. LITTELL N, CARLISLE C, MILLMAN R, BRAMAN S. Changes in airway resistance following nasal provocation. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 580-583.
43. TOGIAS A. Systemic immunologic and inflammatory aspects of allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: S247-250.
44. MCCUSTER C, CHICOINE M, HAMID D, MAZER B. Site-specific sensitization in a murine model of allergic rhinitis: role of the upper airway in lower airway disease. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 891-8.
45. BRAUNSTAHL GJ, OVERBEEK SE, KLEINJAN A, PRINS JB, HOOGSTEDEN HC, FOKKENS WJ. Nasal allergen provocation induces adhesion molecule expression and tissue eosinophilia in upper and lower airways. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 469-76.
46. BEEH KM, BEIER J, KORNMANN O, MEIER C, TAEUMER T, BUHL R. A single nasal allergen challenge increases induced sputum inflammatory markers in non-asthmatic with seasonal allergic rhinitis: correlation with plasma interleukin-5. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 475-82.
47. CHAKIR J, LAVIOLETTE M, TURCOTTE H, BOUTET M, BOULET LP. Cytokine expression in the lower airways of nonasthmatic subjects with allergic rhinitis: Influence of natural allergen exposure. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 904-10.
48. BOULAY ME, BOULET LP. Influence of natural exposure to pollen and domestic animals on airway responsiveness and inflammation in sensitized non-asthmatic subjects. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 128: 336-43.
49. BRAUNSTAHL GJ, FOKKENS WJ, OVERBEEK SE, KLEINJAN A, HOOGSTEDEN HC, PRINS JB. Mucosal and systemic inflammatory changes in allergic rhinitis and asthma: A comparison between upper and lower airways. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 579-87.
50. BOULAY ME, BOULET LP. Lower airway inflammatory responses to repeated very low dose allergen challenge in allergic rhinitis and asthma. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 1441-47.
51. BRAUNSTAHL GJ, KLEINJAN A, OVERBEEK SE, PRINS JB, HOOGSTEDEN HC, FOKKENS WJ. Segmental bronchial provocation induces nasal inflammation in allergic rhinitis patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 2051-7.

52. BRAUNSTAHL GJ, OVERBEEK SE, FOKKENS WJ, KLEINJAN A, MCEUEN AR, WALLS AF, HOOGSTEDEN HC, PRINS JB. *Segmental bronchoprovocation in allergic rhinitis affects mast cell and basophil numbers in nasal and bronchial mucosa*. *Am Respir Crit Care Med* 2001; 164: 858-65.
53. MAGNUSSON J, PING LIN X, DAHLMAN-HÖGLUND A, HANSON LA, TELEMO E, MAGNUSSON O, ET AL. *Seasonal intestinal inflammation in patients with birch pollen allergy*. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 45-51.
54. SHURMAN-ELLSTEIN R, ZEBALLOS R, BUCKLEY J, SOUHRADA J. *The beneficial effect of nasal breathing on exercise induced bronchoconstriction*. *Am Rev Respir Dis* 1978; 118: 65-73.
55. BARDIN P, VANHEERDEN B, JOUBERT J. *Absence of pulmonary aspiration of sinus contents in patients with asthma and sinusitis*. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86: 82-8.
56. CSOMA Z, KHARITONOV S, BALINT B, BUSH A, WILSON N, BARNES P. *Increased leukotrienes in exhaled breath condensate in childhood asthma*. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 1345-9.
57. TOGIAS A, BIENEMAN A, BLOOM D, SCHLEIMER R, LEZZONI D, HARRIS A, ET AL. *Changes in blood leucocyte cytokine expression following repeated nasal allergen provocation: evidence for systemic manifestations [abstract]*. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: S262.
58. ARSHAD S. *Indoor allergen exposure in the development of allergy and asthma*. *Current Allergy and Asthma Reports* 2003; 3: 115-20.
59. SPORIK R, HOLGATE ST, PLATTS-MILLS TAE, COGSWELL JJ. *Exposure to house dust mite allergen (Der p 1) and the development of asthma in the childhood*. *N Engl J Med* 1990; 323: 502-7.
60. LAU S, ILLI S, SOMMERFELD C, NIGGEMANN B, BERGMANN R, VON MUTIS E, ET AL. *Early exposure to house dust mite and cat allergens and development of childhood asthma: a cohort study*. *Multicentre Allergy Study Group*. *Lancet* 2000; 356: 1392-7.
61. SEARS MR, GREENE JM, WILLAN AR, WIECEK EM, TAYLOR R, FLANNERY EM, ET AL. *A longitudinal, population-based, cohort study of childhood asthma followed to adulthood*. *New Engl J Med* 2003; 349: 1414-22.
62. PLATTS-MILLS TAE, DE WECK A. *Dust mite allergen and asthma-A world wide problem*. *Bull WHO* 1989; 66: 769-80.
63. LEYNAERT B, BOUSQUET J, NEUKIRCH C, LIAUD R, NEUKIRCH F. *Perennial rhinitis: An independent risk factor for asthma in nonatopic subjects: Results from The European Community Respiratory Health Survey*. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 54-9.
64. LINNENBERG A, HENRIK NIELSEN N, FROLUND L, MADSEN F, DIRKSEN A, JORGENSEN T. *The Link between allergic rhinitis and allergic asthma: a prospective population based study*. *The Copenhagen Allergy Study*. *Allergy* 2002; 57:1048-52.
65. SAKAGUSHI M, INOUE H, YASUEDA H, IRIE T, YOSHIZAWA S, SHIDA T. *Measurement of allergen associated with dust mite allergy II: concentration of airborne mite allergen (Der I and Der II) in the house*. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1989; 90: 190.
66. FERGUSSON P, BROIDE DH. *Environmental and bronchoalveolar lavage Dermatophagoides pteronyssinus antigen levels in tropic asthmatics*. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 71-4.
67. FERNÁNDEZ-CALDAS E. *Dust mite allergens: mitigation and control*. *Current Allergy and Asthma Reports* 2002; 2: 424-9.
68. KING C, BRENNAN S, THOMPSON PJ, STEWART GA. *Dust mite proteolytic allergens induce cytokine release from cultured airway epithelium*. *J Immunol* 1998; 161: 3645-51.
69. SHAKIB F, SCULZ O, SEWELL H. *A mite subversive: cleavage of CD23 and CD25 by Der p 1 enhances allergenicity*. *Immunology Today* 1998; 19: 313-16.
70. BROWN A, FARMER K, MACDONALD L, KALSHEKER N, PRITCHARD D, HAS C, ET AL. *House dust mite Der p 1 downregulates defenses of the lung inactivating elastase inhibitors*. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003; 29: 381-9.
71. ROBINSON C, KALSHEKER NA, SRINIVASAN N, KING CM, GARROD DR, THOMPSON PJ, ET AL. *On the potential significance of the enzymatic activity of mite allergens to immunogenecity: clues to structure, and function revealed by molecular characterization*. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 10-21.
72. HERBERT CA, HOLGATE ST, ROBINSON C, THOMPSON PJ, STEWART GA. *Effect of mite allergen on permeability of bronchial mucosa*. *Lancet* 1990; 336: 1132.
73. HERBERT CA, KING CM, RING PC, HOLGATE ST, STEWART PA, THOMPSON PJ, ET AL. *Augmentation of permeability in the bronchial epithelium by the house dust mite allergen Der p 1*. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 12: 369-78.
74. TSUKITA S, FURUSE M, ITOH M. *Multifunctional strands in tight junction*. *Nat Rev Mol Cel Biol* 2001; 2: 285-93.
75. WAN H, WINTON HL, SOELLER C, TOVEY ER, GRUENERT DC, THOMPSON PJ, ET AL. *Der p 1 facilitates transepithelial allergen delivery by disruption of tight junction*. *J Clin Invest* 1999; 104: 123-33.
76. WINTON HL, WAN H, CANNELL MB, THOMPSON PJ, GARROD DR, STEWART GA, ET AL. *Class specific inhibition of house dust mite proteinases which cleave cell adhesion, induce cell death and which increase the permeability of lung epithelium*. *Br J Pharmacol* 1998; 124: 1048-59.

Polinosis y pediatría

LAIA FERRÉ YBARZ, JOSÉ LUIS ESEVERRI ASIN

Unidad de Alergia Pediátrica. Hospital Maternoinfantil de la Vall d'Hebron. Barcelona

INTRODUCCIÓN

La fiebre del heno o polinosis es la inflamación de la mucosa respiratoria (nasal, conjuntival y/o bronquial) causada por agentes externos (alergenos) contenidos en los granos de polen a través de un mecanismo inmunológico mediado por IgE.

La capacidad alergénica de los pólenes reside en sus granos recubiertos por una pared lipoidea muy resistente llamada exina. Las plantas adaptadas a un sistema de fecundación mediante transferencia aérea (anemogamia) son las que presentan una mayor relevancia alergénica. Una de las características que confiere a los granos de polen capacidad alergenizante es su tamaño que, en general, varía entre 20 y 40 micras. La relevancia clínica de cada polen dependerá de múltiples factores como el tamaño, ubicación, condiciones meteorológicas.

La prevalencia de polinosis en Europa, Norteamérica y Japón ha aumentado en las últimas décadas¹. Este aumento ha sido atribuido por muchos autores al incremento de partículas de combustión diesel presentes en la atmósfera desde mediados del siglo pasado cuando el consumo de gasoil como fuente de energía aumentó de forma considerable. En la superficie de estas partículas se adhieren hidrocarburos poliaromáticos que tienen efectos a nivel inmunológico incrementando la respuesta de tipo Th2 frente a pólenes u otros alergenizantes. Las partículas de menor tamaño (diámetro < 0,05-0,10 µm) son muy abundantes en el medio urbano o en las zonas más polucionadas, siendo las que con mayor frecuencia se han relacionado con la aparición de diferentes patologías como la carcinogénesis, alteraciones inmunológicas, cardiovasculares.²

ATOPIA E INFANCIA

El término atopia hace referencia a la predisposición familiar o personal a producir anticuerpos IgE específicos en respuesta a alergenizantes (sensibilización) pudiendo desarrollar manifestaciones clínicas (alergia) como rinoconjuntivitis, asma bronquial y/o dermatitis. No es infrecuente que estas enfermedades se presenten siguiendo un patrón cronológico determinado al que se ha denominado marcha atópica. Las primeras manifestaciones clínicas suelen presentarse en forma de eczema atópico en lactantes que pueden acompañarse de episodios de bronquitis sibilante que, en ocasiones, evolucionan hacia asma bronquial. Las manifestaciones rinoconjuntivales pueden aparecer de forma concomitante o en edades más tardías. Desde la primera infancia se pueden encontrar sensibilizaciones asintomáticas a diferentes aeroalergenizantes³.

Globalmente se estima que las enfermedades atópicas afectan el 25-30% de la población pediátrica⁴. Según el Estudio Internacional de Asma y Alergia en la Infancia (ISAAC) existen diferencias importantes entre centros de España hallándose una prevalencia global para dermatitis atópica del 10,3%, 10-15% para asma bronquial y 31,3% para rinoconjuntivitis⁵.

POLINOSIS EN LA INFANCIA

Factores de riesgo

La historia natural de las enfermedades alérgicas se caracteriza por una secuencia de sensibilizaciones y manifestaciones clínicas que van apareciendo a lo largo de los años, persistiendo posteriormente y, en ocasiones, con tendencia a la remisión espontánea con la edad. Es la denominada marcha atópica.

Uno de los factores de riesgo más importante para el desarrollo de sensibilizaciones y sintomatología son los antecedentes familiares de atopía. La presencia de historia materna y/o paterna de atopía o asma incrementa de forma notable este riesgo, sobre todo cuando el antecedente proviene de la madre⁶. Por este motivo en muchos centros se realizan determinaciones de IgE de cordón como marcador de futuras sensibilizaciones a alérgenos, aunque no siempre acaban desarrollando una enfermedad alérgica⁷.

Se han realizado estudios sobre la influencia del mes de nacimiento en la presencia de futuras enfermedades alérgicas^{8,9}. En un trabajo realizado en Suecia se analizó la aparición de sensibilizaciones polínicas y rinoconjuntivitis alérgica en 209 niños desde su nacimiento hasta los 12-15 años de edad. Se observó que los niños nacidos durante la primavera presentaban con mayor frecuencia sensibilización polínica y rinoconjuntivitis alérgica respecto a los que lo hacían el resto del año, concretamente, observan un incremento de la incidencia de sensibilización a alimentos (leche, huevo y trigo) en niños nacidos en otoño e invierno. Asimismo los antecedentes familiares de atopía, el tiempo de exposición a los alérgenos y otros factores ambientales fueron considerados como cofactores¹⁰. Según Guerra et al la exposición a pólenes alérgicos durante los primeros meses de vida aumenta el riesgo de desarrollar una sensibilización con relevancia clínica a los mismos, particularmente los primeros 15 años de vida¹¹. En contraposición, otros trabajos no encuentran esta correlación¹².

La exposición ambiental a un determinado polen se relaciona con la aparición de sensibilización. Por tanto, la prevalencia de sensibilizaciones polínicas varía según la zona estudiada. El polen de abedul es muy frecuente en los países nórdicos siendo, por tanto, una causa importante de polinosis en ese territorio. Se ha observado que la exposición importante a polen de abedul aumenta el riesgo de sensibilización a dicho polen. La asociación de una exposición alta a aeroalérgenos durante el periodo postnatal (hasta los tres meses de edad) podría ser importante para la sensibilización y posterior desarrollo de la polinosis^{13,14}.

La prevalencia de polinosis y la influencia del medio en el que se habita también ha sido analizada. Según Nilsson et al la prevalencia de enfermedades alérgicas es menor en adolescentes que han pasado los primeros años de su vida en una zona rural que urbana¹⁰. Concretamente señalan los dos primeros años de vida como los más importantes para la sensibilización a aeroalérgenos. El mismo año se publicaron resultados contrarios en los que los porcentajes mayores de sensibilización a aeroalérgenos (principalmente gramíneas) correspondieron a un grupo de escolares de una zona rural mientras que la sensibilización a epitelios de animales fue mayor en el área urbana¹⁵. El contacto con animales domésticos podría actuar como un factor protector para el desarrollo de sensibilizaciones a aeroalérgenos^{5,16}.

Las explicaciones sobre el efecto del medio rural o urbano en el desarrollo de polinosis no están claras habiéndose postulado algunas hipótesis como diferencias en los hábitos alimenticios, polución ambiental, factores socioeconómicos, mayor número de actividades realizadas en el interior de las casas en zonas urbanas.^{32,17,18,19,20}. Uno de los factores estudiados es la influencia de la altura de la vivienda en la sensibili-

zación polínica. Se ha observado una mayor tendencia a la sensibilización polínica en los pacientes que viven en pisos altos que podría explicarse por el hecho que los granos de polen suelen volar a niveles atmosféricos altos en las ciudades, por encima de la capa de contaminación²¹.

Diagnóstico

La etiología polínica de una rinitis, conjuntivitis o asma bronquial tiene que establecerse en función de varios parámetros clínicos, diagnósticos y aerobiológicos. Es importante disponer de extractos perfectamente estandarizados y su positividad deberá estar relacionada con el tipo de polen con el que el paciente está expuesto. Debe existir correlación entre la constatación de la sensibilización, las manifestaciones clínicas y los periodos de polinización así como la carga antigénica ambiental. Es importante tener en cuenta la posible presencia de sensibilizaciones como expresión de una reactividad cruzada con otras especies, por ejemplo con alimentos.

La historia clínica es fundamental en el diagnóstico de la polinosis. Para ello es importante interrogar a los padres sobre las características de la patología que presenta el niño. La presencia de antecedentes familiares y personales de atopia (alergia alimentaria, dermatitis atópica) es un factor de riesgo para la sensibilización a alérgenos y posterior desarrollo de la enfermedad alérgica respiratoria. La edad de inicio de la sintomatología es fundamental para el seguimiento clínico del paciente, la evolución de las sensibilizaciones y la instauración de tratamiento.

La alergia al polen suele manifestarse como rinitis, conjuntivitis y/o asma bronquial. En el caso que coexistan síntomas nasales y bronquiales es importante determinar el inicio de los mismos y su evolución clínica. Existen sensibilizaciones a pólenes asintomáticas en niños sanos o en niños con alergia alimentaria o dermatitis atópica que, en algunos casos, evolucionan hacia síntomas alérgicos con el paso de los años.

La estacionalidad de los síntomas permite diferenciar los pólenes clínicamente relevantes en los pacientes polisensibilizados ya que cada polen tiene un periodo de polinización determinado de duración variable y dependiente de la zona geográfica. Los pólenes de una zona geográfica determinada influyen, por tanto, en las sensibilizaciones en edad pediátrica, siendo importante determinar si se trata de un medio rural o urbano, el tiempo de residencia y la climatología de esa zona.

La fecha de nacimiento es otro dato a recoger en la historia clínica por su posible importancia en el desarrollo de sensibilizaciones polínicas, como se comentará más adelante.

La exploración física general se realizará en todos los casos observando la apariencia externa de la nariz, realización de rinoscopia anterior, exploración ocular y cardiopulmonar. El estudio radiológico simple tiene escaso valor para el diagnóstico de una rinitis alérgica. Ante la sospecha de una entidad poco frecuente en la edad pediátrica como la poliposis nasosinusal, la realización de un TAC de senos paranasales aportará una información más detallada. La realización de espirometría, rinomanometría, rinometría acústica, pico flujo inspiratorio nasal, citología y endoscopia nasal completarán el estudio.

El estudio inmuoalergológico incluirá la realización de las pruebas cutáneas o *prick test* a una batería de aeroalérgenos determinada en la que generalmente se incluyen los pólenes más frecuentes de cada zona, ácaros de polvo doméstico, hongos y epitelios de animales. Estas pruebas pueden realizarse a cualquier edad. El *prick test* es una prueba de fácil realización, lectura inmediata y gran sensibilidad por lo que es la técnica de elección ante la sospecha de hipersensibilidad a alérgenos ambientales. La determinación de los valores plasmáticos de IgE total y específica, aunque menos sensibles que las pruebas cutáneas, serán importantes para completar el diagnóstico. La realización de pruebas de provocación nasal, conjuntival y/o bronquial específicas a los alérgenos al que el niño se encuentra sensibilizado no suelen realizarse de forma rutinaria siendo útiles cuando existe discordancia en el diagnóstico o en trabajos de investigación. Se puede realizar el estudio inmuoalergológico de forma mas amplia, mediante pruebas cutáneas a punto final, determinaciones plasmáticas de IgE, IgG₁, IgG₄ y la determinación de diferentes mediadores inflamatorios.

Tipos pólenes

La familia de las gramíneas es el tipo de polen más frecuentemente implicado en la polinosis a nivel mundial. Existen pólenes más característicos de algunas zonas determinadas como las betuláceas más habituales en países nórdicos, la ambrosía en América del Norte o el olivo en el área mediterránea⁵⁵.

La similitud climática en toda la zona mediterránea se corresponde con el tipo de sensibilizaciones existentes, siendo los pólenes del olivo, gramíneas y parietaria los más comunes²². En cambio, en la zona interior peninsular las gramíneas junto con las chenopodiáceas adquieren mayor grado de significación clínica.

La familia *Gramineae* consta de cientos de géneros y especies de los que sólo un reducido número es responsable de la polinosis. Las especies *Lolium perenne* y *Phleum pratense* han sido las más estudiadas. Se han descrito 12 subfamilias de alergenitos en el conjunto de las gramíneas. Existe reactividad cruzada importante en la mayoría de ellas. El periodo de polinización máximo en nuestro medio se presenta entre abril y junio.

El género *Artemisia* tiene una distribución universal. La planta más frecuente en nuestro medio es *Artemisia vulgaris*. La época de floración se concentra en los meses de verano, julio y agosto. Otras especies tienen el periodo de polinización un poco más tardío. Se ha descrito reactividad cruzada entre el polen de artemisia y vegetales como el apio, el kiwi y la manzana.

El plátano de sombra o *Platanus hispanica* pertenece a la familia *Platanaceae*. Los cambios urbanísticos que se han producido en las últimas décadas en algunas ciudades de nuestro medio han comportado la abundante presencia de este tipo de árbol como parte de la ornamentación de estas zonas urbanas. Su polinización se produce durante los meses de marzo y abril llegando a elevadas concentraciones atmosféricas rápidamente. Existe otro pico de polinización en otoño de menor intensidad. Suele manifestarse en forma de rinoconjuntivitis o asma estacional. En niños la prevalencia de polinosis por platanero es menor que en adultos probablemente porque la sensibilización a este tipo de polen se produce más tardíamente. Se ha detectado reactividad cruzada entre polen de *Platanus* y gramíneas hecho que podría explicar el mayor número de sensibilizaciones a este polen en zonas en las que predomina el polen de gramíneas²³. Se ha descrito la existencia de reactividad cruzada entre este polen y algunos alimentos de origen vegetal^{24,25}.

Dentro de la familia de las Oleáceas (*Oleaceae*) se incluyen los olivos o *Olea europaea*, fresnos, jazmines, aligustres y lilas. Entre los distintos géneros de las Oleáceas existe una importante reactividad cruzada. El polen de olivo es el responsable del 57,8% y 42,3% de las polinosis en la zona centro y sur peninsular respectivamente. La polinización del olivo se produce durante los meses de abril-julio. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son las rinoconjuntivales aunque también pueden presentarse en forma de asma bronquial. En nuestra experiencia destaca la presencia de un elevado porcentaje de sensibilización a polen de olivo en niños siendo, en la mayoría de ellos, asintomática.

Actualmente las Cupresáceas son parte fundamental en la ornamentación de parques y jardines y también han sido utilizadas en reforestaciones. Los pacientes alérgicos a cupresáceas con mayor frecuencia están monosensibilizados para este polen a diferencia de los alérgicos a otros pólenes que tienden a presentar varias sensibilizaciones al mismo tiempo aunque no siempre clínicamente relevantes. Los síntomas más observados en pacientes monosensibilizados a *Cupressaceae* son la rinitis y conjuntivitis²⁶.

Las Quenopodiáceas son plantas de flores pequeñas que se dividen en dos subfamilias: las *Chenopodiodeas* y *Salsoloideas*. Su periodo de polinización es amplio aunque los picos se presentan durante los meses de agosto y septiembre. Las manifestaciones clínicas de la polinosis por este grupo de plantas suelen ser más tardías que en el caso de las gramíneas y tienen un menor porcentaje de asma²⁷.

El polen de *Parietaria judaica* es una de las principales causas de polinosis en el área mediterránea principalmente en las zonas más próximas a la costa. La edad de inicio de síntomas polínicos por este polen se sitúa entre los 15 y 30 años de edad por lo que se trata de un tipo de polinosis poco frecuente en la primera infancia. Produce síntomas rinoconjuntivales con más frecuencia que asma bronquial aunque en el área mediterránea es una importante causa de asma en población adulta. Son síntomas característicos de la poli-

nosis por parietaria la tos como único síntoma o el prurito velopalatino. El periodo de mayor concentración atmosférica de este polen se prolonga desde marzo-abril hasta octubre.

La familia de las Betuláceas incluye 150 especies que se distribuyen principalmente en regiones templadas y frías del hemisferio Norte y en la cordillera de los Andes en el hemisferio Sur. La época de floración del abedul se sitúa entre los meses de marzo y mayo. El avellano entre enero y marzo y el aliso en febrero-abril. Es frecuente la asociación del síndrome de alergia oral con algunas frutas (manzana, pera, melocotón, kiwi, nuez, apio, patata, zanahoria) como se comentará más adelante.

Prevalencia

La prevalencia de polinosis en la infancia es menor que en edad adulta. La sensibilización más frecuente en población infantil del área mediterránea son los ácaros del polvo. La aparición de sensibilización polínica en niños suele presentarse en edades más tardías.

Según un estudio epidemiológico realizado en Asturias el año 2003 en población pediátrica, las sensibilizaciones más frecuentes fueron los ácaros (88,7% de los pacientes alérgicos) seguidos del polen de gramíneas en el 50% de los casos. Solamente el 9,3% de los niños sensibilizados a gramíneas estaban monosensibilizados, ya que la mayoría presentaba sensibilidad a los ácaros. La relevancia clínica de la sensibilización a este polen se inicia a partir de los 5-6 años de edad²⁸.

En el año 2001 se realizó un estudio en ocho servicios de Alergología de Cataluña en el que la prevalencia media de polinosis fue del 24,16%. Analizando los resultados obtenidos según la edad de los pacientes evaluados se observan diferencias en cuanto a la prevalencia siendo del 30,6% en adultos mientras que en niños fue inferior, concretamente del 8,04%^{29,30} (tabla 1). En este estudio realizado por la Sociedad Catalana de Alergia, las gramíneas representaban el 44,85% de las sensibilizaciones polínicas en Cataluña seguidas por el polen de olivo (22,42%), *Parietaria* (21,96%), *Platanus* (12,58%), cupresáceas (7,46%) y compuestas (6,35%). En población pediátrica (0-14 años) el perfil de sensibilizaciones para los pólenes más frecuentes fue parecido aunque la sensibilización a polen de platanero es menor, probablemente debido a que ésta se produce en edades más tardías. En la tabla 1 se muestra la distribución de las sensibilizaciones polínicas por edades según los datos obtenidos de este estudio. Estas cifras indican un incremento de la polinosis en nuestro medio ya que en datos obtenidos en el año 1982 en la misma zona la prevalencia media fue del 11,2% (adultos 17,71%, niños 5,2%)³¹.

En cambio, en la zona norte de la Península la prevalencia global de polinosis en el año 1993 fue del 10,6% siendo mayor en los individuos con edades comprendidas entre 10 y 20 años (11,41%) y entre 20-30 (12,54%) respecto al grupo de edad de 30-40 años (7,43%)³².

TABLA 1.

SENSIBILIZACIONES POLÍNICAS SEGÚN EDADES ^{29,30}		
	Niños	Adultos
Gramíneas	33,6%	44,25%
Olivo	25,32%	23,5%
Parietaria	22,72%	21,2%
Platanero	4,5%	13,9%
Ciprés	5,84%	7,7%
Compuestas	3,89%	6,8%
GLOBAL	8,04%	30,6%

Según datos más recientes obtenidos en el área metropolitana de Barcelona desde el año 1999 hasta el mes de mayo de 2003 en población infantil con patología respiratoria, el polen de olivo es el que representa el mayor número de sensibilizaciones, concretamente el 64% sin que se le pueda atribuir significación clínica en todos ellos³³. Se estudiaron 2.175 niños con rinitis, conjuntivitis y/o asma bronquial (edades comprendidas entre los 0 y los 18 años), 283 se hallaban sensibilizados a algún tipo de polen, bien como monosensibilizados o polisensibilizados, lo que representa una prevalencia de 13,01%, mientras que el porcentaje se reducía al 8,69% cuando se contabilizaba el total de primeras visitas independientemente del motivo de consulta. De los 283 niños sensibilizados a pólenes 125 presentaban asma bronquial, 31 asma asociado a rinoconjuntivitis y 127 patología limitada a manifestaciones rinoconjuntivales. Las sensibilizaciones por orden de frecuencia en los pacientes polínicos fueron las siguientes: polen de olivo 64,6%, gramíneas 62%, *Parietaria* 27%, *Platanus* 12% y cupresáceas 5% mientras que otro tipo de pólenes tuvieron una representación testimonial. Se observa una tendencia al incremento en el porcentaje de sensibilizaciones a polen de ciprés y de plátano en esta zona en los últimos 5 años que podría explicarse por el importante aumento de la carga antigénica en la atmósfera de éstos pólenes en los últimos años debido, fundamentalmente, a modificaciones urbanísticas de carácter ornamental³⁴.

En el año 2000 se realizó un estudio transversal sobre la prevalencia de asma, rinitis y dermatitis en la población pediátrica de la provincia de Huesca. Las sensibilizaciones más prevalentes fueron en primer lugar el polen de gramíneas seguido por el olivo y los ácaros del polvo³⁵.

Peroni et al evaluaron la presencia de pruebas cutáneas positivas en niños de 3 a 5 años de edad con síntomas de rinitis siendo las gramíneas (16,8%) y los ácaros (11,7%) los alérgenos más destacables. Otros pólenes como la parietaria fueron menos prevalentes (5,6%)³⁶.

La prevalencia de sensibilizaciones polínicas en niños de entre 0 a 15 años controlados en la consulta de alergia de la provincia de Granada el año 2003 fueron las siguientes: 88,55% para Olea, 54,3% gramíneas, 11,15% Artemisia, 10,2% *Alternaria*³⁷. Las concentraciones atmosféricas máximas en esa zona son las de polen de olivo seguidas de Cupresáceas, esporas de *Alternaria*, pólenes de *Parietaria* y gramíneas.

En un estudio realizado en México a 771 niños con edades comprendidas entre 1 y 4 años el 47% presentaron positividad frente algún aeroalérgeno en las pruebas cutáneas. Las sensibilizaciones más frecuentes fueron los ácaros del polvo (73%) seguidos del epitelio del gato (10%) y solamente el 9% de los niños presentaban reactividad frente *lolium*. En el seguimiento de estos niños se observó una tendencia a la aparición de nuevas sensibilizaciones con el paso de los años aumentando, por tanto, la frecuencia de sensibilizaciones polínicas³⁸.

En concordancia con estos resultados Silvestri et al evalúan las sensibilizaciones de 269 niños con asma bronquial observando que el 40% de los pacientes monosensibilizados a los ácaros del polvo y el 30% monosensibilizados a un polen al inicio del estudio desarrollaran más sensibilizaciones a aeroalérgenos con el paso del tiempo³⁹ (tabla 2).

TABLA 2.

PERFIL DE SENSIBILIZACIONES POLÍNICAS PEDIÁTRICAS								
	Año	Zona	Edad	Gramíneas	Parietaria	Olea	Platanus	Ciprés
Espinosa et al	1999	México	1-4 a	9%				
Martínez et al	2000	Granada	0-15 a	54,3%		88,55%		
Eseverri et al	2001	Cataluña	0-14 a	33,6%	22,72%	25,32%	4,5%	5,84%
Peroni et al	2003	Italia	3-5 a	16,8%	5,6%			
Díaz et al	2003	Asturias	4-13 a	50%				
Ferré, Ranea et al	1999-2003	Barcelona	0-18 a	62 %	27%	64,6%	12%	5%

La aparición de nuevas sensibilizaciones con la edad del paciente parece clara. Kulig et al realizaron un estudio prospectivo en el que se evaluó el desarrollo de sensibilizaciones a neumoaergenos y síntomas de rinitis alérgica estacional en 587 niños. El seguimiento se realizó desde el nacimiento hasta los siete años de edad. A los siete años el 15% había desarrollado una rinitis alérgica presentando sensibilización a polen de abedul en el 21% de los casos, el 41% a gramíneas y el 38% a ambos pólenes. La aparición tanto de síntomas como de sensibilización específica a estos pólenes fue baja en los dos primeros años, aumentando progresivamente hasta los siete años de edad. En el 9% de los niños se objetivó sensibilización pero sin llegar a manifestar sintomatología⁴⁰.

Recuentos de polenes

Los recuentos ambientales de pólenes tienen una gran utilidad clínica. A partir de ellos se confeccionan los calendarios polínicos que son representaciones gráficas en las que se observa la dinámica anual de los principales pólenes de una localidad organizados según su periodo de polinización. Es importante que tanto los profesionales como los pacientes polínicos puedan disponer de ellos para poder poner en marcha las medidas de prevención y tratamiento pertinentes cuando las concentraciones atmosféricas de un determinado polen están en aumento. La realización por parte del paciente de un calendario sintomático diario es útil para valorar si existe correlación entre la clínica del paciente y la presencia de elevadas concentraciones atmosféricas de un determinado polen. En España existen, actualmente, redes nacionales de muestreo atmosférico, la organizada por el *Comité de Aerobiología de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC)*, la de la *Red Española de Aerobiología (REA)* y la *Xarxa Aerobiològica de Catalunya* (Universitat Autònoma de Barcelona) (figura 1).

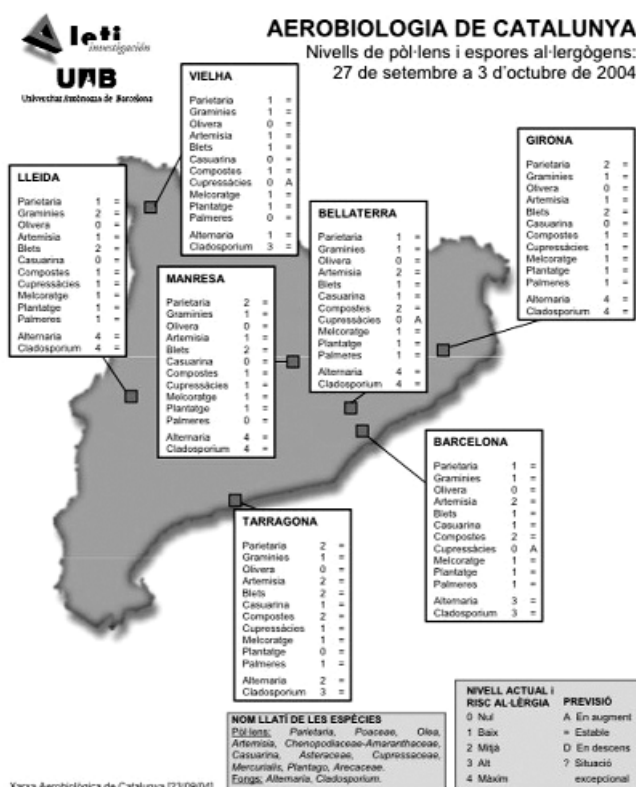


FIGURA 1. Niveles de pólenes (Xarxa Aerobiològica de Catalunya). Información elaborada por: Dra. J. Belmonte, Dra. J.M. Roure Unitat Botànica. Universitat Autònoma Barcelona; Dr. A. Cadahía, Dr. J.L. Eseverri. Unitat Docent Al·lèrgologia. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona; Laboratoris Leti S.L. Barcelona.

ALERGIA, PÓLENES Y ALIMENTOS VEGETALES

Los alimentos más precozmente implicados en la alergia alimentaria en la edad pediátrica en nuestro medio son la leche y el huevo. La presencia de sensibilización a frutos secos o a rosáceas suele ser más tardía y, en muchos casos, se asocia con sensibilización a aeroalergenos sobre todo pólenes.

La vía de sensibilización a alergenitos alimentarios en niños es la digestiva debido a un fallo del mecanismo de tolerancia inmunológica. En adultos con alergia a aeroalergenos y alimentos, probablemente, la sensibilización al panalergeno se produce por vía respiratoria⁴¹.

Los panalergenos mayoritariamente son proteínas de defensa, del citoesqueleto o musculares con funciones relevantes conservadas por la evolución en las especies animales o vegetales correspondientes. Las proteínas de transferencia de lípidos (LTPs) son proteínas de defensa ampliamente distribuidas en distintos tejidos de plantas. Actúan como panalergenos responsables de la reactividad cruzada entre pólenes y alimentos de origen vegetal. Se han identificado cuatro estructuras alergénicas responsables de la reactividad cruzada en la alergia a rosáceas: alergenitos homólogos de Bet v1, profilinas, LTP y determinantes de glicoproteínas vegetales.

El péptido Bet v1 presenta una alta homología con alergenitos mayores de varios árboles (castaño, aliso, avellano) y con el alergeno mayor de la manzana, Mal d1, con el que comparten epítomos IgE. Se han identificado alergenitos homólogos a Bet v1 en otras frutas y vegetales (avellana, melocotón, pera, albaricoque, cereza, ciruela, apio, zanahoria, perejil, patata).

Se han descrito, hasta la actualidad, dos patrones diferenciados de sensibilización a frutas rosáceas. El primero en los países del centro y norte de Europa donde la alergia al polen de abedul se asocia frecuentemente con alergia a rosáceas, sobre todo la manzana. Los alergenitos homólogos de Bet v1 son los alergenitos implicados en la alergia a rosáceas en los pacientes alérgicos al polen de abedul en el 90% de los casos, por lo que son considerados como alergenitos mayores. La profilina, en cambio, es reconocida en menos del 20% de estos pacientes comportándose, por tanto, como un alergeno menor. El segundo patrón de sensibilización corresponde al área de los países mediterráneos. La distribución polínica de esta zona es diferente a la de los países nórdicos, siendo menos frecuente la presencia de polen de abedul y adquiriendo mayor relevancia pólenes de gramíneas, parietaria y olivo. Los alergenitos mayores implicados en la alergia a rosáceas en esta zona son las LTPs (más del 90%). Cuando en estos pacientes se asocia polinosis, la sensibilización a profilina se detecta en más del 50% de los casos. Mientras que en el síndrome manzana-abeldul, la sintomatología que presentan los pacientes suele ser leve, generalmente manifestándose como síndrome de alergia oral, en los pacientes que reconocen LTPs la afectación sistémica es frecuente.

La alergia a rosáceas en niños es frecuente, siendo más prevalente en pacientes polínicos aunque puede presentarse de forma aislada hasta en el 20% de los casos. Los únicos alergenitos identificados en los pacientes alérgicos a rosáceas sin polinosis son las LTPs^{42,43}.

Se ha descrito asociación entre polinosis por artemisia y alimentos de origen vegetal como apio, zanahoria, especias, habiéndose identificado un alergeno del apio como profilina presente en polen de artemisia, abedul, gramíneas, y zanahoria. Se ha identificado también una LTP como posible panalergeno responsable de la reactividad cruzada entre polen de artemisia, castaña y rosáceas.

En el capítulo sobre polinosis y alergia alimentos, se profundiza más en este tema.

Tratamiento

El tratamiento de la polinosis en niños se basa en cuatro pilares fundamentales

1. Medidas de evitación del alergeno (tabla 3): se trata de poner en práctica medidas prácticas para evitar el contacto del paciente con las partículas del polen/es al que es alérgico, sobre todo durante la época de máxima polinización del mismo.

2. Educación del paciente y/o de sus progenitores: los padres o tutores del niño alérgico pondrán en práctica las medidas de evitación y se responsabilizarán del tratamiento tanto en fase aguda como de mantenimiento
3. Tratamiento sintomático: los fármacos más utilizados en el tratamiento de la rinitis alérgica son los antihistamínicos de 2ª y 3ª generación (actividad selectiva anti-H1). Su aplicación puede ser simplemente local (nasal y/o ocular) o sistémica pudiéndose asociar al tratamiento el uso de corticosteroides.
4. Inmunoterapia específica

El tratamiento de la polinosis es global, por lo que es importante que los cuatro puntos anteriormente citados se realicen de forma conjunta.

En la actualidad el único tratamiento etiológico que puede modificar el curso natural de la enfermedad alérgica es la inmunoterapia específica con alergenitos, pudiendo impedir el desarrollo de asma en los pacientes con rinitis alérgica. Se han realizado trabajos que apoyan esta afirmación, por ejemplo, el estudio PAT (Tratamiento Preventivo de la Alergia), prospectivo, controlado y randomizado, en el que se incluyen 205 niños de edades comprendidas entre 6 y 14 años afectados de rinoconjuntivitis sensibilizados a pólenes de gramíneas, abedul o ambos y sin clínica de asma en el momento de su inclusión. Durante los tres años de tratamiento se realizó un seguimiento de la sintomatología con una escala analógica visual, pruebas de provocación conjuntival a los alergenitos específicos, mediciones de pico flujo y del grado de hiperreactividad bronquial mediante la provocación bronquial con metacolina. Los resultados muestran que la inmunoterapia previene la aparición de asma en niños sensibilizados a estos pólenes⁴⁴.

Actualmente existen varias pautas de administración de la inmunoterapia, desde las convencionales en las que se consigue la dosis de mantenimiento en varias semanas a las cluster, rush o ultrarush, en las que la dosis máxima se alcanza en pocos días o incluso en horas. La creación de unidades de inmunoterapia en los hospitales ha sido fundamental para el correcto manejo y desarrollo del tratamiento hiposensibilizante y, en definitiva, global de los pacientes alérgicos.

TABLA 3.

RECOMENDACIONES PARA ALÉRGICOS AL POLEN

- Durante la época de polinización debe mantener las ventanas y las puertas cerradas el máximo tiempo posible.
- Evitar realizar ejercicio intenso en épocas de alta polinización. Realizar un periodo de calentamiento progresivo, más largo del habitual.
- Mantener las ventanas del coche cerradas
- Evitar viajar en moto
- Evitar salidas al campo, sobretodo los días de viento
- Evitar cambios bruscos de temperatura
- Evitar tender ropa al exterior durante los días de mayor concentración polínica, porque puede quedar atrapado.
- Utilizar gafas de sol para salir al exterior
- Se aconseja seguir los índices de concentración polínica atmosférica.
- Tomar medicación prescrita por el alergólogo.

BIBLIOGRAFÍA

1. SUBIZA J. Rinoconjuntivitis y asma bronquial extrínseco por sensibilización a pólenes. Reuniones anuales Alergoaragon 2000.
2. FEO BRITO F. Asma, polución y polinosis. *Alergol Inmunol Clín* 2003; 18 (extraord. Núm 3): 86-105.
3. KULIG M, BERGMANN R, KLETTKE U, WAHN V, TACKE U, WAHN U. *Natural course of sensitization to food and inhalant allergens during the first 6 years of life.* *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 1173-9.
4. DÍAZ VÁZQUEZ C. A, RODRÍGUEZ GARCÍA J, SÁNCHEZ IGLESIAS G. *Perfil de sensibilización a neumoaerógenos en niños con asma y rinoconjuntivitis en una zona de salud de Asturias.* *Bol Pediatr* 2003; 43: 3-12.
5. BURR M.L, EMBERLIN J. C, TREU R, CHENG S, PEARCE N.E. *Pollen counts in relation to the prevalence of allergic rhinoconjunctivitis, asthma and atopic eczema in the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC).* *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 1675-1680.
6. VON MUTIUS E. *Environmental factors influencing the development and progression of pediatric asthma.* *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: S525-32.
7. MOHAMMAD TARIQ S, MATTHEWS S.M, ABE HAKIM E, STEVENS M, ARSHAD S.H, WALLACE D. *The prevalence of and risk factors for atopy in early childhood: A whole population birth cohort study.* *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 587-593.
8. PEINADO J, FERNÁNDEZ D, PANTOJA A, PÉREZ T, OLMOS A, PÉREZ A. *Mes de nacimiento como predisponente de enfermedad alérgica.* *An Esp Pediatr* 1983; 19: 29-32.
9. GÓMEZ CARRASCO J.A, ORIVE I, LINARES P, BLANCO A, ANDIÓN R. *Historia natural de la polinosis en la infancia.* *An Esp Pediatr* 1986; 24 (3): 149-155.
10. NILSSON L, BJÖRKSTÉN B, HATTEVIG G, KJELLMAN B, SIGURS N, KJELLMAN N-I. *Season of birth as predictor of atopic manifestations.* *Arch Dis Child* 1997; 76: 341-344.
11. GUERRA S, SHERRILL D.L, COTTINI M, MICETTI G, ALLEGRA L. *On the association between date of birth and pollen sensitization: is a age an effect modifier?* *Allergy Asthma Proc* 2002; 23 (5): 303-310.
12. SCÄFER T, PRZYBILLA B, RING J, KUNZ B, GREIF A, UBERLA K. *Manifestation of atopy is not related to patient's month of birth.* *Allergy* 1993; 48: 291-4.
13. KIHILSTRÖM A, LILJA G, PERSHAGEN G, HEDLIN G. *Exposure to birch pollen in infancy and development of atopic disease in childhood.* *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 78-84.
14. PARK Y.M, CHOI H, AHN Y, SON K. *Relationship between the sensitization to outdoor aeroallergen and the month of birth.* *J Allergy Clin Immunol* 2004 ; 113 Suppl (2): S87
15. CRIMI P, BOIDI M, MINALE P, TAZZER C, ZANRDI S, CIPRANDI G. *Differences in prevalence of allergic sensitization in urban and rural school children.* *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 83: 252-256.
16. VON EHRENSTEIN O, VON MUTIUS E, ILLI S, HACHMEISTER A, VON KRIES R. *Reduced risk of hay fever and asthma among children of farmers.* *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 187-93.
17. NILSSON L, CASTOR O, LÖFMAN O, MAGNUSSON A, KJELLMAN N-I.M. *Allergic disease in teenagers in relation to urban or rural residence at various stages of childhood.* *Allergy* 1999; 54: 716-721.
18. STORM VAN'S GRAVENSANDE K, MOSELER M, KUEHR J. *The most common phenotypes of sensitization to inhalant allergens in childhood.* *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 646-652.
19. SANZ J, MARTORELL A, ALVAREZ V, BERMUDEZ J.D, SAIZ R, FUERTES A ET AL. *Estudio epidemiológico de los factores de riesgo asociados con el desarrollo de patología respiratoria en la población infantil.* *An Esp Pediatr* 1990; 32(5): 389-398.
20. WARNER J. A. *Primary sensitization in infants.* *Ann Allergy, Asthma and Immunol* 1999; 83: 426-430.
21. ASENSIO T, ARMENTIA A, ARRANZ M.L, CALLEJO A, REBOLLO S, SEDANO E. *¿Influye la altura de la vivienda en la sensibilización a pólenes?* *Alergol Inmunol Clin* 2003; 18 (extraordin. Núm3): 13-16.
22. KALEYIAS J, PAPAIOANNOU D, MANOUSSAKIS M, SYRIGOU E, TAPRAZI P, SAXONI-PAPAGEORGIOU PH. *Skin-prick test findings in atopic asthmatic children: A follow-up study from childhood to puberty.* *Pediatr Allergy Immunol* 2002;13: 368-374.
23. SUBIZA J, JEREZ M, GAVILÁN M.J, VARELA S, RODRIGUEZ R, NARGAMES M.J ET AL. *¿Cuáles son los pólenes que producen polinosis epidémica en Madrid?* *Alergol Inmunol Clin* 1998; 13: 107-119.
24. MIRALLES J.C, CARAVACA F, GUILLEN F, LOMBARDERO M, NEGRO J.M. *Cross-reactivity between Platanus pollen and vegetables.* *Allergy* 2002; 57: 146-149.
25. ENRIQUE E, CISTERÓ-BAHIMA A, BARTOLOMÉ B, ALONSO R, SAN MIGUEL-MONCÍN MM, BARTRA J ET AL. *Platanus acerifolia pollinosis and food allergy.* *Allergy* 2002; 57: 351-356.
26. MORAL DE GREGORIO A. *Aerobiología y polinosis por Cupresáceas en España.* *Alergol Inmunol Clin* 2003; 18 (extraordin. Núm3): 25-35.
27. POLA J. *Alergia a pólenes de Quenopodiáceas.* *Alergol Inmunol Clín* 2003; 18 (extraord. Núm3): 39-44.
28. DÍAZ VÁZQUEZ C.A, RODRIGUEZ GARCÍA J, SÁNCHEZ IGLESIAS G. *Perfil de sensibilización a neumoaerógenos en niños con asma y rinoconjuntivitis en una zona de salud de Asturias.* *Bol Pediatr* 2003; 43: 3-12.
29. SOCIETAT CATALANA AL·L·RGOLOGIA I IMMUNOLOGIA CLÍNICA. *Estudio de Polinosis en Catalunya.* 2001.
30. ESEVERRI J.L, VIÑAS M, RANEA S, VILLAGRAN M, COZZO M, MARIN A. SOCIETAT CATALANA ALERGOLOGIA I IMMUNOLOGIA CLÍNICA. *Estudio de Polinosis en Catalunya.* 2001.
31. SOCIETAT CATALANA ALERGOLOGIA I IMMUNOLOGIA CLÍNICA. *Estudio de Polinosis en Catalunya.* 1982.
32. AZPIRI A, GAMBOA PM, FERNÁNDEZ E, FERNÁNDEZ DE CORRES L, ALONSO E, ESCOBAR A ET AL. *Prevalence of pollinosis in the Basque Country.* *Allergy* 1999; 54: 1100-1104.
33. FERRÉ YBARZ L, RANEA ARROYO S, TORREDEMER A, BELMONTE J, MARIN A, ESEVERRI J.L. *Prevalencia de sensibilizaciones polínicas en pacientes con rinoconjuntivitis y/o asma en una consulta pediátrica de Barcelona.* Symposium Internacional de Aerobiología y Polinosis de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Zaragoza. 2003.

34. RANEA ARROYO S, FERRÉ YBARZ L, TORREDEMER A, BELMONTE J, MARIN A, ESEVERRI JL. *Pólenes emergentes en una consulta de alergia pediátrica en el área urbana de Barcelona*. Symposium Internacional de Aerobiología y Polinosis de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Zaragoza. 2003.
35. FUENTES J, MERIZ J, PARDOS C, LÓPEZ V, RICARTE J.I, GONZÁLEZ E. *Prevalencia actual de asma, alergia e hiperrespuesta bronquial en niños de 6-8 años*. Anales Españoles de Pediatría 2001; 54: 44-52.
36. PERONI D.G, PIACENTINI G.L, ALFONSI L, ZERMAN L, DI BLASI P, VISONA G ET AL. *Rhinitis in pre-school children: prevalence, association with allergic diseases and risk factors*. Clin Exp Allergy 2003; 33: 1349-1354.
37. Martínez Cañavate A, Girón Caro F, De Linares C, Díaz de la Guardia C, Alba F, Rojo Hernández A. *Estudio clínico de la población infantil alérgica de la provincia de Granada en relación con los niveles de polen y esporas de la atmosfera*. Symposium Internacional de Aerobiología y polinosis de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Zaragoza. 2003.
38. ESPINOSA S, MEZA M.R, OROZCO S, ROSALES M, ORTEGA-MARTELL J.A, HUERTA J. *Sensibilización temprana a aeroalergenos en una población pediátrica mexicana*. Alergia, Asma e Inmunol Pediatr 1999; 8(6): 165-169.
39. SILVESTRI M, ROSSI G, COZZANI S, PULVIRENTI G, FASCE L. *Age-dependent tendency to become sensitized to other classes of aeroallergens in atopic asthmatic children*. Ann Allergy Asthma Immunol 1999; 83: 335-340.
40. KULIG M, KLETTLE U, WAHN V, FORSTER J, BAUER C.P, WAHN U. *Development of seasonal allergic rhinitis during the first 7 years of life*. J Allergy Clin Immunol 2000; 106: 832-9.
41. BLANCO C. *Repercusión clínica de la reactividad cruzada*. Alergol Inmunol Clin 2001; 16 (extraordin. Núm 2): 30-36.
42. FERNÁNDEZ RIVAS M. *Alergia a frutas rosáceas*. Reuniones anuales Alergoaragón 2000.
43. LÁZARO M, CUESTA J, IGEA J.M. *Alergia a rosáceas: el melocotón*. Alergol Inmunol Clin, Jul 1999; 14(4): 234-240.
44. MOLLER C, DREBORG S, FERDOUSI HA, HALKEN S, HOST A, JACOBSEN L ET AL. *Pollen immunotherapy reduces the development of asthma in children with seasonal rhinoconjunctivitis (the PAT-study)*. J Allergy Clin Immunol. Feb 2002; 109(2): 251-6.

Contaminación ambiental y su influencia sobre la polinosis

ALICIA ARMENTIA

GEMA MARTÍN, SARA FERNÁNDEZ

Servicio de Alergia. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid

INTRODUCCIÓN

Actualmente se admite que la patogénesis de los procesos alérgicos depende de la interacción entre el tiempo y la intensidad de exposición al alérgeno y de la presencia de factores de riesgo en personas genéticamente predispuestas. Sin embargo, muchos estudios en poblaciones pertenecientes al mismo grupo étnico pero que viven en diferentes condiciones han demostrado que la prevalencia de enfermedades alérgicas es mayor en los habitantes en países industrializados que en los que viven en áreas rurales o países subdesarrollados¹⁻¹⁷.

La alergia al polen es una enfermedad muy frecuente, y más en zonas urbanas que en rurales, a pesar del hecho que las zonas verdes en las ciudades han ido disminuyendo progresivamente. Este hecho se ha relacionado con la polución, caracterizada por elevados niveles de dióxido de nitrógeno, ozono y otras partículas contaminantes que probablemente incrementaría la reactividad bronquial a aeroalérgenos⁵. Sin embargo, en países como China o en Europa del este, con elevadas concentraciones de estos polucionantes, la prevalencia de asma es baja y en otras áreas con bajo grado de polución como Nueva Zelanda, la prevalencia de asma es muy elevada, por lo que no habría que descartar otras causas.

Estudios previos han demostrado que los alérgenos del polen pueden interaccionar con componentes de la polución. Bien por adhesión a la superficie o por medio de partículas paucimicrónicas, los contaminantes atmosféricos pueden actuar como adyuvantes y aumentar la respuesta alérgica al polen⁵. También se ha visto que las partículas diesel pueden estimular la síntesis de IgE pues inducen en los pólenes las mismas modificaciones que se observan durante la polinización. También son capaces de absorber y transportar aeroalérgenos, facilitando la sensibilización alérgica en pacientes predispuestos y el consiguiente desarrollo de enfermedades respiratorias alérgicas. Por otra parte, la liberación de sustancias pro-inflamatorias es significativamente mayor con pólenes que han sido recolectados en los márgenes de las carreteras con mucho tráfico, lo que indicaría que el grano de polen no sería sólo un receptáculo que transporta los alérgenos polínicos, sino que además podría contribuir per sé a la activación de la mucosa respiratoria y ésta sería capaz a su vez de elevar su alergenidad.

¿POR QUÉ LA ALERGIA AL POLEN ES MÁS PREVALENTE EN LAS CIUDADES QUE EN EL CAMPO?

La alergia al polen de gramíneas es muy frecuente y recientes estudios indican que el 35% de jóvenes de muchos países tiene anticuerpos específicos a estos pólenes, pero sobre todo los pacientes que residen en medios urbanos^{6,7}.

Índices obtenidos de nuestra base de datos (16381 pacientes) indican que los pólenes de gramíneas son la causa mas frecuente de asma en Valladolid: 33% (1558 pacientes). Estos pólenes afectan más a habitantes de medio urbano 77% que del rural: 22.4%, a pesar de ser tan importante el cultivo de gramíneas en nuestra zona rural⁷. No hay considerables diferencias étnicas, genéticas ni higiénico-sanitarias entre los pacientes del medio rural y urbano de Valladolid. Esto nos hizo preguntarnos si el problema no estaría localizado en factores biológicos intrínsecos del propio polen según el lugar donde se desarrolle la planta, más que en la población atópica afectada. Para demostrar esta hipótesis estudiamos la alergenicidad del polen de gramínea más frecuente en nuestra área: *Lolium perenne* o ballico. El objetivo de nuestro estudio fue el tratar de constatar una posible diferencia en la alergenicidad de diferentes muestras de polen de *Lolium perenne* recolectado en zonas urbanas y rurales de Valladolid, y durante dos periodos de polinización.

Las espigas de *Lolium perenne* fueron recogidas durante el pico máximo de polinización en nuestra área (Mayo 1999). Las espigas eran sacudidas en una bolsa hermética y posteriormente se procedía a su cribado, tras lo cual el polen obtenido era pesado y refrigerado. Este proceso se repitió en la siguiente estación polínica, en Mayo 2000. Para la recolección seleccionamos 10 zonas con alto nivel de contaminación de Valladolid, y 10 zonas del medio rural alejadas de carreteras, fábricas y otras fuentes de polución. Las áreas de recolección se marcaban en un mapa para repetir la recogida en las mismas zonas. Las muestras (400 mg de polen) fueron marcadas con las letras A y B para 1999 y A' y B' para el año 2000. Estas muestras fueron analizadas para excluir la presencia de otras especies de pólenes diferentes al *Lolium* y se descartó contaminación micótica por cultivos específicos.

Después de la extracción del polen, la actividad biológica *in vivo* del *Lolium perenne* fue medida en Unidades Biológicas, mediante la realización de pricks en duplicado y de una forma doble ciego para las diferentes muestras en 40 pacientes con RAST clase 4 a *Lolium*. Las pápulas obtenidas fueron medidas con planimetría. La actividad biológica *in vitro* se determinó por comparación de las curvas de inhibición obtenidas con la curva de referencia, calibrada en UB/ml y según técnicas previamente descritas⁸⁻¹¹.

Se realizó SDS PAGE a las proteínas alergénicas de los 4 extractos de pólenes y el contenido de alérgeno mayor Lol p5 se determinó por ELISA basado en anticuerpos monoclonales específicos¹².

Aunque durante las pasadas décadas se han identificado y caracterizado diferentes alérgenos en el *Lolium*, los alérgenos Lol p1 y Lol p5 se consideran los principales y son detectados por el 90% de los pacientes alérgicos a este polen¹⁸. Nos interesó más el estudio del Lol p5, localizado en los gránulos de almidón del polen, por estar posiblemente relacionado con la defensa del mismo como su homólogo en Phleum, Phl p5b, que es una RNAsa¹⁹. Hasta más de mil gránulos de almidón cargados con Lol p5, se degranulan en condiciones adecuadas por lo que constituyen una amplificación masiva de la señal alergénica y son posiblemente las partículas que desencadenan el asma por este polen²⁰. Por otra parte, el Lol p5, al ser básico y no glicosilado no es capaz de unirse a las partículas diesel como el Lol p1, ácido y glicosilado por lo que quedaría excluido este parámetro de interacción.

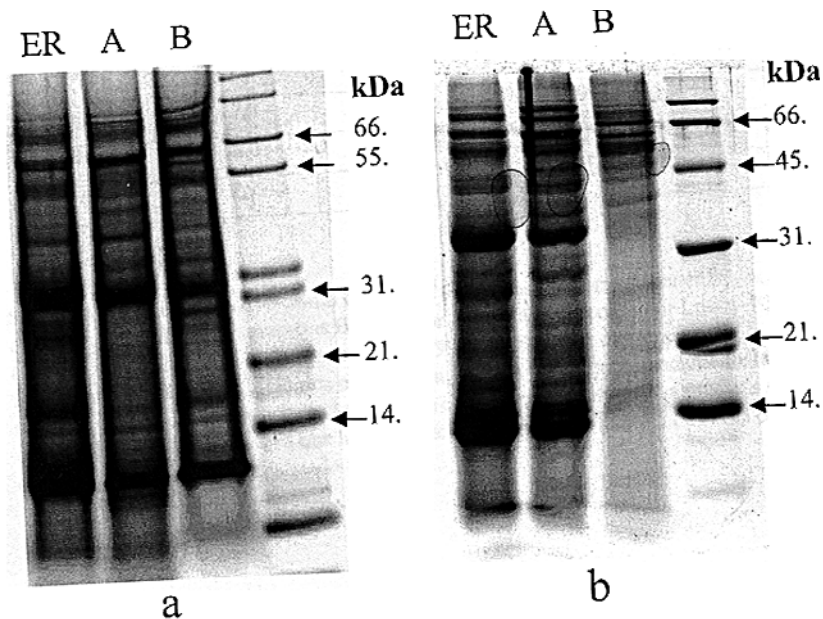
Los resultados desvelaron que, en los dos años estudiados, las muestras A (polen urbano) tenían aproximadamente el doble de contenido proteico que las B, como pudo ser demostrado por Lowry-PTA. Se observó una diferencia significativa en la reactividad cutánea obtenida con los diferentes extractos, con una mayor respuesta con el polen del área urbana de los dos años estudiados.

En el SDS-PAGE (figura 1) se observó que durante el año 1999 las dos muestras de polen tenían un comportamiento similar, sin embargo el análisis del año 2000 demostraba que el extracto rural B' tenía un perfil pobre comparado con el urbano A' y el extracto de referencia, que fue más evidente en el caso de PM menores de 40 Kda (los alérgenos mayores de *Lolium* (Lol p 1 y Lol p 5 tienen pesos moleculares entre 30 y 35 Kda).

Desde el punto de vista de la actividad biológica, las diferencias observadas en el año 1999 no fueron tan importantes como en el año 2000, aunque el polen A era un 15% más activo que el B. En contraste, en las muestras del año 2000 se demostró que el polen urbano A' era considerablemente más activo que el rural B'. El contenido de Lol p5 fue concordante con la actividad biológica. Su concentración era mayor en el área urbana.

FIGURA 1. Tricina-SDS-PAGE de los extractos de las diferentes muestras de polen durante el año 1999 (a) y 2000 (b)

1. Extracto de referencia de Lolium (ER)
2. Extracto A, urbano 1999
3. Extracto B, rural 1999
4. Extracto A', urbano 2000
5. Extracto B', rural 2000
6. Marcadores de peso molecular (kDa)



Una posible hipótesis que explicara estos resultados podría ser que las gramíneas de las áreas rurales reciben menos daños que las mismas especies en las zonas urbanas, donde el césped está sometido a un ambiente contaminado, siegas repetidas que hacen que muy pocas espigas florezcan y pesticidas aplicados por los ayuntamientos. El continuo daño sobre las plantas puede causar una sobre-expresión de proteínas de estrés en el polen. Ya que parece que estas proteínas son alérgenos principales, parece razonable sugerir que el mismo polen puede ser más alérgico en zonas contaminadas que en rurales. Esta hipótesis estaría en relación con los interesantes hallazgos de estudios recientemente publicados por Amato, Thomas²⁴, Grobe²⁵ y Masuch²⁶. Un incremento del Lol p5 en el caso del *Lolium* indica la posibilidad de un estímulo de síntesis proteica de alérgenos principales del polen urbano frente al rural. Sin embargo, la demostración de que la polución es capaz de estimular proteínas de defensa precisa investigar la inducción de estas proteínas a nivel molecular (RNAm)²⁵.

Aunque es posible que la polución juegue un papel en el incremento de la prevalencia de las enfermedades respiratorias alérgicas, otras causas no deben ser subestimadas. Sugerimos que la mayor prevalencia de polinosis en las ciudades puede deberse a diferencias en su alergenidad con respecto al rural. Si esto fuera así, el paciente polínico que viva en la ciudad no tendría que evitar salidas al campo por temor a una mayor gravedad de los síntomas alérgicos. Por otra parte, habría que tener en cuenta esta diferente alergenidad en la preparación de extractos útiles para diagnóstico e inmunoterapia.

Otro dato que diferencia a habitantes de ciudades y de medios rurales o poco industrializados es el tipo de vivienda. Teóricamente, los habitantes del medio urbano, al habitar en viviendas de más altura, estarían más alejados de la vegetación que los del medio rural, lo que plantea la siguiente duda.

¿INFLUYE LA ALTURA DE LA VIVIENDA EN LA SENSIBILIZACIÓN A PÓLENES?

Es conocido que los pólenes suelen volar a niveles más altos de la atmósfera, sobre la capa de contaminación en las ciudades^{28,29}. Recientemente intentamos objetivar una posible influencia del nivel de la vivienda de nuestros pacientes como factor de riesgo de polinosis.

TABLA 1.

RIESGO RELATIVO E ÍNDICES DE CONFIANZA EN LA SENSIBILIZACIÓN A PÓLENES EN FUNCIÓN DE LA ALTURA DE LA VIVIENDA				
Sensibilización al polen	Riesgo relativo Bajo-1º piso	Riesgo relativo Bajo-4º piso	Riesgo relativo Bajo-8º piso	P
Gramíneas: <i>lolium, cynodon, dactylis,</i> <i>festuca, phleum, poa</i>	13.65 CI 95%: 11.56-16.11	14.7 CI 95%: 12.45-17.37	16.89 CI 95%: 13.84-20.63	<0.00001
Arboles: <i>Platanus, populus, olmus,</i> <i>olea, salix, fraxinus, quercus</i>	17.37 CI 95%: 11.15-27.06	16.83 CI 95%: 10.72-26.42	24.37 CI 95%: 14.25-41.66	<0.00001
Arbustos: <i>Artemisia, chenopodium,</i> <i>parietaria, plantago</i>	11.58 CI 95%: 7.3-18.36	11.50 CI 95%: 7.18-18.42	13.44 CI 95%: 7.17-25.21	< 0,00001

Se estudió a partir de una base de datos de 17.171 pacientes de Valladolid y alrededores (población mesetaria), las diferentes prevalencias de sensibilización (medida por positividad de la prueba cutánea e IgE específica a diferentes pólenes) en función de la altura de la vivienda de nuestros pacientes de Valladolid y provincia.

Se estudió la sensibilidad a pólenes de gramíneas, árboles y arbustos en función de que el paciente viva en un piso alto (8ª), planta baja, primero o intermedio (4º). Los porcentajes de sensibilización se compararon estadísticamente (tabla 1).

Como resultados, obtuvimos que los pólenes de gramíneas afectaron de forma preferente a los habitantes urbanos que viven en pisos altos³⁰. Se observó una diferencia significativa entre los pacientes afectados de polinosis que viven en plantas bajas y los pisos altos (4ª, 8ª). El análisis de regresión indicó una tendencia claramente lineal de este mayor riesgo, lo que sugeriría que, a medida que los pacientes viven en un sitio más alto, aumentaría el riesgo de que sufrieran clínica alérgica por sensibilización a pólenes de gramíneas.

Dado que es más frecuente la sensibilización a pólenes en personas que viven en pisos altos, otra medida de prevención primaria de polinosis sería el indicar a las familias atópicas la conveniencia de vivir en zonas rurales y en pisos bajos.

Otro hecho que preocupa en diferentes estudios sobre polinosis es el por qué la clínica polínica no coincide siempre con los días de mayor polinización, lo que nos hace plantear la siguiente pregunta.

¿PUEDEN LOS POLUCIONANTES INTERACCIONAR CON LOS PÓLENES EN LOS DÍAS DE ELEVADA POLINIZACIÓN?

Las partículas contaminantes (<10 µm o PM₁₀ y <2.5 µm o PM_{2.5}) son uno de los principales componentes de la contaminación ambiental. Estas PM pueden tener impacto en epidemias de asma. Recientes investigaciones han demostrado que en la estación polínica sólo los pólenes y estas PM tienen relación clara con las exacerbaciones asmáticas y este riesgo es mayor cuando los dos factores actúan unidos³¹.

Para valorar estos hechos en nuestra zona, revisamos las visitas a urgencias de los hospitales de Valladolid durante mayo y junio de 2003 y medimos diariamente los granos de pólenes y las concentraciones de ozono, SO₂, NO₂, CO y PM. También recogimos todos los días pelusas de chopo, pues a pesar de que no

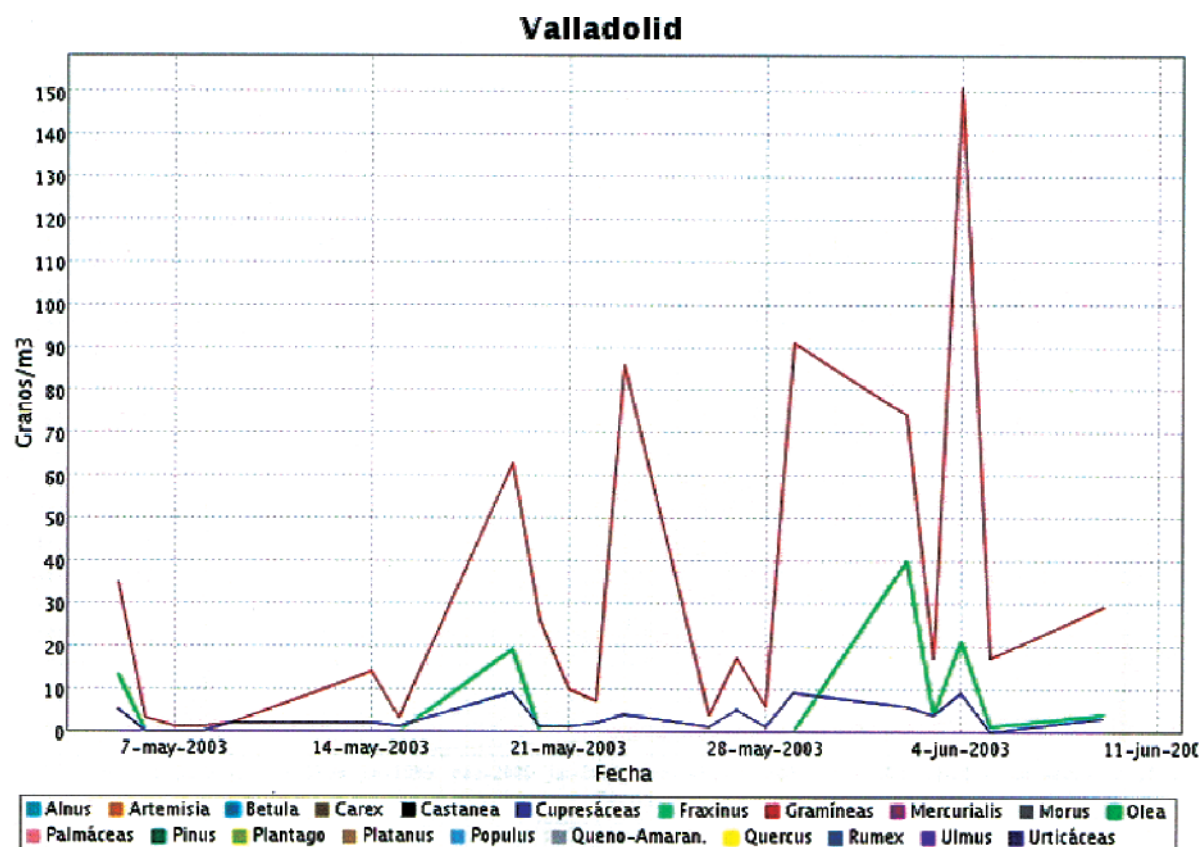


FIGURA 2. Contaje de pólenes (granos polen/m³) durante mayo y junio 2003.

son alergénicas, pensamos que podrían actuar como portadoras de partículas paucimicrónicas. Estas pelusas se sometían a filtración y espectrofotometría por técnica de reflectancia total atenuada, lo que nos permitía el análisis de hidrocarburos aromáticos.

Los contajes de pólenes fueron altos el 31 de mayo (80 pólenes/m³) y sobre todo el 4 de junio (151 granos/m³) (figura 2). Sin embargo, el número de episodios asmáticos registrados en urgencias fue mucho mayor el 31 de mayo con 141 ingresos frente a 16 el 4 de junio. El número total de emergencias alérgicas fueron 649 el 31 de mayo frente a 482 el 4 de junio (tabla 2). El análisis de los parámetros de calidad sólo reveló diferencia significativas en la concentración de NO₂ (factor relacionado con residuos fósiles) y sobre todo de PM (tabla 3 y figuras 3a, b y c). Al analizar el filtrado de las pelusas de chopo del día 31 de mayo se observó

TABLA 2.

DIFERENTES PATOLOGÍAS VISTAS LOS DÍAS DE MÁXIMA POLINIZACIÓN DE LA PRIMAVERA 2003			
VARIABLE	31 MAYO	6 JUNIO	RR (CI 95%)
Visitas a urgencias	649	482	
Asma	141 (21.72)	16 (3.31)	6.54 (3.96-10.83)
Faring-laringitis	45 (6.93)	8 (1.65)	4.18 (1.99-8.78)
Conjuntivitis	34 (5.23)	8 (1.65)	3.16 (1.47-6.76)
Rinitis	17 (2.61)	3 (0.62)	4.21 (1.24-14.28)
Urticaria	11 (1.69)	5 (1.03)	1.63 (0.57-4.67)
Dermatitis	5 (0.77)	1 (0.20)	3.71 (0.44-31.68)
Otitis	10 (1.54)	4 (0.82)	1.86 (0.59-5.88)

TABLA 3.

DIFERENTES PARÁMETROS DE CALIDAD AMBIENTAL MEDIDOS EN LOS DÍAS DE MÁXIMA POLINIZACIÓN DE LA PRIMAVERA 2003					
Variable	Fecha	Observaciones (N)	Concentration (Mean)	Standar Desviación	P Valor*
Partículas grandes	Mayo	30	34,93	13,18	0,003
	Junio	26	23,96	13,05	
SO ₂	Mayo	20	5,84	2,99	0,233
	Junio	20	4,79	2,49	
NO ₂	Mayo	45	35,44	14,57	0,000
	Junio	45	21,14	8,86	
NO	Mayo	45	11,49	7,82	0,023
	Junio	45	7,00	6,37	
O ₃	Mayo	25	71,58	12,15	0,195
	Junio	25	66,80	13,50	
CO	Mayo	7	0,76	0,38	0,932
	Junio	5	0,78	0,34	
PM ₂₅ (partículas)	Mayo	5	9,00	3,67	0,025
	Junio	5	4,20	1,30	

• t-Student-Fisher.

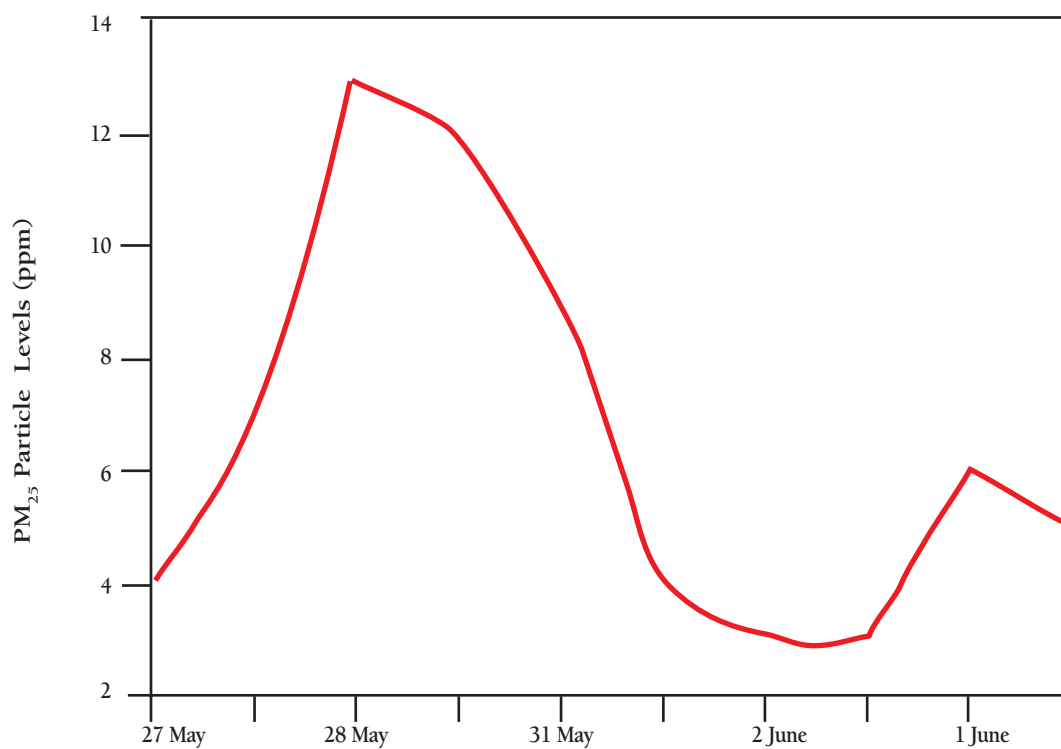


FIGURA 3A. Concentración de partículas pequeñas desde el 27/05/03 al 06/05/03.

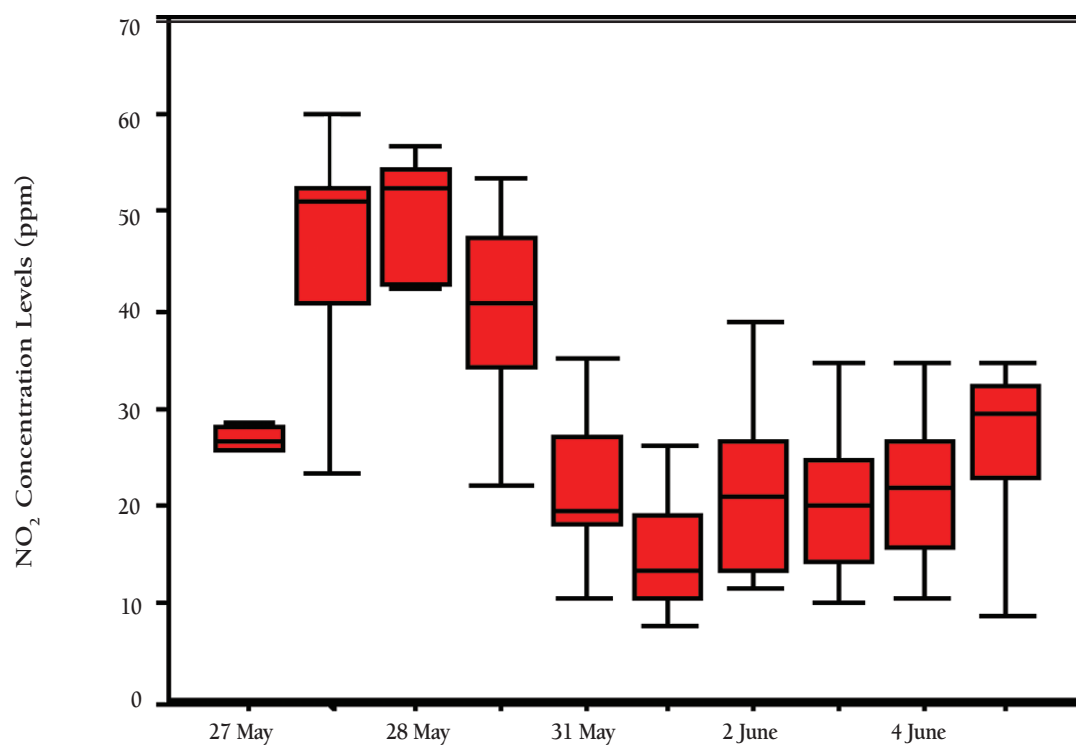


FIGURA 3B. Concentración de NO₂ 05/27/03 al 06/05/03.

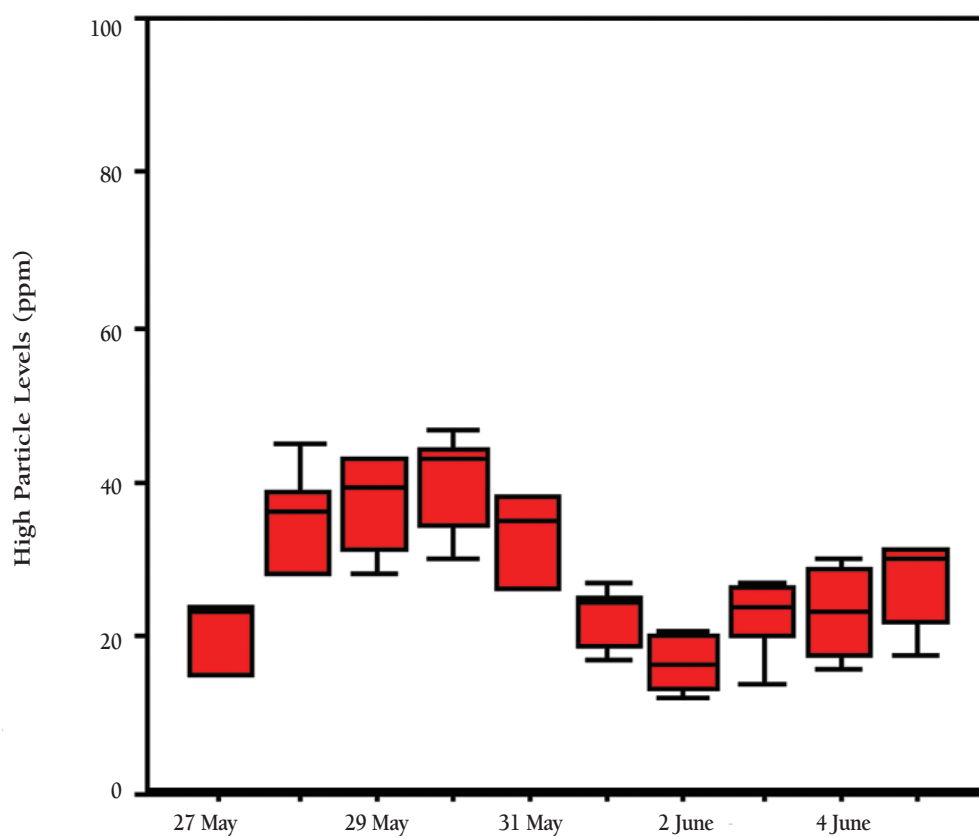


FIGURA 3C. Concentration de partículas grandes desde el 05/27/03 al 06/05/03.

FIGURA 4. Filtros procedentes del filtrado de pelusas de chopo del día 31 de mayo (izquierda) y del 4 de junio (derecha).

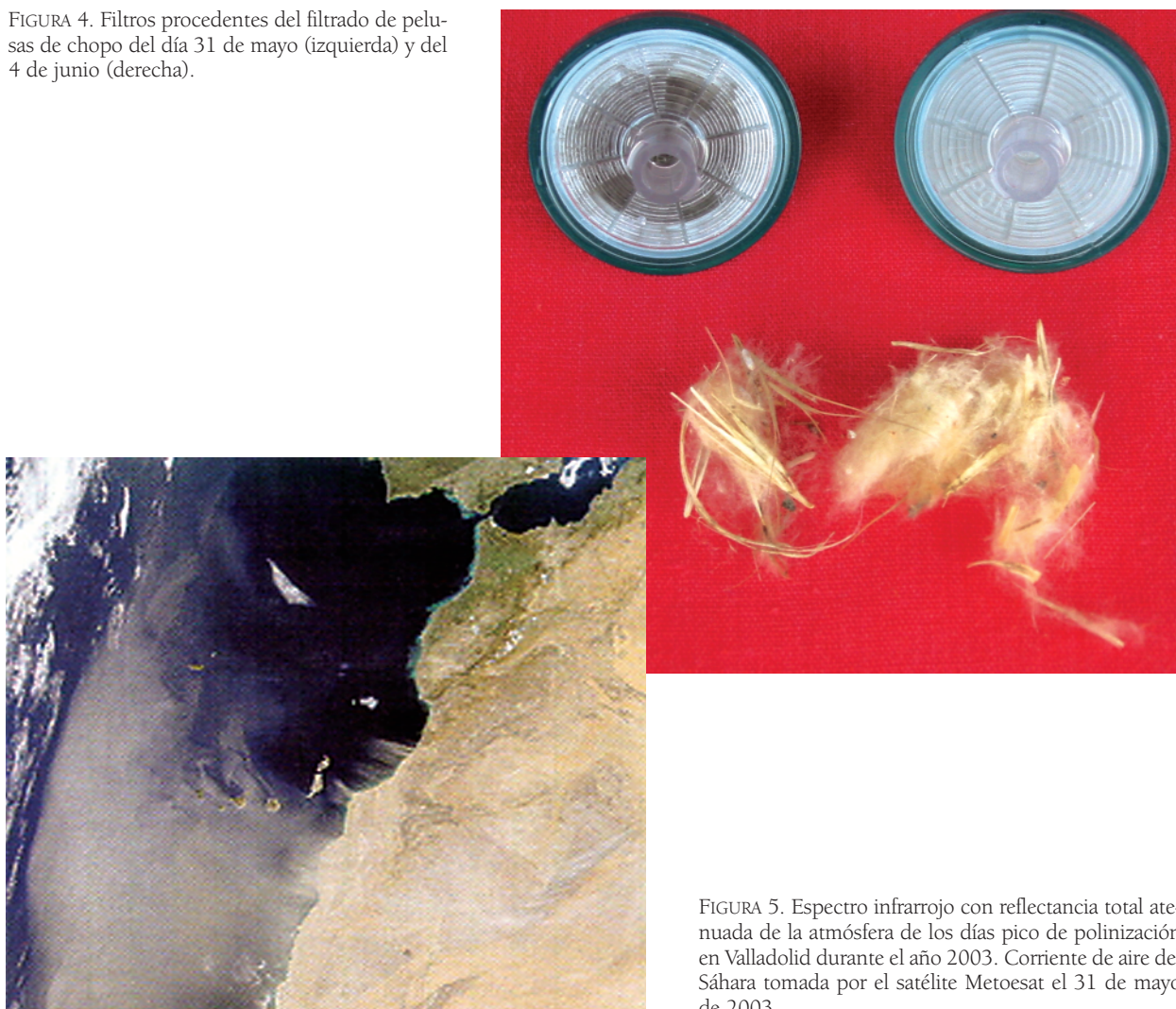


FIGURA 5. Espectro infrarrojo con reflectancia total atenuada de la atmósfera de los días pico de polinización en Valladolid durante el año 2003. Corriente de aire del Sáhara tomada por el satélite Meteosat el 31 de mayo de 2003.

una gran concentración en cloruros de procedencia marina y fosfatos (no existentes habitualmente en el aire de Valladolid), datos que no se constataron en las del día 4 de junio. La figura 4 permite ver la diferencia de los filtros obtenidos ambos días. ¿Que hechos podrían explicar estos hallazgos?

En noviembre de 2002 sucedió uno de los desastres contaminantes mas grave de los últimos años. Desde esta fecha, Galicia, las costas Cantábricas y Vascas, de Portugal y Francia sufrieron repetidas mareas negras provenientes del hundimiento del petrolero Prestige. Durante el día 30 y 31 de mayo llegó a Valladolid una corriente de aire caliente del Sáhara a través de la costa gallega. Esta corriente de aire viajó sobre la superficie del mar polucionado con fuel. Cuando se analizó la espectrofotometría del día 31, se pudo constatar una banda característica perteneciente a hidrocarburos aromáticos sulfonados y tiofenos (figura 5), muy similares a los descritos en la tragedia del petrolero Erika y no explicables por productos provenientes del tráfico o de refinería en el trayecto de la corriente del aire sahariano.

La cuestión de cómo productos aromáticos provenientes del Prestige u otras fuentes pueden interactuar con los pólenes precisa mas estudios. De todas formas se debería reconocer una delicada interacción entre productos biológicos y polucionantes orgánicos e inorgánicos, interacción que creemos que aún es subestimada. En nuestra zona, la relación entre los pólenes y las partículas pequeñas fue el factor más importante para las exacerbaciones asmáticas. Nuestros resultados sugieren que se debe poner atención a la polución durante los picos de polinización estacional.

BIBLIOGRAFÍA

1. THE INTERNATIONAL STUDY OF ASTHMA AND ALLERGIES IN CHILDHOOD (ISAAC) STEERING COMMITTEE. *Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma. Allergic rhinoconjunctivitis and atopic eczema* ISAAC. Lancet 1998; 351: 1255-32.
2. HOWART PH. *Is allergy increasing? -early-life influences.* Clin Exp Allergy 1998. Supp 6: 2-7.
3. EDITORIAL. *Grass pollen: trend and predictions.* Clin Exp Allergy, 1999; 29: 735-38.
4. BRÄBÄCK L, KÄLVESTEN L. *Urban living as a risk factor for atopic sensitisation in Swedish schoolchildren.* Pediatrics Allergy Immunol 1991; 2: 14-19.
5. G. D'AMATO. *Urban pollution and plant-derived respiratory allergy.* Clin Exp Allergy 2000; 30: 628-36.
6. BURNEY P, MALMBERG E, CHINN S, JARVIS D, LUCYNSKA C, LAI E. *The distribution of total and specific serum IgE in the European Community Respiratory Health Survey.* J Allergy Clin Immunol 1997; 99: 314-22.
7. ARMENTIA A, BAÑUELOS C, ARRANZ ML, DEL VILLAR V, MARTÍN SANTOS JM, MARTÍN GIL FJ, VEGA JM, CALLEJO A, PAREDES C. *Early introduction of cereals into children's diet as a risk-factor of grass-pollen asthma.* Clin Exp Allergy. 2001; 31: 1250-1255.
8. ARMENTIA A, BLANCO QUIRÓS A, MARTÍN JM ET AL. *Rush immunotherapy with a standardised Bermuda grass pollen extract.* Ann Allergy 1989; 63: 127-35.
9. CESKA M, ERIKSSON R, VARGA JM. *Radioimmunosorbent assay of allergens.* J Allergy Clin Immunol 1972; 49: 1-9.
10. SANCHEZ MADRID F, MORAGO G, CORBI AL, CARREIRA J. *Monoclonal antibodies to three different epitopes on human IgE: their use for determination of allergenic specific IgE.* J Immunol Methods 1984; 73: 367-78.
11. Schägger H, Van Jagow G. *Tricine-SDS-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa.* Anal Biochem 1987; 166: 368-79.
12. RAMIREZ J, OBISPO TM, DUFFORT O, CARPISO JA, CHAMORRO MJ, BARBER D, IPSEN H, CARREIRA J, LOMBARDEO M. *Group 5 determination in Poideae grass pollen extracts by monoclonal antibody-based ELISA. Correlation with biologic activity.* Allergy 1997; 52: 806-13.
13. ASHORE I, BONER A, CHATELAINE A, CUSTOVIC A, DAGLI E, HAUS M, HEMMO-LOTEM M, HOLGATE ST, HOLT PG, IIKURA I, JOHANSSON SG, KOWALSKI ML, NASPITZ CK, ODHAMBO J, VICHYANOND P, VOLOVITZ B, WAHN U, WARNER JO, WEISS K, ZHONG NS. *Prevention of allergy and asthma: interim report.* Allergy 2000; 55: 1069-88.
14. VIEGI G. *Air pollution, epidemiology and the European Respiratory Society. The PEACE Project.* Eur Respir Dis. 1998; 8: 1-3.
15. AMERICAN THORACIC SOCIETY. *Health effects of outdoor air pollution.* Am Respir Crit Care Med 1996; 153: 3-50.
16. AMERICAN THORACIC SOCIETY. *Health effects of outdoor air pollution. Part II.* Am J Respir Crit Care Med 1996; 153: 477-98.
17. NILSSON L., CASTOR O., LÖFMAN O., MAGNUSSON A., KJELLMAN N.I.M. *Allergic disease in teenagers in relation to urban residence at various stages of childhood.* Allergy 1999; 54: 716-721.
18. VAN REE R, JOFFMAN DR, WILLIAMS VD, BRODARD V, MAHIEU K, KOELEMAN CAM, GRANDE M, VAN LEEUWEN BS, AALBERSE R. *Lol p XI, a new major grass pollen allergen, is a member of a family of Soybean trypsin inhibitor-related proteins.* J Allergy Clin Immunol 1995; 95: 970-8.
18. DÍAZ PERALES A, COLADA C, BLANCO C, SÁNCHEZ MONGE R ET AL. *Class I chitinases with hevein-like domain, but not class II enzymes, are relevant chestnut and avocado allergens.* J Allergy Clin Immunol 1998; 273: 127-33.
19. BUFE A, SCHRAMM G, KEOWN MB, SCHLAACK M, BECKER WM. *Major allergen Phl pVb in timothy grass is a novel pollen RNase.* FEBS Lett 1995; 363: 6-12.
20. SINGH MB, HOUGH T, THIRERAKULPISUT P, AVJIOGLU A, DAVIES S, SMITH P, TAYLOR P, SIMPSON R, WARD LD, MCCLUSKEY J, PUY R, KNOX RB. *Isolation of cDNA encoding a newly identified major allergenic protein of rye-grass-pollen: Intracellular targeting to the amyloplast.* Proc Natl Acad. Sci. USA. 1991; 88: 1384-1388.
21. SÁNCHEZ MONGE R, LOMBARDEO M, GARCÍA SELLÉS FJ, BARBER D, SALCEDO G. *Lipid-transfer proteins are relevant allergens in fruit allergy.* J Allergy Clin Immunol 1999; 103: 514-519.
22. PASTORELLO EA, FARIOLI L, PRAVETTONI V, ORTOLANI C, ISPANO M ET AL. *The major allergen of peach (Prunus persica) is a lipid transfer protein.* J Allergy Clin Immunol 1999; 103: 520-26.
23. SÁNCHEZ MONGE R, BLANCO C, DÍAZ PERALES A, COLLADA C, CARRILLO T, ARAGONCILLO C, SALCEDO G. *Class I Chitinases, the panallergens responsible for latex-fruit syndrome, are induced by ethylene treatment, and inactivated by eating.* J Allergy Clin Immunol 2000; 106: 190-5.
24. THOMAS P, DEUTINGER P, HEULB G, STRUBE D, PRZYBIL ET AL. *Influence of gaseous pollutants on pollen viability, germination and protein release.* J Allergy Clin Immunol 1996; 97: A.
25. GROBE K, BECKER WM, SCHLAACK M, PETERSEN A. *Grass group I allergens (Beta-Expansins) are novel, papain-related proteinases.* Eur. J. Biochem. 1999; 263: 33-40.
26. MASUCH G, FRANZ J TH, SCHOENE K, MÜSKEN H, BERGMANN K CH. *Ozone increases group 5 allergen content of Lolium perenne.* Allergy Net. 1997; 52: 874-75.
27. LOVBORG U, BAKER PJ, TAYLOR JM, YIN P, TOVEY ER. *Subtribe-specific monoclonal antibodies to Lolium perenne.* Clinical and Experimental Allergy 1999; 29: 973-981.
28. Gereda JE, Klinnert M, Price MR, Leung DYM, Liu AH. *Metropolitan home living conditions associated with indoor endotoxin levels.* J Allergy Clin Immunol 2001; 107: 790-6.
29. BRYANT RH, EMBERLIN JC, NORRIS-HILL J. *Vertical variation in pollen abundance in North-Central London.* Aerobiologia 1989; 5: 123-137.
30. ARMENTIA A, ASENSIO T, SUBIZA J, ARRANZ ML, MARTÍN-GIL FJ, CALLEJO A. *Living in towers as risk factor of pollen allergy.* Allergy 2004; 59: 4-7.
31. LIERL MB, HORNING RW. *Relationship of outdoor air quality to pediatric asthma exacerbations.* Ann Allergy Asthma Immunol, 2003; 90: 28-33.

Polinosis infrecuentes

MIGUEL ÁNGEL BALTASAR DRAGO

Unitat d'Al·lergologia. Hospital Verge de la Cinta

POLINOSIS POR CRUCÍFERAS

Características botánicas y distribución

DIVISIÓN:	<i>Magnoliophyta</i>
SUBDIVISIÓN:	<i>Angiosperma</i>
CLASE:	<i>Dicotilidónea</i>
SUBCLASE IV:	<i>Dilénidas</i>
ORDEN:	<i>Readales o Capparales</i>
FAMILIA:	<i>Crucíferas o Brassicáceas</i>

La familia de las Crucíferas o Brassicáceas (*Cruciferae* o *Brassicaceae*) es cosmopolita y consta de 350-381 géneros (con más de 3.000 especies). Se distribuye principalmente en regiones templadas, predominando en la Europa Mediterránea (también en Asia central). Se trata de una importante familia desde el punto de vista económico:

- Alimentación: hortalizas, condimentos, aceites, piensos.
- Ornamental.

Suelen ser hierbas anuales o perennes (rara vez arbustos), con hojas alternas, generalmente opuestas, a menudo lobuladas o divididas. La inflorescencia en corimbo o en racimo. Flores hermafroditas y actinomorfas. El fruto en silícula con semillas en una o dos hileras. Reproducción anemófila o entomófila.

Casi todas las especies están presentes en campos, huertas, bordes de caminos y carreteras. En la tabla 1 se recogen los géneros más importantes desde el punto de vista económico y alergológico¹⁻⁶.

Taxones de interés en Alergología

Brassica napus (variedad oleífera)

Nombres comunes: *Colza*, *Rape* (*Oilseed rape*)¹⁻⁴. La colza es una planta originaria de Europa y Asia, que en un principio se encontraba formando malezas en estado asilvestrado. A través del tiempo y después de numerosas mejoras genéticas, se llega a la colza que hoy conocemos. El cultivo de la colza en España se inicia a finales de los años 60, en los años 80 la superficie cultivada alcanza en España 80.000 ha. Posteriormente, y debido al problema del aceite de colza desnaturalizado, el consumo se frenó impidiendo su desarrollo.

TABLA 1.

GÉNEROS MÁS IMPORTANTES DE LA FAMILIA CRUCIFERAE			
Género	Nombre científico	Nombre/s habitual/es	Repercusión
<i>Brassica</i>	<i>Brassica oleracea</i>	Col (repollo), col de bruselas, coliflor, brócoli, colinabo	Económica-Alimentación
	<i>Brassica napus</i> subsp <i>rapifera</i>	Nabo	Alergológica
	<i>Brassica napus</i> subsp <i>rapa</i>	Colza común	Alergológica
	<i>Brassica nigra</i>	Mostaza negra	Alergológica
<i>Raphanus</i>	<i>Raphanus sativus</i>	Rábano	Económica-Alimentación
<i>Sinapsis</i>	<i>Sinapis alba</i>	Mostaza blanca	Económica-Alimentación
<i>Diplotaxis</i>	<i>Diplotaxis eruroides</i>	Rabaniza blanca	Alergológica
<i>Matthiola</i>			Económica-Ornamental
<i>Lobularia</i>			Económica-Ornamental
<i>Lunaria</i>			Económica-Ornamental
<i>Erysimum</i>			Económica-Ornamental

Es una planta anual que pertenece a la variedad oleífera del género. La colza puede superar la altura de 150 cm. Las hojas inferiores son dentadas y rizadas y las superiores lanceoladas y enteras. La inflorescencia es en forma de racimos, con los colores amarillentos típicos de las crucíferas, y los frutos, en la maduración, varían entre el rojizo y el negro. La comercialización de colza genéticamente modificada continua siendo motivo de polémica en la sociedad actual.

Diplotaxis eruroides

Nombres comunes: rabaniza blanca, jaramago, oruga silvestre, *white wall-rocket*, *white rocket*¹⁻⁶. Planta herbácea anual o bianual que puede llegar a los 50 cm de altura. Tallos erectos con hojas inferiores lobuladas, pecioladas y dispuestas en roseta, las superiores alternas y sésiles. Flores hermafroditas de hasta 1,5 cm de diámetro con 4 pétalos blancos en cruz y venas de color violeta, agrupadas en racimos. Los frutos son silicuas de hasta 4 cm. de longitud.

La rabaniza blanca está extendida tanto en áreas urbanas como rurales de la Europa central y del sudoeste. Es una de las hierbas mas abundantes durante el otoño y el invierno, aunque puede florecer en cualquier época del año, germina rápido con las primeras lluvias y florece en pocas semanas cubriendo de blanco (comunidades infestantes) sembrados o arboledas (viñedos, olivares) y bordes de caminos.

Morfología del polen y polinización

El polen de las Brassicáceas es alargado o esferoidal, de tamaño medio (27 x 18 µm), trizonocolporado (algunos tetrazonocolporados), con exina reticulada. Las crucíferas suelen polinizar de octubre a junio, con cifras máximas variables entre abril y mayo según la zona geográfica y según la especie implicada¹⁻⁶.

Brassica oleracea.



Polen de Brassica.

Patología por crucíferas

Epidemiología

La prevalencia de alergia al polen de Brassicáceas suele ser motivo de controversia, existen dudas sobre su poder sensibilizante ya que la mayoría de pacientes son atópicos con alergia a otros pólenes⁷. Por otro lado la dispersión de polen a distancia es pequeña y tan sólo viviendas cercanas a los campos tendrían niveles polínicos elevados⁸. Se han descrito casos aislados de polinosis por Brassicáceas sin relación laboral⁹.

Se barajan cifras del 0,2% de sensibilizaciones a polen de colza (sin mediar exposición ocupacional)¹⁰, que aumentan hasta el 8,69% entre pacientes con síntomas durante la época de polinización de la colza⁷. En 4.468 pacientes con sospecha de alergia respiratoria, utilizando pruebas cutáneas se demostraron un 7,1% de sensibilizados a polen de colza, siendo esta sensibilidad la única en 9 pacientes (0,2%)¹¹.

En nuestro medio García-Ortega y cols., utilizando pruebas cutáneas demostraron un 3,41% de pacientes con clínica respiratoria y sensibilización a *Diplotaxis erucoides*, polen que puede ser un importante alérgeno, particularmente en áreas rurales, donde puede provocar patología laboral^{5,6}.

Existen otras crucíferas capaces de provocar polinosis y/o patología mediada por IgE¹².



Colza.

Manifestaciones clínicas

Los pacientes pueden manifestar síntomas de rinoconjuntivitis estacional y/o asma bronquial durante la época polínica, especialmente si existen campos de cultivo de crucíferas cercanos o si existe exposición laboral indirecta (*brassicáceas* como plantas infestantes de otros cultivos).

Como en otras familias alergénicas, la inhalación de polvo o harina de colza (también de otras crucíferas) puede provocar síntomas respiratorios y/o cutáneos de tipo laboral (no conocemos casos epidémicos similares a los de la soja), ya que algunos de sus componentes son volátiles y potencialmente alergénicos^{13,14}.

Las semillas pueden causar hipersensibilidad por ingestión, de hecho las de mostaza constituyen un importante alérgeno alimentario¹⁵. La mayoría de pacientes con hipersensibilidad a la mostaza sufren reacciones sistémicas graves y presentan una polinosis u otras sensibilizaciones alimentarias asociadas¹⁶⁻¹⁸. Otras *brassicáceas* también causan reacciones alimentarias, aunque no siempre se evidencia reactividad cruzada entre ellas¹⁹.

La urticaria y la dermatitis alérgica de contacto se ha descrito para muchas especies de crucíferas de forma individual o con reactividad cruzada entre ellas: nabo, brócoli, berro, rábano, colza, mostaza, plantas ornamentales y otras. El medio laboral suele ser también un factor de riesgo decisivo en casos de reacciones de hipersensibilidad tipo IV²⁰⁻²⁶.

Extractos alergénicos disponibles en el mercado

Desconocemos la comercialización de extractos de polen de crucíferas para diagnóstico in vivo y/o terapéuticos. En todo caso, Bial-Aristegui (Bilbao) es el laboratorio responsable de la elaboración de extractos en



Diplotaxis erucoides

los dos trabajos de sensibilización a *Diplotaxis erucoides*^{5,6}. La mayoría de laboratorios comerciales ofrecen extractos diagnósticos para semillas de mostaza, col, coliflor, etc.

La determinación de IgE específica mediante Pharmacia CAP System® está disponible para:

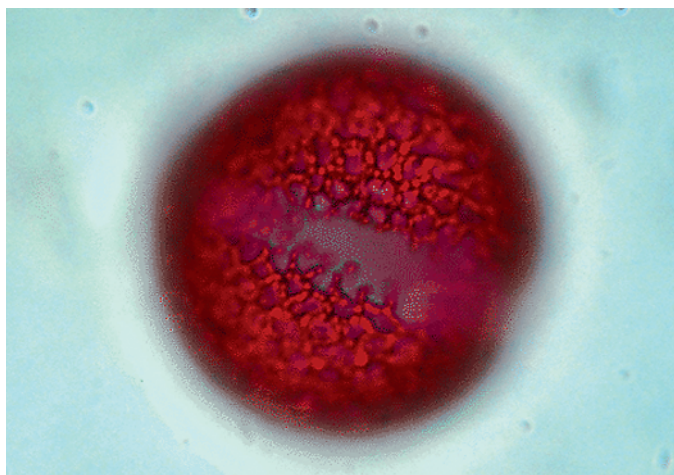
- Polen de Colza (*Brassica napus*): Rw203
- Alimentos: *Brassica oleracea* variedad *capitata* (col o repollo): f216, variedad *gemmifera* (col de Bruselas): Rf217, variedad *botrytis* (coliflor): Rf316, variedad *itálica* (brécol o brócoli): f260, *Brassica napus* variedad *rapa* (semilla de colza): Rf316, *Sinapsis spp* (mostaza): f89.

Fracciones alergénicas

La caracterización de los alérgenos del polen de colza ha demostrado la existencia de dos alérgenos mayores de bajo peso molecular 6-8 kDa y 12-14 kDa (profilinas), y otros de alto peso molecular^{27,33,42,51,58-61} y 70 kDa) con seguridad glicoproteínas, reconocidos por el 50-80% de sueros de pacientes alérgicos²⁷.

Los estudios con *Diplotaxis erucoides* han evidenciado proteínas que fijaban IgE, en rangos de 26-27,5 y 31-34 kDa⁴.

Se han aislado alérgenos entre las proteínas de reserva de las crucíferas específicamente albúminas 2S: Sin a 1 (mostaza amarilla), Bra j 1 (mostaza oriental), Bra n1 (colza). También entre proteínas de defensa como proheveínas: Bra r 2 (nabo)²⁸⁻³⁰. Estos alérgenos presentan una gran similitud estructural con proteínas de reserva y defensa de las crucíferas y de semillas de otras especies, lo cual justificaría la reactividad cruzada entre el género o con otras familias^{30,31}. Se han descrito alérgenos de otras especies como *Brassica campestris*, variante salvaje de la colza¹².



Polen de Sinapsis

Respecto a los casos de alergia ocupacional por semilla de colza, se describen proteínas fijadoras de IgE de pesos moleculares entre 10 y 160 kDa¹⁴.

En la dermatitis de contacto por brassicáceas, también se ha demostrado el papel de las proteínas de defensa (proheveínas)²⁰.

Reactividad cruzada

Por lo expuesto, esperaríamos una extensa reactividad cruzada entre las diversas especies de la familia *Brassicaceae*.

La IgE específica de la mayoría de alérgicos al polen de la colza, también reacciona con alérgenos del polen del abedul y de gramíneas³². El polen de colza contiene una profilina y una proteína fijadora de calcio, que pueden dar lugar a reactividad cruzada con otras plantas que contengan estos panalergenos: *Cynodon dactylon* (Cyn d 7), olivo (Ole e 3) o abedul (Bet v 4)^{23,27,32}.

La mayoría de pacientes sensibilizados a polen de rabaniza blanca presentaban también sensibilidad a polen de compuestas (*Artemisia*) y se demostraba inhibición del RAST entre ambos, también se advierte la posibilidad de reactividad cruzada con gramíneas, olivo y chenopodiáceas (*Salsola kali*)^{5,6}.

Sin embargo, otros autores advierten que la semejanza de pesos moleculares no garantiza reactividad cruzada inmunológica, concretamente en el caso de las gramíneas³³.

El estudio de los pacientes sensibilizados a *Diplotaxis* demostró que la mayoría presentaban alergia alimentaria, particularmente a los vegetales que suelen asociarse a sensibilización al polen de *Artemisia*⁵. Otros estudios de inhibición demuestran la reactividad cruzada entre semillas de compuestas (girasol) y brassicáceas, en pacientes con alergia alimentaria³⁴.

POLINOSIS POR MORÁCEAS

Características botánicas y distribución

DIVISIÓN:	<i>Magnoliophyta</i>
SUBDIVISIÓN:	<i>Angiosperma</i>
CLASE:	<i>Dicotilidónea</i>



Morus.

SUBCLASE II: *Hamamelidae*
 ORDEN: *Urticales*
 FAMILIA: *Moráceas (Moraceae)*

La familia de las moráceas, está constituida por unos 40 géneros (1.000 especies) de árboles, arbustos, lianas, rara vez herbáceas.

Sus hojas son opuestas o alternas, simples o excepcionalmente compuestas, estipuladas. Las flores unisexuales en inflorescencias axilares, compactas, a menudo con el eje de la inflorescencia engrosado formando un receptáculo invaginado. Fruto por lo general drupáceo, formando sicono (*Ficus*) o sorosis (*Morus*). Anemófilas o entomófilas (*Ficus*), monoicas o dioicas.

Se distribuyen por regiones tropicales y subtropicales, menos a menudo en regiones templadas^{1,2,3,4}

Taxones de interés en alergología

*Ficus*¹⁻⁴

Suelen contener látex con propiedades y usos medicinales. Además, del látex de *Ficus elastica* se obtuvo caucho hasta que éste fue superado por el producido por *Hevea brasiliensis* (*Euphorbiaceae*). La importancia actual de los ficus reside en su uso como plantas ornamentales, tanto de interior, cultivadas en maceta, como para jardín.

- *F. CARICA* o higuera: de polinización entomógama, las brevas son los siconos apicales que maduran por partenogénesis carpelar en primavera y verano. Los higos son siconos de finales del verano o comienzos del otoño, cuyas flores femeninas fueron polinizadas en primavera.
- *F. elastica*.
- *F. benghalensis*
- *F. benjamina*: ornamental
- *F. sycamorus* o sicomoro



Morus alba.



Polen de morera.



Morus (Moreras, Mulberries)

Árboles y arbustos caducifolios, de hojas generalmente cordado-ovadas, aserradas, simples o con algunos lóbulos. Flores diminutas y unisexuales. Fruto en sincarpo formado por el agregado de numerosos frutitos. Comprende 12 especies distribuidas por regiones templadas de Norteamérica, Europa y Asia: *Morus rubra* L., *Morus nigra* L., *Morus alba* L., *Morus australis* Poir. En Europa, representados por 2 especies: *M. alba* y *M. nigra*. La primera es la morera, árbol originario de China, de hojas más suaves y brillantes que *M. nigra* o moral, procedente de Siria, más corpulento, de hojas mayores y más ásperas¹⁻⁴.

Broussonetia

Ha sido utilizado desde muy antiguo para la obtención de papel. Se cultiva con fines ornamentales, siendo una especie poco exigente, ya que resiste bien condiciones atmosféricas adversas, suelos pobres y contaminación, requiriendo simplemente lugares soleados.

Morus y *Broussonetia* son especies muy usadas como ornamentales y como árboles de sombra¹⁻⁴.

Otros taxones

- *Maclura* (*M. pomifera* o naranjo de Luisiana).
- *Artocarpus* (*A. Altilis*, *A. Communis* o árbol del pan).
- *Dorstenia*.

Morfología del polen y polinización

Los granos del polen de la familia *Moraceae*, tienen forma esférico-ovalada, 2-4 zonoporados, isopolares y de simetría birradial. Los poros son circulares o ligeramente elípticos y al observarlos con microscopio óptico contienen unas zonas claras que corresponden a engrosamientos de la intina (onci), como sucede en el polen de betula o el de olea por ejemplo. La exina muestra una ornamentación escábrida por toda la superficie del grano. En el género *Morus*, los granos tienen un diámetro de 16 a 28m μ , mientras los de *Broussonetia* son más pequeños, de 13 a 15m μ , los poros son también más pequeños en *Broussonetia*^{1,2,3,4}.

El polen de Moráceas suele detectarse de marzo a abril¹⁻⁴. *Ficus benjamina* no florece, puede ser fuente de proteínas aerotransportables que, posteriormente, se adhieren a las partículas de polvo en el interior de las viviendas⁵.



Ficus benjamina.



Patología por moráceas

Epidemiología

Tanto el polen de *Morus* como el de *Broussonetia* han sido citados como alergógenos. Un trabajo, en Madrid, no encontró ningún paciente sensibilizado entre un grupo de 614, a pesar de que el polen representaba el 2,14% del total⁶. En el área mediterránea (donde la presencia del polen suele ser más importante) las cifras son variables: 6,3% de pacientes en una consulta de Alergología, 8,1% de atópicos⁵, 9,2% de pacientes con síntomas de asma y rinoconjuntivitis, 18,4% de pacientes polínicos⁶.

Manifestaciones clínicas

El polen de las moreras puede inducir asma y/o rinoconjuntivitis alérgica⁷, así como urticaria aero-transportada⁸.

Ficus benjamina puede comportarse como un alérgeno ocupacional en cuidadores de plantas y como un aeroalérgeno de interior⁹. Los pacientes pueden presentar sintomatología (asma, rinoconjuntivitis, conjuntivitis y urticaria de contacto) relacionada con la presencia de la planta en su domicilio^{5,10}.



Hoja de *ficus carica*.

Ficus carica.



Las reacciones de hipersensibilidad por la ingestión de higos (*Ficus carica*) se consideran raras, podrían ser consecuencia de una sensibilización primaria a antígenos de *Ficus benjamina*, y suelen asociarse a alergia a kiwi, papaya, aguacate, plátano, piña y otras, sin que ello tenga que ser secundario a una sensibilización al látex de *Hevea brasiliensis*^{11,12}.

Extractos alergénicos disponibles en el mercado

Existen extractos comercializados de polen de morera (*Morus sp*) a una concentración de 20.000 UBE/ml (Bial-Aristegui S.A.)⁶, conocemos que también Stallergenes incorpora este extracto en su catálogo (*Morus alba*).

Existen extractos de *Ficus benjamina*, para la práctica de pruebas *in vivo* (prick-test a concentración de 20 mg/ml)⁵.

En los escasos datos publicados de alergia al higo, el *prick-prick* con la fruta parece más rentable que la prueba con el extracto comercial¹³.

La determinación de IgE específica mediante Pharmacia CAP System, está disponible para:

- Polen de morera (*Morus alba*): t70
- Proteínas de *Ficus benjamina*: k81
- Higo (alimento) *Ficus carica*: Rf328

Fracciones alergénicas

Desconocemos si existen caracterizaciones de los alérgenos del polen de morera y de *Broussonetia*. Hasta 1999, se habían descrito tres alérgenos mayores de *Ficus benjamina* (proteínas de 25, 28 y 29 kDa), así como ocho alérgenos menores (masas moleculares entre 13 y 56 kDa)⁵.

En un extracto de higo se identificaron bandas fijadoras de IgE de masa molecular entre 14 y 90 kDa¹³.

Reactividad cruzada

Se ha descrito la asociación de polinosis por morera a sensibilización a otros pólenes, por lo general flora alérgica habitual de la zona estudiada: olivo 82,9%, gramíneas 71,4%, *plantago* 91,4%, artemisia 80%, chenopodiáceas 88.6-91,4%, palmera 85,7%⁶.

Algunos autores han sugerido la existencia de reactividad cruzada entre *Ficus benjamina* y otras especies del género *Ficus*, así como con látex de *Hevea brasiliensis* (9%), higo (36,3%), kiwi (31,8%), papaya (4,5%) y al polen de morera (4,5 %) ⁵⁻¹⁰.

En 8 pacientes con alergia al higo las pruebas cutáneas resultaron positivas a *Ficus benjamina* (100%), kiwi (37,5%), látex y papaya en un caso¹³.

POLINOSIS POR PALMÁCEAS O ARECÁCEAS

Características botánicas y distribución

DIVISIÓN:	<i>Angiospermas</i>
SUBDIVISIÓN:	<i>Monocotiledóneas</i>
CLASE:	<i>Liliópsida</i>
SUBCLASE:	<i>Arecidae</i>
ORDEN:	<i>Areciflorae o Arecales</i>
FAMILIA:	<i>Palmaceae, Palmae o Arecaceae</i>

Generalmente son árboles delgados (de hasta 60 m) o plantas arbustivas, a veces espinosas, con tallo (estípite) solitario o ramificado desde la base, en ocasiones subterráneo e imperceptible, de superficie lisa, espinosa o cubierta de los restos de las antiguas hojas.

Hojas alternas, siempre verdes, generalmente de gran tamaño, con la base abrazando el tallo y el raquis, con frecuencia, armado de espinas o dientes.

Las palmeras son unisexuales (monoicas o dioicas) más que hermafroditas, entomófilas más que anemófilas, con inflorescencias que nacen con frecuencia entre las hojas o por debajo de ellas. Las flores son numerosas, a menudo sésiles y aparecen de manera aislada o agrupadas. El fruto puede ser seco o carnoso, a veces recubierto de escamas, fibras o espinas.

Se trata de una familia con más de 200 géneros y alrededor de 2.700 especies de distribución mayormente tropical y subtropical. Varias especies tienen una gran importancia económica por la producción de frutos y la obtención de algunas sustancias. Los géneros más numerosos son *Calamus* (300), *Bactris* (200)¹⁻³.

Taxones de interés en alergología

Phoenix

Comprende unas 17 especies nativas:

- *P. dactylifera* (palmera datilera, *Date Palm*), con un tronco de hasta 30 m de alto, no ramificado, hojas con segmentos numerosos de hasta 40 cm, flores femeninas con tépalos internos más largos que los externos. La fruta (dátil) inmadura es verde, amarillo con la maduración, rojizo cuando esta se ha completado. No alcanza la producción completa hasta los 10-12 años de edad. Los dátiles (existen más de 600 clases) pueden consumirse frescos, secos, en jarabe, se puede elaborar con ellos vinagre,



Phoenix canariensis.

salsa picante, salmuera dulce, harina para productos de panadería y pastelería. Los dátiles salvajes son similares a los cultivados pero más pequeños y no comestibles.

- *P. canariensis* (palmera canaria, *Canary Island date palm*), tronco grueso de hasta 20 m que apoya una corona enorme sobre de 50 arqueamientos, las hojas pueden alcanzar 6 m de largo, con segmentos de más de 40 cm, el tronco se cubre con los accesos de las hojas desechadas. Se dividen en plantas masculinas y femeninas, con una polinización fundamentalmente anemófila. Los frutos (dátiles) de color amarillo-naranja, se agrupan en pesados manojos, son comestibles pero no muy sabrosos.
- Otras especies: *P. roebelenii* (palmera de Roebelen, *Pygmy date palm*), *P. reclinata* o *leonensis* (palmera de Senegal), *P. sylvestris* (Sugar Date Palm), *P. rupícola*, *P. zeylanica* (*Blue date palm*), etc.^{1,2,3}.

Elaeis melanococca o guineensis (*Palma africana, Oil Palm, African Oil Palm*)

Cuenta con dos miembros, uno africana y otro de Suramérica. Se cultivan en zonas tropicales (el aceite de palma es el segundo aceite vegetal consumido en el mundo) y también son una especie ornamental en el resto del mundo. Pueden alcanzar los 25 m de altura. Con un tronco erguido y anillado. Las hojas de 3 a 5 m de largo. Tiene inflorescencias masculinas y femeninas en racimos separados, pero en el mismo árbol. Las flores masculinas situadas en las ramas cortas, las femeninas (las frutas), en racimos de 200-300. Las frutas de oblongas de 2 por 3,5 cm. Se cultiva fundamentalmente por su aceite: jabones, velas, margarinas, dulces, lubricante industrial, etc.^{1,2,3}.



Phoenix dactylifera.

Otros taxones

Arecastrum romanzoffianum (antigua nomenclatura *Cocos plumosa*; nueva nomenclatura: *Syagrus romanzoffianum*, *Coco plumoso*, *Queen Palm*). Son árboles de hoja perenne que puede medir 17 m. El tronco es excepcionalmente recto, con una corteza lisa. Las hojas pueden crecer hasta alcanzar de 3 a 5 m de largo. Las flores son pequeñas y de color amarillo. El fruto tiene unos 2,5 cm, de color verde a naranja. Nativos de Sudamérica. *Areca catechu* (areca, betel, palmera "betel-nut"): proporciona la "nuez de areca", con alcaloides antihelmínticos y euforizantes, ocasionalmente asociados a crisis asmáticas al masticarse. *Cocos nucifera* (Cocotero): fruta de comercialización bien conocida^{1,2,3,4}.

- *CHAMAEROPS*. *C. humilis* (margallón, palma enana, palmito, *Mediterranean fan palm*, *windmill palm*). Forma aros por multiplicación vegetativa, pecíolo largo, espinoso, espádices pedunculados, dioica.
- *WASHINGTONIA* Cultivo fundamentalmente ornamental: *W. robusta* (palmera mexicana, *Mexican Fan Palm*), tronco de hasta 60 cm de diámetro, *W. filifera* (palmera de California, *California Fan Palm*), tronco de más de 60 cm de diámetro.
- *ARENGA PINNATA* (palmera de azúcar, palmera gomuti): se utiliza su savia azucarada.
- *LODOICEA MALDIVICA* (palmera de las Seychelles o coco doble): tiene la semilla más grande en el mundo.
- *TRACHYCARPUS FORTUNEI* (palmera de la suerte): ornamental.
- *BORASSUS FLABELIFER* (palma de Palmira): su savia tiene valor comercial.
- *CARYOTA URENS* (palma vinífera): utilizada por su savia.
- *CALAMUS* (rota, rotang): proporciona fibra.
- *METROXYLON* *M. sagu* y *M. rumphii*: el "almidón de sagú" se usa como alimento. *M. amicarum*: proporciona una especie de marfil vegetal.
- *RAPHIA VINIFERA* Fibra de "rafia".
- *CEROXYLON ANDICOLA* (palma de los Andes): produce cera.
- *COPERNICIA CERICEA* (carandai, en Brasil): proporciona la "cera de carnauba".
- *PHYTELEPHAS MACROCARPA*, con un endosperma duro que se utiliza para hacer botones e incrustaciones.



Phoenix flor.

Morfología del polen y polinización

El polen de palmera es de tamaño pequeño a mediano (16 a 29 μm), prolado o esferoidal con un sólo colpo y exina lisa de 2 μm de grosor.

Las características de este grupo de plantas determinan un dilatado período de polinización que se inicia generalmente en el mes de marzo y finaliza entre octubre y diciembre. En la zona de Levante, se pueden alcanzar altas concentraciones de este polen (200 granos/ m^3), concretamente en Elche, la palmera datilera inicia su polinización entre la segunda semana de febrero y la segunda de marzo, y se prolonga hasta finales de mayo o primeros de junio, alcanzando el pico máximo en abril (314 granos/ m^3 en el año 2002).

La relevancia clínica de este polen probablemente crecerá en toda la franja costera mediterránea y en toda la Península, debido a su cultivo de carácter ornamental¹⁻⁷.

Patología por palmáceas o arecáceas

Epidemiología

En nuestro medio puede representar hasta un 8,47% de las pruebas cutáneas en un grupo de alérgicos⁶, mientras que otro estudio nacional cifra la prevalencia de sensibilización en el 9,47% de pacientes con clínica respiratoria (18,94% de los polínicos), no detectándose casos de monosensibilización⁵.



Phoenix hoja.

Se tienen muy pocos datos sobre sensibilizaciones a polen de palmera en otras zonas, en Arabia Saudita afecta a un 25% de los sujetos atópicos, en Calcuta y Singapur al 40% de pacientes con alergia respiratoria, y al 22,43% en Indonesia^{5,6}.

Manifestaciones clínicas

La patología alérgica descrita por el polen de areáceas en individuos sensibilizados (rinoconjuntivitis, asma, urticaria de contacto) implica a diferentes especies: *Elaeis guineensis*, *P. canariensis*, *P. dactylifera*, *P. silvestris* y otras⁷⁻¹⁰.

La mayoría de sensibilizaciones se describen en la proximidad de zonas geográficas con presencia del polen en la atmósfera, aunque existen casos aislados de sujetos sensibilizados, especialmente los dedicados a la jardinería y a su cuidado^{7,10}.

Los dátiles que pueden provocar migraña por su alto contenido en tiramina, también se han descrito como causa de alergia alimentaria^{8,9,11}.

Extractos alérgicos disponibles en el mercado

Existen extractos comercializados para el diagnóstico *in vivo* de alergia al polen de palmera (*Phoenix dactylifera*) por Bial-Aristegui S.A. (11.900 UBE/ml)⁵, y también por laboratorios Stallergenes.

La detección *in vitro* de IgE específica mediante Pharmacia CAP-System, está disponible para:

- Dátil (*P. dactylifera*): Rf 289
- Polen de palmera datilera (*P. dactylifera*): Rt214
- Polen de palmera de aceite (*Elaeis guineensis*): Rt223
- Polen de palmera reina (*Arecastrum romanzoffianum*): t72

Fracciones alérgicas

Para *Phoenix dactylifera* se han propuesto 6 alérgenos mayores: Pho d 1 (a 12 kDa protein), Pho d 2 (a 14,4 kDa protein) Pho d 3 (a 57 kDa protein), Pho d 4 (a 65-67 kDa protein), Pho d 5 (a 28-30 kDa protein), Pho d 6 (a 37-40 kDa protein). Los 4 primeros se unen al 80-83% y los dos últimos al 60-80% de los anticuerpos IgE presentes en suero de sujetos alérgicos^{12,13}.

Debido a la íntima relación entre las variedades, se asume que *P. canariensis*, *P. dactylifera* y *P. silvestris* presentan alérgenos similares (denominándose Pho c para la variedad canaria). Por otro lado, ejemplares de la misma especie pueden contener variaciones importantes en su composición antigénica^{6,14}.

La banda de 14 kDa corresponde al panalergeno, profilina que contribuye como uno de los alérgenos principales en el extracto del polen de palmera (caracterizado para una población de pacientes españoles)⁷.

En 18 variedades de dátiles cultivados se han determinado alérgenos en bandas de 14,3 kDa, 27-33 kDa y 54-58 kDa, capaces de ligar IgE de pacientes polínicos y de alérgicos a la fruta^{8,9}.

Reactividad cruzada

De lo expuesto, cabe esperar una extensa reactividad cruzada entre las diferentes especies del género *Areaceae*, los estudios de RAST-inhibición confirman este aspecto entre los pólenes de *P. canariensis* y *P. dactylifera*¹⁰.

En la India se ha demostrado la reactividad cruzada entre las 4 especies más importantes en este país (*Areca catechu*, *Cocos nucifera*, *Phoenix sylvestris* y *Borassus flabellifer*)^{14,15}.

Algunos alérgenos del dátil pueden presentar reactividad cruzada con los alérgenos polínicos, pero también se describen alérgenos específicos de cada especie cultivada¹².

Aunque no existe homología entre la palmera y otras plantas parece encontrarse una cierta reactividad cruzada con gramíneas y con parietaria⁷. En el estudio de Cartagena y Zaragoza, todos los pacientes sensibilizados a polen de palmera eran polínicos y estaban sensibilizados especialmente al polen de *Plantago* (el 91,7%). También se hallaron porcentajes de sensibilización significativos a otros pólenes comunes en la zona: Olivo (86,1%), Gramíneas (75%), Plátano (72,2%), Artemisa (75%), Salsola (88,9%), *Chenopodium* (86,1%), Morera 30 (83,3%)⁵.

La profilina (Pho d 2) que se encuentra en gran concentración en el polen de palmera, podría ser la clave de esta reactividad cruzada⁷. La profilina del polen del olivo (Ole e 2) alcanza una homología del 73%, las de melocotón (Pyr c 3) del 87% y las del girasol (Hel a 2) del 71%. Otros resultados implican también a profilinas de gramíneas y abedul¹⁶.

Sin embargo, los resultados de RAST inhibición no demostraron una clara reactividad cruzada con extractos totales de polen de olivo, salsola, parietaria o gramíneas⁶.

BIBLIOGRAFÍA CRUCÍFERAS

1. LECCIONES HIPERTEXTUALES DE BOTÁNICA: www.unex.es/botanica/LHB/dilleniidae/brassica.htm
2. BELMONTE J, ROURE JM, BOTÉY J, CADAHIA A. *Aerobiología de Catalunya*. Red Española de Aerobiología (REA I) 1995; 87-102.
3. UNIVERSITA DE LES ILLES BALEARS: *Herbari virtual de les Illes Balears*: <http://www.uib.es/depart/dba/botanica/herbari/families/CRUCIFERAE/>
4. GARCÍA BREJO FJ. *Biología vegetal. Tema 20 (4d). Familia Crucíferas (Cruciferae)*. Unidad docente de la ETSMRE. Universidad Politécnica de Valencia: <http://www.euita.upv.es/varios/biologia/Temas%20Angiospermas/Dilénidas/Crucíferas/Crucíferas.htm>
5. GARCÍA-ORTEGA P, BARTOLOMÉ B, ENRIQUE E, GAIG P, RICHART C. *Allergy to Diplotaxis erucoides pollen: occupational sensitization and cross-reactivity with other common pollens*. *Allergy* 2001; 56(7): 679-683.
6. BRITO FF, MUR P, BARTOLOME B, GALINDO PA, GOMEZ E, BORJA J, MARTINEZ A. *Rhinoconjunctivitis and occupational asthma caused by Diplotaxis erucoides (wall rocket)*. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108(1): 125-7.
7. SOUTAR A, HARKER C, SEATON A, PACKE G. *Oilseed rape and bronchial reactivity*. *Occup Environ Med* 1995; 52(9): 575-80.
8. SOUTAR A, HARKER C, SEATON A, BROOKE M, MARR I. *Oilseed rape and seasonal symptoms: epidemiological and environmental studies*. *Thorax* 1994; 49: 352-356.

9. FIORINA A, SCORDAMAGLIA A, GUERRA L, PASSALACQUA G. *Aerobiologic diagnosis of brassicaceae-induced asthma*. Allergy 2003; 58(8): 829-30.
10. FELL PJ, SOULSBY S, BLIGHT MM, BROSTOFF J. *Oilseed rape--a new allergen?* Clin Exp Allergy 1992; 22(4): 501-5.
11. HEMMER W, FOCKE M, WANTKE F, JAGER S, GOTZ M, JARISCH R. *Oilseed rape pollen is a potentially relevant allergen*. Clin Exp Allergy 1997; 27(2): 156-61.
12. SINGH BP, VERMA J, RAI D, SRIDHARA S, GAUR SN, GANGAL SV. *Immunobiochemical characterization of Brassica campestris pollen allergen*. Int Arch Allergy Immunol 1995; 108(1): 43-8.
13. BUTCHER RD, GOODMAN BA, DEIGHTON N, SMITH WH. *Evaluation of the allergic/irritant potential of air pollutants: detection of proteins modified by volatile organic compounds from oilseed rape (Brassica napus ssp. oleifera) using electrospray ionization-mass spectrometry*. Clin Exp Allergy 1995; 25(10): 985-92.
14. SUH CH, PARK HS, NAHM DH, KIM HY. *Oilseed rape allergy presented as occupational asthma in the grain industry*. Clin Exp Allergy 1998; 28(9): 1159-63.
15. MORISSET M, MONERET-VAUTRIN DA, MAADI F, FREMONT S, GUENARD L, CROIZIER A, KANNY G. *Prospective study of mustard allergy: first study with double-blind placebo-controlled food challenge trials (24 cases)*. Allergy 2003; 58(4): 295-9.
16. CABALLERO T, SAN-MARTIN MS, PADIAL MA, CONTRERAS J, CABANAS R, BARRANCO P, LOPEZ-SERRANO MC. *Clinical characteristics of patients with mustard hypersensitivity*. Ann Allergy Asthma Immunol 2002; 89(2): 166-71.
17. MONREAL P, BOTEY J, PENA M, MARIN A, ESEVERRI JL. *Mustard allergy. Two anaphylactic reactions to ingestion of mustard sauce*. Ann Allergy 1992; 69(4): 317-20.
18. MALET A, VALERO A, LLUCH M, BESCOS M, AMAT P, SERRA E. *Hypersensitivity to mustard seed*. Allergy 1993; 48(1): 62-3.
19. BLAIS MS, MCCANTS ML, LEHRER SB. *Anaphylaxis to cabbage: detection of allergens*. Ann Allergy 1987; 58(4): 248-50.
20. MUNOZ-BELLIDO FJ, MOYANO-MAZA JC, ALVAREZ-GONZALO M, TERRON M. *Occupational contact dermatitis to turnip (Brassica napu)*. Allergy 2003; 58(11): 1198-9.
21. CHAKRABARTI A, PRAIS L, FOULDS IS. *Allergic contact dermatitis to broccoli*. Br J Dermatol 2003; 148(1): 172-3.
22. WETZIG T, KLEINE-TEBBE J, RYTTER M, HAUSTEIN UF. *Bullous contact dermatitis from nasturtium*. Contact Dermatitis 2000; 42(2): 110.
23. GALINDO PA, FEO F, GARCIA R, GOMEZ E, MELERO R, MARTIN ESTEBAN M, OJEDA JA. *Contact urticaria from stock, a cruciferae plant*. Allergy 1996; 51(5): 363-4.
24. EL SAYED F, MANZUR F, MARGUERY MC, BAYLE P, BAZEX J. *Urticarial manifestations due to Raphanus niger.* Contact Dermatitis 1995; 32(4):241.
25. MEDING B. *Immediate hypersensitivity to mustard and rape*. Contact Dermatitis 1985; 13(2): 121-2.
26. CALNAN CD. *Contact urticaria from cabbage (brassica)*. Contact Dermatitis 1981; 7(5): 279.
27. FOCKE M, HEMMER W, HAYEK B, GOTZ M, JARISCH R. *Identification of allergens in oilseed rape (Brassica napus) pollen*. Int Arch Allergy Immunol 1998; 117(2): 105-12.
28. GONZALEZ DE LA PENA MA, MONSALVE RI, BATANERO E, VILLALBA M, RODRIGUEZ R. *Expression in Escherichia coli of Sin a 1, the major allergen from mustard*. Eur J Biochem 1996; 237(3): 827-32.
29. GONZALEZ DE LA PENA MA, MENENDEZ-ARIAS L, MONSALVE RI, RODRIGUEZ R. *Isolation and characterization of a major allergen from oriental mustard seeds, Brajl*. Int Arch Allergy Appl Immunol 1991; 96(3): 263-70.
30. PALOMARES O, MONSALVE RI, RODRIGUEZ R, VILLALBA M. *Recombinant pronapin precursor produced in Pichia pastoris displays structural and immunologic equivalent properties to its mature product isolated from rapeseed*. Eur J Biochem 2002; 269(10): 2538-45.
31. MONSALVE RI, GONZALEZ DE LA PENA MA, LOPEZ-OTIN C, FIANDOR A, FERNANDEZ C, VILLALBA M, RODRIGUEZ R. *Detection, isolation and complete amino acid sequence of an aeroallergenic protein from rapeseed flour*. Clin Exp Allergy 1997; 27(7): 833-41.
32. SMITH PM, XU H, SWOBODA I, SINGH MB. *Identification of a Ca₂ binding protein as a new Bermuda grass pollen allergen Cyn d 7: IgE cross-reactivity with oilseed rape pollen allergen Bra r 1*. Int Arch Allergy Immunol 1997; 114(3): 265-71.
33. WELCH J, JONES MG, CULLINAN P, COATES OA, NEWMAN TAYLOR AJ. *Sensitization to oilseed rape is not due to cross-reactivity with grass pollen*. Clin Exp Allergy 2000; 30(3): 370-5.
34. ASERO R, MISTRELLO G, RONCAROLO D, AMATO S. *Allergenic similarities of 2S albumins*. Allergy 2002; 57(1): 62-3.

BIBLIOGRAFÍA MORÁCEAS

1. LECCIONES HIPERTEXTUALES DE BOTÁNICA: www.unex.es/botanica/LHB/amamelidae/moraceae.htm
2. BELMONTE J, ROURE JM, BOTEY J, CADAHIA A. *Aerobiología de Catalunya*. Red Española de Aerobiología (REA I) 1995: 87-102.
3. UNIVERSITAT DE LES ILLES BALEARS. Herbari virtual de les Illes Balears: <http://www.uib.es/depart/dba/botanica/herbari/families/MORACEAE/>
4. GARCÍA BREJO FJ. *Biología vegetal. Tema 20 (4d). Familia Crucíferas (Cruciferae)*. Unidad docente de la ETSMRE. Universidad Politécnica de Valencia: <http://www.euita.upv.es/varios/biologia/Temas%20Angiospermas/Hamamelidas/hamamelidas.htm>
5. GAIG P, BARTOLOMÉ B, ENRIQUE E, GARCIA-ORTEGA P, PALACIOS R. *Hipersensibilidad a Ficus benjamina*. Alergol Immunol Clin 1999; 14: 212-217.
6. HUERTAS AMORÓS AJ, MOZOTA BERNARD JM, GARCÍA-CERVANTES GARCÍA AM. *Prevalencia de sensibilización cutánea a polen de palmera y de morera en el sureste español*. Alergol Immunol Clin 2002; 17: 193-196.
7. NAVARRO AM, ORTA JC, SANCHEZ MC, DELGADO J, BARBER D, LOMBARDEO M. *Primary sensitization to Morus alba*. Allergy 1997; 52(11): 1144-5.
8. MUNOZ FJ, DELGADO J, PALMA JL, GIMENEZ MJ, MONTESEIRIN FJ, CONDE J. *Airborne contact urticaria due to mulberry (Morus alba) pollen*. Contact Dermatitis 1995; 32(1): 61.

9. BIRCHER AJ, LANGAUER S, LEVY F, WAHL R. *The allergen of Ficus benjamina in house dust*. Clin Exp Allergy 1995; 25(3): 228-33.
10. DÍEZ-GÓMEZ ML, QUIRCE S, ARAGONESES E, CUEVAS M. *Asthma caused by Ficus benjamina latex: evidence of cross-reactivity with fig fruit and papain*. Ann Allergy Asthma Immunol 1998; 80: 24-30.
11. CAIAFFA MF, CATALDO VM, TURSÍ A, MACCHIA L. *Fig and mulberry cross-allergy*. Ann Allergy Asthma Immunol 2003; 91(5): 493-5.
12. ANTICO A, ZOCCATELLI G, MARCOTULLI C, CURIONI A. *Oral allergy syndrome to fig*. Int Arch Allergy Immunol 2003; 131(2): 138-42.
13. BARTRA J, GAIG P, BARTOLOMÉ B, GARCÍA-ORTEGA P. *Alergia al higo (Ficus carica)*. Alergol Inmunol Clin 2000; 15: 15-19.
14. LECCIONES HIPERTEXTUALES DE BOTÁNICA: www.unex.es/botanica/LHB/amamelidae/moraceae.htm.
15. BELMONTE J, ROURE JM, BOTEY J, CADAHIA A. *Aerobiología de Catalunya*. Red Española de Aerobiología (REA I) 1995: 87-102.
16. Universitat de les Illes Balears: Herbari virtual de les Illes Balears: <http://www.uib.es/depart/dba/botanica/herbari/families/MORACEAE/>
17. GARCÍA BREJO FJ. Biología vegetal. Tema 20 (4d). Familia Crucíferas (Cruciferae). Unidad docente de la ETSMRE. Universidad Politécnica de Valencia: <http://www.euita.upv.es/varios/biologia/Temas%20Angiospermas/Hamamelidas/hamamelidas.htm>
18. GAIG P, BARTOLOMÉ B, ENRIQUE E, GARCÍA-ORTEGA P, PALACIOS R. *Hipersensibilidad a Ficus benjamina*. Alergol Inmunol Clin 1999; 14: 212-217.
19. HUERTAS AMORÓS AJ, MOZOTA BERNARD JM, GARCÍA-CERVANTES GARCÍA AM. *Prevalencia de sensibilización cutánea a polen de palmera y de morera en el sureste español*. Alergol Inmunol Clin 2002; 17: 193-196.
20. NAVARRO AM, ORTA JC, SANCHEZ MC, DELGADO J, BARBER D, LOMBARDEO M. *Primary sensitization to Morus alba*. Allergy 1997; 52(11): 1144-5.
21. MUNOZ FJ, DELGADO J, PALMA JL, GIMENEZ MJ, MONTESEIRIN FJ, CONDE J. *Airborne contact urticaria due to mulberry (Morus alba) pollen*. Contact Dermatitis 1995; 32(1): 61.
22. BIRCHER AJ, LANGAUER S, LEVY F, WAHL R. *The allergen of Ficus benjamina in house dust*. Clin Exp Allergy 1995; 25(3): 228-33.
23. DÍEZ-GÓMEZ ML, QUIRCE S, ARAGONESES E, CUEVAS M. *Asthma caused by Ficus benjamina latex: evidence of cross-reactivity with fig fruit and papain*. Ann Allergy Asthma Immunol 1998; 80: 24-30.
24. CAIAFFA MF, CATALDO VM, TURSÍ A, MACCHIA L. *Fig and mulberry cross-allergy*. Ann Allergy Asthma Immunol 2003; 91(5): 493-5.
25. ANTICO A, ZOCCATELLI G, MARCOTULLI C, CURIONI A. *Oral allergy syndrome to fig*. Int Arch Allergy Immunol 2003; 131(2): 138-42.
26. BARTRA J, GAIG P, BARTOLOMÉ B, GARCÍA-ORTEGA P. *Alergia al higo (Ficus carica)*. Alergol Inmunol Clin 2000; 15: 15-19.

BIBLIOGRAFÍA PALMÁCEAS

1. LECCIONES HIPERTEXTUALES DE BOTÁNICA: <http://www.unex.es/botanica/LHB/monocotiledoneas/arecacea.htm>.
2. BELMONTE J, ROURE JM, BOTEY J, CADAHIA A. *Aerobiología de Catalunya*. Red Española de Aerobiología (REA I) 1995: 87-102.
3. Universitat de les Illes Balears: Herbari virtual de les Illes Balears: <http://www.uib.es/depart/dba/botanica/herbari/families/PALMAE/>
4. TAYLOR RF, AL-JARAD N, JOHN LM, CONROY DM, BARNES MC. *Betel-nut chewing and asthma*. Lancet 1992; 339(8802):1134-6.
5. HUERTAS AMORÓS AJ, MOZOTA BERNARD JM, GARCÍA-CERVANTES GARCÍA AM. *Prevalencia de sensibilización cutánea a polen de palmera y de morera en el sureste español*. Alergol Inmunol Clin 2002; 17: 193-196.
6. J. FERNÁNDEZ. *Polinosis por palmáceas (familia Palmae juss)*. Alergol Inmunol Clin 2003; 18 (Extra. Num. 3): 61-85.
7. FERNÁNDEZ J, ASTURIAS JA, IBARROLA I, MARTÍNEZ A. *Implicación de la profilina en la sensibilización a polen de palmera (Phoenix dactylifera)*. Alergol Inmunol Clin 2000; 15 (supl 3): 53-54.
8. KWAASI AA, HARFI HA, PARHAR RS, AL-SEDAIRY ST, COLLISON KS, PANZANI RC, AL-MOHANNA FA. *Allergy to Date fruits: characterization of antigens and allergens of fruits of the Date Palm (Phoenix dactylifera L.)*. Allergy 1999; 54(12): 1270-1277.
9. KWAASI AA, HARFI HA, PARHAR RS, COLLISON KS, AL-SEDAIRY ST, AL-MOHANNA FA. *Cultivar-specific IgE-epitopes in Date (Phoenix dactylifera L.) fruit allergy*. Correlation of skin test reactivity and IgE-binding properties in selecting Date cultivars for allergen standardization. Int Arch Allergy Immunol 2000; 123(2): 137-144.
10. BLANCO C, CARRILLO T, QUIRALTE J, PASCUAL C, MARTÍN ESTEBAN M, CASTILLO R. *Occupational rhinoconjunctivitis and bronchial asthma due to Phoenix canariensis pollen allergy*. Allergy 1995; 50(3): 277-80.
11. GONZALO MA, MONEO I, VENTAS P, POLO F, GARCÍA JM. *Immediate hypersensitivity reaction to Date*. Allergy 1997; 52(5): 598-9.
12. KWAASI AA, PARHAR RS, TIPIRNENI P, HARFI H, AL-SEDAIRY ST. *Major allergens of date palm (Phoenix dactylifera L.) pollen. Identification of IgE-binding components by ELISA and immunoblot analysis*. Allergy 1993; 48(7): 511-8.
13. KWAASI AA, PARHAR RS, HARFI H, TIPIRNENI P, AL-SEDAIRY ST. *Characterization of antigens and allergens of date palm (Phoenix dactylifera) pollen*. Immunologic assessment of atopic patients by whole extract and its fractions [corrected]. Allergy 1992; 47(5): 535-44.
14. CHOWDHURY I, CHAKRABORTY P, GUPTA-BHATTACHARYA S, CHANDA S. *Allergenic relationship among four common and dominant airborne palm pollen grains from Eastern India*. Clin Exp Allergy 1998; 28(8): 977-83.
15. CHOWDHURY I, CHAKRABORTY P, GUPTA-BHATTACHARYA S, CHANDA S. *Antigenic relationship between four airborne palm pollen grains from Calcutta, India*. Ann Agric Environ Med 1999; 6(1): 53-6.
16. KWAASI AA, HARFI HA, PARHAR RS, SALEH S, COLLISON KS, PANZANI RC, AL-SEDAIRY ST, AL-MOHANNA FA. *Cross-reactivities between date palm (Phoenix dactylifera L.) polypeptides and foods implicated in the oral allergy syndrome*. Allergy 2002; 57(6): 508-18.

Polinosis y asma laboral

SUSANA RANEA ARROYO

Unidad de Alergia y Asma, Clínica Quirón. Barcelona

ANTONIO LUIS VALERO SANTIAGO

Unidad de Alergia ICPCT Hospital Clínic. Barcelona

Unidad de Alergia y Asma, Clínica Quirón. Barcelona

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha avanzado mucho sobre la fisiopatología del asma polínico. La prevalencia de patología por polinosis se ha duplicado en los últimos 20 años. De entre las miles de plantas existentes, sabemos que tan sólo unas pocas están involucradas en la producción de pólenes con capacidad alergénica reconocida (*poáceae*, *oleaceae*, *urticaceae*, *compositae*...). Estos pólenes más alergénicos han sido estudiados ampliamente y son considerados los responsables de prácticamente la totalidad de patología respiratoria atribuida a polinosis. Como consecuencia de algunos casos publicados recientemente de patología respiratoria por pólenes inusuales, en algunas ocasiones de origen laboral a los que no se les había atribuido importancia alergénica, algunos autores sugieren la necesidad de realizar estudios de prevalencia de sensibilización a estos pólenes, tanto en el medio laboral como fuera de él¹.

Así, los pólenes de girasoles, azafrán, nabo, papaya, berenjena y vid entre otros, han demostrado poder producir polinosis de tipo ocupacional y, a veces, también en habitantes próximos a zonas de cultivo. Asimismo, se están constatando múltiples casos de alergia laboral entre floristas, cultivadores de plantas ornamentales y jardineros, causada por diversas plantas con flores como es el caso de las rosas, narcisos y otras flores de valor ornamental.

Mención especial merece la asociación entre polinosis y alergia a un alimento vegetal inhalado que daría lugar a un síndrome polen (inhalante)/alimento vegetal (inhalante). Han sido publicados varios casos de asma ocupacional por inhalación de vegetales en el medio doméstico, la mayoría en amas de casa, siendo los agentes más importantes las hortalizas, y que en algunos casos se pueda deber a la existencia de “panalergenos” comunes entre pólenes y hortalizas.²

ASMA LABORAL

a) Definición y prevalencia

El asma ocupacional (AO) es una enfermedad que se caracteriza por la existencia de una limitación variable al flujo aéreo o una hiperreactividad bronquial debida a causas y condiciones atribuibles a un determinado medio laboral y no a estímulos que se encuentran fuera del trabajo. En ningún caso debemos confundirlo con el asma exacerbada en el trabajo, que se define como el asma ya preexistente que empeora en el lugar del trabajo por la exposición a concentraciones no tóxicas de agentes irritantes o estímulos físicos.³

El asma laboral es la enfermedad respiratoria más frecuente de origen laboral, existen numerosos estudios de prevalencia, pero es difícil hacer comparaciones ya que existen muchos factores que pueden modificar estos datos (tipo de agente, tiempo de exposición, mecanismo implicado, metodología de estudio empleada...). La magnitud del asma laboral varía en función de la ocupación, no acostumbrando a superar al 10% de los trabajadores expuestos. No obstante, la estimación del riesgo de asma en España atribuible a exposiciones laborales oscila entre el 3% y el 7%, siendo estos datos comparables a los de otros países industrializados.⁴

b) Clasificación del asma laboral

El asma laboral según el mecanismo etiopatogénico implicado puede clasificarse en dos grandes categorías.

- a) Mecanismo inmunológico: En el asma ocupacional provocada por sustancias que actúan por un mecanismo inmunitario, el grupo mejor estudiado es el de los alergenos con un peso molecular (pm) elevado, entre los que se encuentran las proteínas, las glucoproteínas y los péptidos de origen animal o vegetal con un pm entre 20 y 50 kD. Estas sustancias son capaces de comportarse como un antígeno y desencadenar una respuesta Ig E mediada. Sin embargo, casi todas las sustancias químicas implicadas en el (AO) son de bajo pm, y aunque algunas de ellas pueden combinarse con proteínas transportadoras, formando un complejo hapteno-proteína capaz de desencadenar una respuesta Ig E, la mayoría de ellas actuarán mediante un mecanismo inmunitario de respuesta tardía o tipo celular.
- b) Mecanismo irritativo o tóxico: el mecanismo responsable no se conoce bien. Sus agentes causales mayoritariamente son de origen químico, destacando entre ellos por su relevancia el cloro, amoníaco, dióxido de azufre, ácidos y humos.

c) Alergenos desencadenantes del asma laboral

Son numerosas las sustancias conocidas que pueden ocasionar una asma laboral, recordemos que si en 1993 se habían identificado unas 250 sustancias causantes de asma laboral, actualmente se admite que ya son más de trescientas veinte las sustancias implicadas y que su número va en aumento. Los alergenos implicados en la etiopatogenia del asma laboral pueden ser de origen químico, animal o vegetal. Un gran número de estos alergenos es de origen vegetal, procediendo de diferentes partes de las plantas como son: las maderas, los frutos, las hojas, las raíces, los granos, las semillas y los exudados de las plantas. Estos alergenos de origen vegetal se pueden clasificar según su estructura química en proteínas, enzimas y gomas.

d) Epidemiología del asma laboral asociada a polinosis

Hasta la fecha, son pocos los estudios epidemiológicos realizados que aporten datos sobre la prevalencia de patología ocupacional asociada a polinosis.^{1,5,8,9,10} Si además, pretendemos hacer referencia a pólenes inusuales, tenemos la dificultad añadida de que no existen datos epidemiológicos de sensibilización a estos pólenes en la población general. En los cultivadores de flores ornamentales y plantas se ha encontrado una prevalencia superior al 5%, siendo la probabilidad de padecer asma en esta población el doble si trabajaban en invernaderos^{6,7}, datos que corroboran los apuntados en estudios previos publicados al respecto^{8,9}.

Precisamente con la finalidad de determinar la prevalencia de sensibilización a pólenes de flores, Goldberg et al, realizaron, en 1998, un estudio poblacional sobre la incidencia de alergia al polen de plantas

ornamentales en 411 participantes los cuales fueron divididos en tres grupos, el primer grupo estaba formado por pacientes que provenían mayoritariamente de área urbana y que solicitaban a su hospital de referencia una valoración alergológica, el segundo grupo lo constituían trabajadores del cultivo de flores de tres pueblos circundantes y el tercer grupo lo formaban un grupo de estudiantes de primer curso de la facultad de biología¹¹. La incidencia de sensibilización por tests cutáneos a plantas ornamentales fue del 17% al 23% en la población general y del 52% entre los cultivadores de estas flores. Alrededor del 90% de estas sensibilizaciones correspondían a la familia de las *Asteraceae*. La prevalencia de las sensibilizaciones cutáneas en la población atópica en este estudio fue del 18%, similar a la obtenida por Kurume et al (19%) en Japón.¹⁰

Monsó y cols realizaron un estudio en horticultores que cultivaban flores y plantas ornamentales, en el que valoran los contaminantes ambientales, la prevalencia del asma y los alérgenos implicados. Encontraron una elevada prevalencia de sensibilización del 21%, y de asma en el 8%, siendo esta atribuida a la exposición a los alérgenos de las flores y los mohos presentes en el hábitat laboral. El riesgo de sensibilización estaba mas relacionado con la atopia, que con la intensidad de contaminación ambiental detectada¹¹.

En España, Feo Brito y cols, en 1997, realizaron un estudio epidemiológico entre trabajadores expuestos al polen de azafrán y la incidencia de pacientes que acuden a consulta por presentar síntomas respiratorios. El 6% (3 casos/50 trabajadores expuestos) de los trabajadores expuestos presentaban pruebas cutáneas e IgE específica positivas a polen de azafrán, resultando las pruebas de provocación bronquial en un caso y conjuntival en otros dos positivas.

Atis et al en el 2002, publicaron un estudio sobre 240 trabajadores de una fábrica de elaboración de aceite en Turquía. Estudiaron la sensibilización al polen de girasol y a diferentes aeroalérgenos (ácaros, mohos y pólenes de otras compuestas) así como el estudio de la función pulmonar y síntomas clínicos. Utilizaron dos grupos poblacionales, aquellos que trabajaban bajo una exposición directa y un grupo control que aun estando en la misma fábrica realizaban otras tareas que no los exponían de forma directa a éste polen. Concluyeron que la incidencia de síntomas respiratorios y de sensibilizaciones al polen de girasol en ambos grupos no era muy diferente, pero que la exposición al polen de girasol en trabajadores expuestos puede causar además de sensibilizaciones cutáneas, deterioro de la función pulmonar. Ellos atribuyeron este dato a que todos los sujetos vivían bajo la misma área de influencia de estos pólenes como ya habían sugerido otros autores.¹⁴ También sugieren que el polen de girasol tiene un elevado potencial sensibilizante, en especial cuando el contacto es próximo.

Groenewoud et al, en el 2002, realizaron un estudio de prevalencia de alergia ocupacional en trabajadores de invernaderos de crisantemos en Holanda, el 52 % de los trabajadores presentaban síntomas respiratorios mientras que sólo encontraron sensibilizaciones en el 20 % de los individuos. Esta discordancia la atribuyeron a la mala calidad de los extractos utilizados.¹⁵

En Güneykent, una región de la zona de los lagos de Turquía donde la mayoría de la población se dedica a la recogida de la rosa, se estudió la patología alérgica respiratoria entre los habitantes de la zona, encontrándose sensibilizaciones a *Rosa rugosa* en el 19% de los individuos estudiados, presentando asma un 6 % durante la estación de la rosa y un 17.6 % de manera perenne.¹⁶

PREVALENCIA DE ALERGENOS COMUNES ENTRE LA POBLACIÓN RURAL Y REACTIVIDAD CRUZADA

Los estudios de prevalencia de asma realizados en la población rural (agricultores y ganaderos) muestran datos que varían en un amplio rango. En un estudio europeo, encontraron que la prevalencia de asma en los trabajadores de la ganadería o agricultura podía llegar a duplicarse con respecto a una población de referencia formada por administrativos.¹⁷

En España se ha notificado una prevalencia de asma bronquial en la población rural española del 6%, siendo las principales actividades estudiadas la agricultura y la ganadería.⁵

Maria et al, en 1991, estudiaron la sensibilización a aeroalergenos comunes en un grupo de 742 agricultores, encontrando cifras de sensibilizaciones del 47.9% para ácaros, 22.4% para cereales, 12,7% para pólenes, 10.7% para epitelios y 7.8% para mohos.¹⁸

Golberg et al, en un estudio de prevalencia realizado en cultivadores de flores ornamentales, detectaron una prevalencia de sensibilización a aeroalergenos comunes del 63% mientras que en el grupo control era del 52%, con una prevalencia al polen de la familia de las *Asteraceae* que oscila entre el 19% y el 43%. Los autores sugieren que podría existir una sensibilización primaria al polen de compuestas salvajes que facilitaría posteriores sensibilizaciones al polen del resto de compuestas de valor ornamental o bien podría tratarse de reacciones cruzadas entre pólenes de la misma familia.¹¹

Groenewoud et al, estudiando la prevalencia de sensibilización a polen de crisantemo en trabajadores de invernaderos, encontraron una fuerte asociación con el polen de artemisia, que también fue sugerida por Jong et al¹⁷, encontrando sensibilizaciones entre los trabajadores estudiados del 19% a ácaros, 15% a gramíneas, 15% a artemisia, 10% a árboles y 15% a epitelio de perro.¹⁹

Vermeulen et al, estudiando la sensibilización al polen de pimientos en trabajadores de invernaderos encuentran una elevada asociación con la sensibilización a polen de gramíneas. Estudios de reactividad cruzada demostraron ausencia de reactividad cruzada entre ambos pólenes, sugiriendo que los bajos niveles de Ig E detectados en los pólenes de gramíneas, ambrosía y abedul podrían estar causados por una sensibilización primaria al polen de pimientos.²⁰

Como hemos podido ver anteriormente, son diversos los estudios que demuestran la existencia de una mayor prevalencia de sensibilización a neumoaergenos ubicuos en agricultores, ganaderos, cultivadores de plantas y trabajadores en invernaderos hayan o no sido estudiados de patología respiratoria laboral. Algunos autores sugieren que aquellos pacientes que han sido sensibilizados a un alergeno ocupacional tienen un mayor riesgo de sensibilización a aeroalergenos ubicuos. Perfetti et al, evaluaron el desarrollo de nuevas sensibilizaciones frente a alergenos ubicuos en 100 sujetos con asma laboral después de cesar la exposición al agente causal, realizando un seguimiento de 5,8+/-3,3 años. De los 100 sujetos evaluados, 49 de los cuales eran atópicos, 22 desarrollaron nuevas sensibilizaciones en un intervalo de 5,8 años, pero para poder evaluar la importancia de estos datos hubiese sido necesario disponer de un grupo control. Más interesante fue el hallazgo de 8 sensibilizaciones en 6 sujetos no atópicos que se sensibilizaron durante los dos años siguientes del cese de la exposición.²¹ Otros autores han querido estudiar cual es la sensibilización primaria y si la sensibilización a un alergeno en el medio laboral predispone a nuevas sensibilizaciones, pero lo único que se ha podido concluir es que suele existir un riesgo de presentar nuevas sensibilizaciones en aquellos pacientes afectados de patología laboral, no pudiendo precisar la cronología de las sensibilizaciones.²² Así pues, serán necesarios nuevos estudios para poder dilucidar cuáles son las causas que originan este fenómeno.

POLINOSIS Y ENFERMEDAD RESPIRATORIA ALÉRGICA LABORAL

Los casos descritos de sensibilización laboral a pólenes son escasos, si bien en los últimos años se están describiendo entre floristas, jardineros, horticultores y recolectores de frutas y flores, casos de alergia laboral a diversas especies de plantas con flores, algunas de ellas con valor ornamental (tabla 1).

Posiblemente estos nuevos pólenes, desde el punto de vista alergológico, hayan sido poco estudiados y su patología infradiagnosticada por tratarse de un grupo de pacientes que suelen estar sensibilizados a otros aeroalergenos de mayor relevancia. Recientemente se están describiendo nuevas alergias a pólenes inusuales tales como el polen de vid, flor de berenjena, papaya y azafrán entre otros, casi siempre relacionados con el medio ocupacional, pero como ha ocurrido con otros pólenes, en particular el de las compuestas, es posible que la sensibilización a estos pólenes en la población general sea mayor de lo esperado.

TABLA 1.

AGENTES ETIOLÓGICOS: POLEN Y ALERGIA LABORAL			
Polen	Clínica	Población	Ref. bibliografía
Azafrán	Rinoconjuntivitis / Asma	Agricultores / Procesadores	26 / 27
Ameo bastardo (<i>Ammi majus</i>)	Rinoconjuntivitis / Urticaria	Florista	36
Cactus de navidad (<i>Schlumbergera truncata</i>)	Rinoconjuntivitis	Jardineros	59
Campana de Irlanda (<i>Molucella laevis</i>)	Asma	Invernaderos	60
<i>Cannabis sativa</i>	Asma	Criminología	61
Cardo mariano (<i>Silybum marianum</i>)	Rinoconjuntivitis	Florista	52
Crisantemo	Rinoconjuntivitis / Asma Dermatitis contacto	Agricultores / Ganaderos Jardineros	44 / 45 / 46 47 / 48
Cyclamen	Rinoconjuntivitis / Asma	Cultivadores	65
Clavel (<i>Dianthus caryophyllus</i>)	Rinoconjuntivitis / Asma	Jardineros / Floristas	49 / 50
Freesia Hybride	Asma / Rinoconjuntivitis Eczema contacto	Jardineros	62
Gerbera (Frambuesa)	Rinoconjuntivitis / Asma	Invernaderos	64
Girasol (<i>Heliantus annuus</i>)	Rinoconjuntivitis / Asma	Agricultores Industria manufacturación	37 / 38 / 40 / 41
Gladiolo	Rinoconjuntivitis / Asma	Florista	49
Gramíneas	Rinoconjuntivitis / Asma	Agricultores Cortadores césped	23
Gisófila (<i>Gypsophila paniculata</i>)	Asma	Florista	66
Jaramago (<i>Diploaxis eruroides</i>)	Asma / Rinoconjuntivitis	Agricultores	34
Lirio (<i>Lilium longiflorum</i>)	Rinoconjuntivitis / Asma Urticaria contacto	Florista	56
<i>Limonium tataricum</i>	Rinoconjuntivitis / Asma	Florista	66
<i>Mercurialis</i>	Rinitis	Agricultores	24
Narciso (<i>Narcissus pseudonarcissus</i>)	Asma / Rinoconjuntivitis Urticaria contacto	Florista	51
Mimosa (<i>Acacia Fribunda</i>)	Asma / Rinoconjuntivitis	Floristas / horticultores	63
Palmera (<i>Phoenix canariensis</i>)	Asma / Rinoconjuntivitis	Jardinero	35
Remolacha azúcar	Rinoconjuntivitis / Urticaria	Manipulación semillas	28
Ricino (<i>Ricinus communis</i>)	Rinoconjuntivitis	Manipulación polvo semillas	25
<i>Rosa domescea</i>	Rinoconjuntivitis	Florista / Invernaderos	53
<i>Rosa rugosae</i>	Asma	Invernadero Industria farmacéutica	54
Solanáceas (tomate, berenjena, patatas, pimienta...)	Rinoconjuntivitis / Asma Urticaria	Jardineros	32 / 33
<i>Spathiphyllum floribundum</i>	Rinoconjuntivitis / Asma	Florista Industria botánica	57
Spathe flower (<i>Spathiphyllum wallisii</i>)	Rinoconjuntivitis / Asma Urticaria contacto	Cultivador	58
Tulipán	Asma / Rinoconjuntivitis Urticaria contacto	Floristas Invernaderos	55

Otras polinosis más frecuentes como son las del girasol, crisantemo, artemisia y gramíneas también han sido descritas como causa de enfermedad respiratoria alérgica de origen laboral.

Gautrin et al, en 1994, realizaron un estudio de sensibilización a pólenes y mohos en cortadores de césped, tomando como grupo control a trabajadores de un hospital. No existían diferencias significativas de sensibilización a *polen de gramíneas* entre el grupo de cortadores de césped (18%) y el grupo control (22%) aunque sí se observaban en la sensibilización a hongos, siendo mayor la sensibilidad a *Alternaria* en los cortadores de césped (12%). En ambos grupos la prevalencia de atopía era similar (32%). En este estudio, concluyeron que la atopía era un factor que predispone a la sensibilización de estos aeroalergenos mientras que la exposición continua a gramíneas es un factor determinante para el desarrollo de los síntomas.²³

García-Ortega et al, publicaron en 1993 un caso de rinitis alérgica ocupacional en un individuo no atópico después de una intensa exposición al polen de *Mercurialis annua*.²⁴

El polvo que genera la semilla de ricino (*ricinus communis*) es considerado un alergeno muy potente que sensibiliza a los trabajadores expuestos. En 1997, Singh et al demostraron que existía hiperreactividad cruzada y la presencia de epítomos comunes entre las semillas y el polen de esta planta. Posteriormente, se realizó un estudio aerobiológico en Málaga encontrándose un 7,7% de sensibilizaciones, algunos de ellos monosen-sibilizados.²⁵

Azafrán (*Crocus sativus*): Pertenece a la familia de las *Iridáceas*. El “desbrizado” o “monda” del azafrán genera un material pulvígeno, compuesto por restos de estambres y polen, que puede sensibilizar a los trabajadores expuestos (figuras 1 y 2).

FIGURA 1. *Crocus vernus*.



En España, Feo Brito y cols, en 1995, describieron un caso de un paciente polínico (gramíneas, *Plántago* y *Chenopodium*) que presentaba asma y rinoconjuntivitis en relación con la manipulación de azafrán, demostrando una hipersensibilidad IgE mediada mediante la realización de pruebas cutáneas y prueba de provocación bronquial positivas a este polen y negativas al extracto de pistilos. Estos mismos autores realizan un estudio epidemiológico entre trabajadores expuestos al polen de azafrán y pacientes que acuden a consulta por presentar síntomas respiratorios debido a alérgenos inhalantes prevalentes de la zona. El 6% (3 casos/50 trabajadores expuestos) de los trabajadores expuestos presentaban pruebas cutáneas e IgE específica positivas a polen de azafrán, resultando positivas las pruebas de provocación bronquial en un caso y conjuntival en otros dos. De los 237 casos de pacientes polínicos, en 10 las pruebas cutáneas y la IgE específica fueron positivas al polen de azafrán, siendo todos ellos sensibles a pólenes. El análisis inmunoquímico del polen de azafrán muestra la presencia de un alérgeno relevante de 15,5 kDa que se identifica como una profilina, hecho que podría explicar la sensibilización de los pacientes polínicos al polen de azafrán a pesar de no haber estado expuestos.²⁶⁻²⁷

Remolacha de azúcar: Aunque existen algunos casos aislados en la literatura que sugieren que el polen de la remolacha de azúcar es altamente alérgico, la hipersensibilidad a los componentes de la remolacha de azúcar no es una enfermedad frecuente. Hohenleutner et al, describieron el caso de una paciente de 29 años que desarrolló rinitis y dermatitis alérgica a éste polen durante la manipulación de las semillas de esta planta en su puesto de trabajo.²⁸

Solanáceas (berenjena, tomate, patatas, pimienta...): Se ha descrito que la exposición a flores de plantas de esta familia (*solanaceae*) como la pimienta, tomate, patata y berenjena, pueden desencadenar rinoconjuntivitis, asma y urticaria en jardineros mediante un mecanismo IgE mediado.^{29,30,31} Asimismo, se ha descrito la reactividad cruzada entre distintos miembros de esta familia, así como con el polen de artemisia.³²⁻³³

Jaramago (*Diplotaxis erucoides*): Perteneciente al género de las crucíferas, esta planta crece entre cultivos de vid y olivos, polinizando entre marzo y abril cuando se realizan numerosas labores en la agricultura el polen de esta planta debe ser considerado como un alérgeno laboral. Feo Brito et al, presentaron a dos agricultores, uno con rinoconjuntivitis y el otro con rinoconjuntivitis y asma bronquial cuyos síntomas aparecían realizando actividades agrícolas durante el período de polinización de *D. erucoides*. La provocación bronquial específica fue positiva en un paciente mientras que las provocaciones conjuntivales a un extracto de *D. erucoides* fueron positivas en ambos pacientes.³⁴

Phoenix canariensis: Palmera canaria perteneciente a la familia *Arecaceae*, ampliamente distribuida en regiones templadas, así como utilizada como elemento ornamental. Blanco et al, describieron en 1995 el caso de un cuadro de asma y rinoconjuntivitis ocupacional causado por esta planta en un trabajador mientras podaba sus hojas secas durante los meses de polinización. Tanto el test cutáneo como el RAST fueron positivos, indicando mecanismo de hipersensibilidad Ig E mediado.³⁵

Amo bastardo (*Ammi majus*): Planta familia de las *Umbelliferae* y conocida por su capacidad de inducir fitofotodermatitis tóxica. El jugo de esta planta contiene psoralenos conocidos por sus utilidades terapéuticas. Kiistala et al describieron, en 1999, el caso de una joven florista de 31 años que desarrollaba rinoconjuntivitis y urticaria de contacto con la exposición a esta planta, siendo el test cutáneo, la determinación de la IgE específica y la provocación nasal positivos al polen de esta planta.³⁶

Girasol (*Helianthus annuus*): Perteneciente a la familia botánica de las compuestas (*Asteraceae*) entre las que se encuentran la artemisia, la ambrosía y el solidago (figura 3). Mientras que la artemisia y ambrosía han sido ampliamente estudiadas como importantes agentes etiológicos de polinosis, son aún escasos los estudios realizados con el polen de girasol a pesar de haber sido reconocido como una causa de alergia ocupacional en personas que manipulan esta planta.

La planta del girasol, hasta el siglo XVI, en España únicamente tenía valor ornamental, pero pronto empezó a tener un gran interés económico en la industria alimentaria, existiendo actualmente extensas plantaciones en el sur de la Península. Las semillas de girasol son una importante fuente de producción de margarinas y aceites vegetales, en su forma seca tiene utilidad como alimento de personas y también de pájaros. Son muy



FIGURA 3. Girasol.

pocos los estudios publicados que traten sobre la sensibilización al polen de girasol^{37,38,39,40,41}. Bousquet et al, en 1985, describieron un caso de alergia laboral en un varón de 24 años que desarrolló rinoconjuntivitis y asma tras 5 años de exposición a éste polen, sufriendo también una reacción alérgica alimentaria tras la ingesta de miel.³⁷ Jiménez et al, en 1994, describieron también 5 casos de asma ocupacional y también estudiaron la sensibilización al polen de girasol en los habitantes de las zonas cercanas a los campos de cultivo, sugiriendo que la sensibilización por este polen no sólo se tendría que considerar como una patología de carácter laboral.³⁸

En 1998, Vandenplas et al describieron un asma laboral en un panadero por la exposición al polvo de la semilla de girasol.³⁹ También se han descrito casos de anafilaxia por la ingesta de semillas de girasol, por miel o por jalea real debidos a la contaminación de estos alimentos por granos de polen.^{40,41} Atis et al, en el 2002 estudiaron la sensibilización al polen de girasol y a diferentes aeroalergenos (ácaros, mohos y pólenes de otras compuestas) en una fábrica de aceite en Turquía. Concluyeron que la exposición al polen de girasol en trabajadores expuestos puede causar además de sensibilizaciones cutáneas, deterioro de la función pulmonar. Ellos atribuyeron este dato a que todos los sujetos vivían bajo la misma área de influencia de estos pólenes como ya habían sugerido otros autores.³⁸ Son pocos los estudios de reactividad cruzada realizados con el polen de girasol y el polen de otras compuestas. Bousquet et al no encontraron reactividad cruzada con el polen de otras compuestas ni con las semillas de girasol.³⁷ Fernandez et al sugirieron un cierto grado de reactividad cruzada con artemisia.⁴² Asturias et al clonaron el alérgeno Hel a 2 (profilina) del polen de girasol y demostraron cierta reactividad cruzada con diferentes especies filogenéticas como gramíneas, olivo y *M. annua*.⁴³

Chrysanthemum: (*Crisantemo*): Es un género de la familia de las compuestas (*Asteraceas*) originario de Japón, que a diferencia de la mayoría de las compuestas presenta una polinización entomófila habiéndose descrito en el pasado pocos casos de polinosis ocupacional por este género.^{44,45,46} No obstante, tras analizar los últimos estudios publicados en invernaderos y cultivadores de flores deberíamos reconsiderar la capacidad sensibilizante de este polen⁴⁷⁻⁴⁸. Goldberg et al refieren en un estudio poblacional que la sensibilización a plantas ornamentales, principalmente familia de las *Asteraceae*, es bastante frecuente entre los trabajadores expuestos así como en la población general y sugieren la necesidad de estandarizar los extractos de estos pólenes para ser utilizados de manera rutinaria en el diagnóstico.¹¹ Los crisantemos contienen lactonas sesquiterpenos de igual forma que las flores de otras plantas de la misma familia. Piirila et al sugirieron que los mismos antígenos existen en todas las partes de la planta, y por lo tanto las lactonas sesquiterpenos podrían también ser el origen de alergia respiratoria.

FIGURA 4. Cardo mariano.



Groenewoud et al estudiaron la prevalencia de sensibilización a polen de crisantemo en trabajadores de invernaderos, encontrando una prevalencia de sensibilización del 20% entre los trabajadores expuestos, dato ligeramente inferior a la encontrada por Golberg (52%), sugiriendo que esta diferencia de resultados puede deberse a que en dicho estudio se testaron también seis flores de la familia de las compuestas, entre las que se encontraba un polen muy alergénico como es el *Solidago*.

Dianthus caryophyllus (clavel): Es una planta angiosperma dicotiledónica que pertenece a la familia de las *Caryophyllacea* junto con la *Gypsophila paniculata* y la *Saponaria officinalis*. Sánchez Guerrero et al, publicaron 15 casos de alergia ocupacional respiratoria por exposición al clavel en un grupo de trabajadores dedicados al cultivo de esta planta.⁴⁹

Cisteró y cols describieron el caso de un trabajador que cultivaba flores decorativas y refería asma cuando se encontraba en la zona de cultivo de las flores. El estudio alergológico demostró una alergia a los claveles, con pruebas cutáneas, determinación de IgE específica y prueba de provocación bronquial positivas.⁵⁰

De Barrio et al presentaron un paciente de 64 años que, desde hacía 18, trabajaba en una floristería y desde los últimos 2,5 años presentaba episodios inmediatos de rinitis y asma bronquial tras la manipulación de gladiolos y claveles. Se realizaron pruebas de provocación bronquial específicas con extractos de gladiolo y clavel siendo ambas positivas.

Narcissus pseudonarcissus (Narciso): Se ha descrito como causa de asma, rinitis, conjuntivitis y urticaria de contacto. Ocupacional.⁵¹

Silybum marianum (Cardo mariano): Ha sido descrito como causa de rinoconjuntivitis laboral (figura 4).⁵²

Rosa domescena: Unlu et al, tras el hallazgo de un paciente que presentaba rinitis alérgica por exposición a *rosa domescena* demostrado mediante tests cutáneos y tests de provocación nasal específicas, recluta-



FIGURA 5. *Spathiphyllum wallisii* (Espatifilo)

ron a 600 empleados de la recogida de la rosa de mayo a julio del año 2000. De los 600 empleados, 20 padecían rinitis y/o conjuntivitis tras la exposición al polen de rosa. Once (78,5%) presentaron tests cutáneos positivos a *rosa domescea* y en catorce se detectaron niveles elevados de Ig E específica. Estos autores concluyen que la posibilidad a una alergia laboral al polen de rosa debe ser considerada en los trabajadores expuestos.⁵³

Rosa rugosa: Demir A. et al describieron a diferencia de la anterior varios casos de asma ocupacional por esta especie.⁵⁴

Tulip (Tulipán): Ha sido descrita como causa de asma, rinitis, urticaria de contacto y eczema de origen laboral.

Lilium longiflorum (Lirio): Ha sido descrita como causa de asma, rinitis y urticaria de contacto laboral.⁵⁵

Spathiphyllum floribundum, es una especie de la familia de las *Araceae*. Se conocen treinta y seis especies de *Spathiphyllum*. Son nativas de Suramérica. Las plantas tienen unas hojas largas de color verde oscuro y son características las grandes flores blancas de tallo largo. Cahen et al describieron un caso de rinoconjuntivitis perenne en una mujer que tenía esta planta en su domicilio. Previamente se había descrito un caso de sensibilización a *S. wallisii* en un trabajador de la industria botánica.⁵⁶

Spathiphyllum wallisii (Espatifilo): En 1995 se describió un caso de alergia ocupacional en cultivador de plantas de 22 años, demostrándose una reacción Ig E mediada con rinitis, laringitis, faringitis y urticaria tanto sistémica como de contacto causada por la exposición a esta planta (figura 5). Los tests cutáneos y el RAST fueron positivos para exudados de la flor, al polen, al tallo y a las hojas. La provocación bronquial específica realizada 8 meses tras el abandono del trabajo reprodujo un cuadro de rinoconjuntivitis, faringitis y laringitis sin demostrar alteración de la función pulmonar ni caída de los valores del PEF.⁵⁷

G. paniculata, es un miembro de las *Caryophyllaceae*. Las gypsófilas son plantas perennes de porte alto que se encuentran en suelos rocosos y arenosos. Las pequeñas flores están agrupadas y suelen ser blancas o rosas. Se utilizan como flores secas en centros florales.

Twiggs et al describieron un paciente que desarrolló asma diario cuando empezó a trabajar con plantas secas en su tienda de regalos. Cuando el paciente dejó de trabajar con gipsófila los síntomas desaparecieron. Dado que esta planta se desmenuza fácilmente al trabajar con ella se sugirió como tal la vía de sensibilización.

L. tataricum, miembro de la familia *Plumbagináceas*, se encuentra con frecuencia en ramos de flores secas. Su nombre común es estatice o lavanda marina. El género *Limonium* es nativo de la región mediterránea y Asia. Las especies de este género se encuentran en salobres y a lo largo de las costas por su capacidad para resistir altas concentraciones de sales. *L. tataricum* es una planta anual que puede medir hasta treinta cm. de altura. Al igual que *G. paniculata* el *Limonium* se desmenuza fácilmente pudiéndose encontrar fácilmente restos en suspensión y por lo tanto ser inhalado.

Quirce et al publicaron un caso de un trabajador de la industria floral en el cual la exposición a *L. tataricum* desencadenaba rinoconjuntivitis, asma y urticaria de contacto. Estos autores sugirieron que gente con afición a la floristería o trabajadores de la industria floral pueden tener suficiente exposición a *L. tataricum* como para provocar sensibilización alérgica. No se conoce si personas que poseen ramos secos de *L. tataricum* están expuestos a concentraciones de antígenos suficiente para inducir alergia respiratoria.⁵⁸

Cactus de Navidad (Schlumbergera truncata): En 1997, Paulsen et al estudiaron 5 trabajadores de una plantación de cactus que referían urticaria y afectación de la mucosa respiratoria. Todos ellos presentaron tests cutáneos positivos al polen de esta planta y en tres de ellos se detectaron niveles elevados de Ig E específica demostrado por la técnica RAST e inmunoblotting.⁵⁹



FIGURA 6. *Acacia floribunda* (Mimosa)

Campanas de Irlanda (*Molucella laevis*): Miesen et al publicaron recientemente el caso de un trabajador de 60 años que presentaba tos, sibilancias y opresión torácica desde junio hasta octubre, en el invernadero donde realizaba sus tareas. La sintomatología coincidía con el período de polinización de *Molucella laevis* y se desarrollaron durante el primer año de trabajar con ella. La obstrucción bronquial se documentó por una caída en el FEV₁ del 89% al 73% durante el período de exposición a esta planta. El test cutáneo al extracto de este polen fue positivo a 10 mg/ml y la Ig E sérica (18 IU/ml; clase 4). Los tests cutáneos a alérgenos ubicuos fueron negativos. El test de provocación bronquial específico tuvo una respuesta dual en el paciente con caídas respectivas del PEF del 40% y 53% respectivamente.⁶⁰

Cannabis (*Cannabis sativa*): Se ha descrito el caso de una paciente no atópica de 26 años que trabajando con técnicas de criminología desarrolló rinoconjuntivitis y urticaria generalizada. El rubbing test a este polen fue muy positivo.⁶¹

Freesia Hybride (*Freesia*): Ha sido descrita como causa laboral de asma, rinitis y eczema de contacto.⁶²

Acacia floribunda (*Mimosa*): Ha sido descrito como polen causante de patología laboral en algunas áreas de la costa mediterránea de Italia y Francia (figura 6). La incidencia de sensibilización en la población atópica es del 1,2% mientras que en horticultores y floristas asciende al 31%. Se considera un polen potencialmente alérgico y se han descrito algunos casos de asma y rinoconjuntivitis por este polen.⁶³

Gerbera (*Frambuesa*): Ha sido descrita como causa laboral de rinitis, conjuntivitis y asma.⁶⁴

Cyclamen: El género *cyclamen* pertenece a la familia de las *Primuláceas*. Recientemente, el polen de esta planta ha sido descrito como causante de asma y rinoconjuntivitis laboral en una madre e hija de una familia de cultivadores de estas flores. El test cutáneo al extracto del polen fue positivo en ambas pacientes y negativos en el marido y el grupo control. Los niveles de Ig E específicos fueron de 0,4 kU/l y 4,8 kU/l respectivamente.⁶⁵

CONCLUSIONES

Son cada vez más numerosos los casos publicados de patología laboral asociada a polinosis. Hasta la fecha, resultaba difícil pensar que algunos pólenes, dadas sus características moleculares y su diseminación entomófila pudiesen tener la capacidad de causar patología alérgica. Resulta muy interesante ver como estos pólenes a los cuales no se les había atribuido una capacidad alérgica, dependiendo del nivel y tiempo de exposición, así como de las características presentes en el medio son capaces de sensibilizar a determinados individuos. Estos hallazgos tienen una gran relevancia, primero por el cambio conceptual que representa sobre la fisiopatología de la patología por polinosis y segundo porque nos proporciona un mayor número de alérgenos, hasta la fecha desconocidos, sobre los cuales poder investigar.

BIBLIOGRAFÍA

1. GOLDBERG A, CONFINO-COHEN R, WASEL Y. Allergic responses to pollen of ornamental plants: high incidence in the general atopic population and especially among flower growers. J Allergy Clin Immunol 1998; 102: 210-214.
2. DE LA HOZ B. Asma bronquial y alergia a alimentos. Allergol Immunol Clin 2001; 16: 186-194.
3. QUIRCE S, SASTRE J. Definición y clasificación de asma ocupacional. En: Patología alérgica ocupacional. Satre J, Quirce S., eds. Emisa, 2003; pp: 17-21.
4. KOGEVINAS M, ANTO JM, SORIANO JB, TOBIAS A, BURNEY P. The risk of asthma attributable to occupational exposures. Am J Respir Crit Care Med 1996; 154: 137-43.
5. SUBIRATS A, VILA L, VILA T, MORELL F, VALLESCAR R, MARGALEF N. Prevalencia de enfermedades respiratorias en un apoblación rural del norte de Cataluña: La Cerdanya. Med Clin (Barce) 1994; 103: 481-484.
6. MONSÓ E, MAGAROLAS R, RADON K, DANUSER B, IVERSEN M, WEBER C ET AL. Respiratory symptoms of obstructive lung disease in European crops farmers. Am J Respir Crit Care Med 2000; 162: 1246-1250.
7. MONSÓ E. Asma bronquial en el campo. Arch Bronconeumol 2002; 38: 157-159.

8. ZUSKIN E, SCHACHTER EN, MUSTAJBEGOVIC J. *Respiratory function in greenhouse workers*. Int Arch Occup Environ Health 1993; 64: 521-526.
9. PIRILA P, KESKINEN H, LEINO T, TUPASELA O, TUPPURAINEN M. *Occupational asthma caused by decorative flowers: review and case reports*. Int Arch Occup Environ Health 1994; 66: 131-136.
10. KUROUME T, TODOKORO M, TOMIDOKORO H, KANBE Y, MATSUMURA T. *Chrysanthemum pollinosis in Japan*. Int Arch Allergy Appl Immunol 1975; 48: 800-11.
11. MONSÓ E, MAGAROLAS R, BADORREY I, RADON K, NOWAK D, MORERA J. *Occupational asthma in greenhouse flower and ornamental plant growers*. Am J Respir Crit Care Med 2002; 165: 954-960.
14. JIMENEZ A, MORENO C, MARTÍNEZ J, MARTÍNEZ A, BARTOLOMÉ B, GUERRA F, PALACIOS R. *Sensitization to sunflower pollen: only an occupational allergy?* Int Arch Allergy Immunology 1994; 105: 297-307.
15. GROENEWOUD GCM, DE JONG NW, BURDORF A, DE GROOT H, GERTH VAN WYK R. *Prevalence of occupational allergy to Chrysanthemum pollen in greenhouses in the Netherlands*. Allergy 2002; 57: 835-840.
16. DEMIR A, GÜL KARAKAYA, KALYONCU A. *Allergy symptoms and Ig E immune response to rose: an occupational and environmental disease*. Allergy 2002; 57: 936-939.
17. KOGEVINAS M, ANTÓ JM, SUNYER J, TOBIAS A, KROMHOUT H, BURNEY P AND THE EUROPEAN COMMUNITY RESPIRATORY HEALTH SURVEY STUDY GROUP. *Occupational asthma in Europe and other industrialised areas: a population-based study*. Lancet 1999; 353: 1750-1754.
18. MARIA Y, MONERET-VAUTRIN DA, PHAM QT, TECULESCU D, BOUCHY O, CHAU N ET AL. *Skin sensitivity to respiratory allergens in agricultural workers and wage-earners*. Rev Mal Respir.1991; 8: 463-71.
19. GROENEWOUD GCM, DE JONG NW, BURDORF A, DE GROOT H, GERTH VAN WYK R. *Prevalence of occupational allergy to Chrysanthemum pollen in greenhouses in the Netherlands*. Allergy 2002; 57: 835-840.
20. VERMEULEN AM, GROENEWOUD GCM, DE JONG NW, DE GROOT H, GERTH VAN WIJK R, VAN TOORENENBERGEN W. *Primary sensitization to sweet bell pepper pollen in greenhouse workers with occupational allergy*. Clin Exp Allergy 2003; 33: 1439-1442.
21. PERFETTI L, HÉBERT J, LAPALME Y, GHEZZO H, GAUTRIN D, MALO J-L. *Changes in Ig E-mediated allergy to ubiquitous inhalants after removal from or diminution of exposure to the agent causing occupational asthma*. Clin Exp Allergy 1998 ; 28: 66-73.
22. NGUYEN BICH, MD, HEBERTO GHEZZO, MALO J-LGAUTRIN D. *Time course of onset of sensitization to common and occupational inhalants in apprentices*. J.Allergy Clin Immunol 2003; 111: 807-812.
23. GAUTRI D, VANDENPLAS O, DE WITTE JD, L'ARCHEVEQUE J, LEBLANC C, TRUDEAU C, PAULIN C, ARNOUD D ET AL. *Allergenic exposure, Ig E-mediated sensitization, and related symptoms in lawn cutters*. J Allergy Clin Immunol.1994; 93: 437-45.
24. GARCIA-ORTEGA P, MARTÍNEZ A, MARTÍNEZ J. *Sensitization to a weed pollen in a non-atopic subject during a clinical study. A case report*. Clin Exp Allergy 1993; 23: 276-8.
25. GARCÍA GONZÁLEZ JJ, BARTOLOMÉ ZAVALA B, DEL MAR M, BARCELO JM, FERNÁNDEZ MELENDEZ S, NEGRO MA ET AL. *Pollinosis to Ricinus communis (castor bean): an aerobiological, clinical and immunochemical study*. Clin Exp Allergy 1999; 29: 1265-1275.
26. FEO BRITO F. *Asma ocupacional por azafrán*. En. Sesiones Interhospitalarias de la Sociedad Madrid-Castilla La Mancha de Alergología e Inmunología Clínica 1993-1994. Luzán 5. Madrid 1995: 313-317.
27. FEO F, MARTÍNEZ J, MARTÍNEZ A, GALINDO PA, CRUZ A. GARCÍA R ET AL. *Occupational allergy in saffron workers*. Allergy 1997; 52: 633-641.
28. HOHENLEUTNER S, PFAU A, HOENLEUTNER U, LANDTHALER M. *Sugar beet pollen allergy as a rare occupational disease*. Hautarzt, 1996; Jun: 462-4.
29. VAN WIJK RG, TOORENENBERGEN AW, DIEGES PH. *Occupational pollinosis in commercial gardeners*. Ned Tijdschr Geneesk 1989; 133: 2081-2083.
30. SASTRE J, OLMO M, NOVALVOS A, IBAÑEZ D, LAHOZ C. *Occupational asthma due to different spices*. Allergy 1996; 51: 117-120.
31. GIL M, HOGENDIJK S, HAUSER C. *Allergy to eggplant flower pollen*. Allergy 2002; 57: 652.
32. ORTEGA N, QUIRALTE J, BLANCO C, CASTILLO R, ALVAREZ MJ, CARRILLO T. *Tobacco allergy: demonstration of cross-reactivity with other members of Solanaceae family and mugwort pollen*. Ann Allergy Asthma Immunol 1999; 82: 194-197.
33. VAN TOORENENBERGEN AW, WAANDERS J, GERTH. *Immunoblot analysis of Ig E-binding antigens in paprika and tomato pollen*. Int Arch Allergy Immunol 2000; 122: 246-250.
34. FEO BRITO F, MUR P, BARTOLOMÉ B, GALINDO P, GÓMEZ E, BORJA J, MARTÍNEZ A. *Rhinoconjunctivitis and occupational asthma caused by Diplotaxis erucoides (wall rocket)*. J. Allergy Clin. Immunol 2001; 108: 125-127.
35. BLANCO C, CARRILLO T, QUIRALTE J, PASCUAL C, MARTÍN ESTEBAN M, CASTILLO R. *Occupational rhinoconjunctivitis and bronchial asthma due to Phoenix canariensis pollen allergy*. Allergy 1995 Mar; 50: 277-80.
36. KIISTALA R, MÄKINEN-KILJUNEN S, HEIKKINEN K, RINNE J, HAAHTELA T. *Occupational allergic rhinitis and contact urticaria caused by bishop's weed (Ammi majus)*. Allergy 54; 1999: 635-639.
37. BOUSQUET J, DHIVERT H, CLAUZEL AM, HEWITT B, MICHEL FB. *Occupational allergy to sunflower pollen*. J. Allergy Clin Immunol 1985; 75: 70-74.
38. JIMENEZ A, MORENO C, MARTÍNEZ J, MARTÍNEZ A, BARTOLOMÉ B, GUERRA F, PALACIOS R. *Sensitization to sunflower pollen: only an occupational allergy?* Int Arch Allergy Immunology 1994; 105: 297-307.
39. VANDENPLAS O, VANDER BORGH T, DELWICHE JP. *Occupational asthma caused by sunflower-seed dust*. Allergy 1998; 53: 907-908.
40. ZAPATA C, POLA J, SUBIZA J. *Allergic symptoms after ingestion of honey containing composite pollen*. Rev Esp Alergol Immunol Clin 1987; 2: 189.
41. FERNÁNDEZ RODRÍGUEZ C, PASCUAL MARCOS C, MARTÍN ESTEBAN M, LÓPEZ SQUILLARY C, OJEDA CASAS JA. *La miel como alérgeno*. Rev Esp Alergol Immunol Clin 1987; 1: 34-7.
42. FERNÁNDEZ C, MARTÍN-ESTEBAN M, FIANDOR A, PASCUAL C, LÓPEZ SERRANO C, MARTÍNEZ ALZAMORA F ET AL. *Analysis of cross-reactivity between sunflower pollen and other pollens of the Compositae family*. J Allergy Clin Immunol 1993; 92: 660-67.
43. ASTURIAS JA, ARILLA MC, GÓMEZ-BAYÓN N, AGUIRRE M, MARTÍNEZ A, PALACIOS R ET AL. *Cloning and immunological characterization of the allergen Hel a 2 (profilin) from sunflower pollen*. Molecular Immunology 1998; 35: 469-478.
44. BLAMOUTIER P. *Un cas de sensibilisation au chrysanthème (feuilles et fleurs) asthme et dermite du visage*. Sem Hop Paris 1956; 32: 2865.
45. Schubert H, Prater E, Diener C. *Pollinosis bei Chrysanthemenzüchtern*. Z Gesamte Hyg 1990; 36: 162-163.

46. SUZUKY S, KUROUME, TOMODORO M, TOMIDOKORO H, KANBE Y, MATSUMURA. *Chrysanthemum pollinosis in Japan*. Int Arch Allergy Appl Immunol 1975; 48: 800-811.
47. DE JONG NW, VERMEULEN AM, GERTH VAN WIJK R, DE GROOT H. *Occupational allergy caused by flowers*. Allergy 1998; 53: 204-209.
48. GROENEWOUD GCM, DE JONG NW, BURDORF A, DE GROOT H, GERTH VAN WYK R. *Prevalence of occupational allergy to Chrysanthemum pollen in greenhouses in the Netherlands*. Allergy 2002; 57: 835-840.
49. SANCHEZ-GUERRERO I, ESCUDERO A, BARTOLOMÉ B, PALACIOS R. *Occupational allergy caused by carnation (Dianthus caryophyllus)*. J Allergy Clin Immunol 1999; 104: 181-185.
50. CISTERÓ A, ENRIQUE E, ALONSO R, SAN MIGUEL M. *Simultaneous occupational allergy to a carnation and its parasite in a greenhouse worker*. J Allergy Clin Immunol 2000; 106: 780.
51. CONCALO S, FREITAS JD, SOUSA I. *Contact dermatitis and respiratory symptoms from Narcissus pseudonarcissus*. Contact Dermatitis 1987; 16: 115-16.
52. FEO BRITO F, MARTÍNEZ J, GÓMEZ E, GARCÍA R, GALINDO PA, MARTÍNEZ A, GUERRA F. *Rinoconjuntivitis y asma ocupacional por polen de azafrán*. Rev Esp Alergol Inmuno Clin 1997; 12: 51-56.
53. UNLU M, SAHIN U, YARIKTAS M, DEMIRCI M, AKKAYA A, ORTURK M, ORMAN A. *Allergic rhinitis in Rosa domescena cultivators: a novel type of occupational allergy?* Asian Pac J Allergy Immunol. 2001; 19: 231-5.
54. DEMIR A, GÜL KARAKAYA, KALYONCU A. *Allergy symptoms and Ig E immune response to rose: an occupational and environmental disease*. Allergy 2002; 57: 936-939.
55. LAHTI A. *Contact urticaria and respiratory symptoms from tulip and lilies*. Contact Dermatitis 1986; 14: 317-319.
56. TOORENBERGEN VAN AW, DIEGES PH. *Occupational allergy in horticulture: demonstration of immediate-type allergic reactivity of freesia and paprika plants*. Int Arch Allergy Appl Immunol 1984; 75: 44-47.
57. KANERVA L, MAKINEN-KILJUNEN S, KIISTALA R, GRANLUND H. *Occupational allergy caused by Spathe flower (spathiphyllum wallisii)*. Allergy 1995; 50: 174-8.
58. QUIRCE S, GARCIA-FIGUEROA B, OLAGUIBEL JM, MURO MD, TABAR AI. *Occupational asthma from dried flowers of limonium tataricum*. Allergy 1993; 48: 285-89.
59. PAULSEN E, SKOV PS, BINDSLEV-JENSEN C, VOITENKO V, POULSEN LK. *Occupational type I allergy to Christmas cactus (Schlumbergera)*. Allergy 1997; 52: 656-60.
60. MIESEN AJ, VAN DER HEIDE S, KERSTJENS HAM, DUBOIS AEJ, DE MONCHY JGR. *Occupational asthma due to Ig E mediated allergy to the flower Molucella laevis (Bells of Ireland)*. Occup Environ Med 2003; 60: 701-703.
61. LINDEMAYR H, JAGER S. *Occupational immediate type allergy to hemp pollen and hashish (author's transl)*. Derm Beruf Umwelt. 1980; 28: 17-9.
62. TOORENBERGEN VAN AW, DIEGES PH. *Occupational allergy in horticulture: demonstration of immediate-type allergic reactivity of freesia and paprika plants*. Int Arch Allergy Appl Immunol 1984; 75: 44-47.
63. ARIANO R, PANZANI RC, AMEDO J. *Pollen allergy to mimosa (Acacia floribunda) in a Mediterranean area: an occupational disease*. Ann Allergy 1991; 66: 253-6.
64. WERFF VAN DER PJ. *Occupational diseases among workers in the bulb industries*. Acta Allergol 1959; XIV: 338-355.
65. Bolhaar S.T., van Ginkel C.J. *Occupational allergy to cyclamen*. Allergy 2000; 55: 418-419.

Pólenes en Internet.

Utilidad clínica de www.polenes.com

JAVIER SUBIZA GARRIDO-LESTACHE

Coordinador del Comité de Aerobiología de la SEAIC. Centro de Asma y Alergia Subiza

INTRODUCCIÓN

El PC propiamente dicho, es decir, el “ordenador personal” (personal computer) aparece en el mercado en 1981 y apenas 2 años después nace Internet (ARPANET se separa de la red militar que la originó). No obstante, tienen que pasar más de 14 años para que la RED llegue a España y es a partir de ese momento cuando el Comité de Aerobiología de la SEAIC enseguida comprende el potencial de INTERNET para la difusión de los recuentos polínicos creando su primera página WEB (www.polenes.com) en 1995.¹

Esta web que se adelantó incluso en algunos años a la aparición de la propia web de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (www.seaic.com), sociedad científica a la que pertenece el Comité de Aerobiología, resulta ser pionera en su diseño y contenido, presentando los recuentos de más de 20 colectores repartidos por toda España.

Los recuentos se actualizaban con una frecuencia semanal durante todo el año a excepción de mayo y junio en que se actualizaban diariamente.

Los recuentos eran enviados por los responsables de cada colector a Madrid mediante correo electrónico utilizando una hoja de cálculo Excel que habían sido diseñadas expresamente para ello. En ella, en la 1ª fila aparecían 43 tipos polínicos, y en la 1ª columna todos los días del año (figuras 1-2). Debido a lentitud de la RED, en aquellos años estos ficheros debían comprimirse en formato zip antes de enviarlos por correo electrónico.

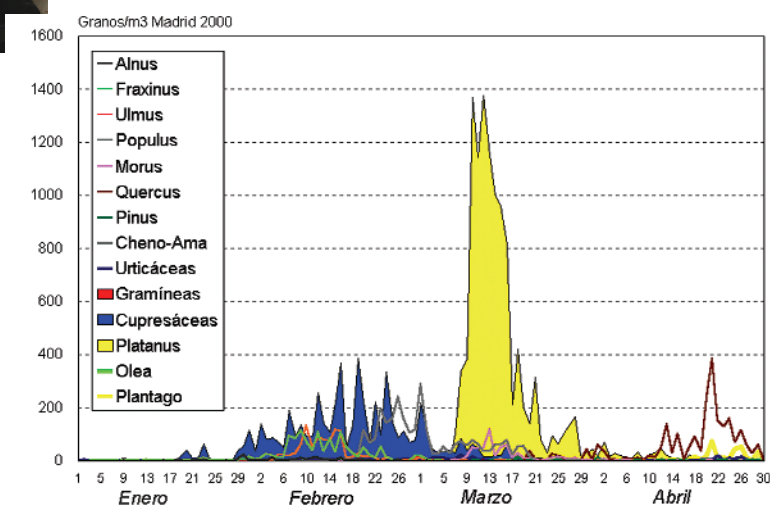
	A	B	AF	AG	AH	AI	AJ	AK	AL	AM
1	Madrid									
2	2004		Olea	Palmacea	Pinus	Plantago	Platanus	Peaceae	Populus	Quercus
131	8 May.		0	0	1	6	1	6	0	20
132	9 May.		0	0	1	3	0	6	0	27
133	10 May.		0	0	1	2	0	2	0	5
134	11 May.		0	0	1	0	2	1	0	3
135	12 May.		0	0	3	2	1	2	0	8
136	13 May.		0	0	7	3	1	4	1	10
137	14 May.		0	0	7	4	1	4	1	26
138	15 May.		0	0	2	7	1	4	0	26
139	16 May.		0	0	6	13	1	7	0	47
140	17 May.		2	0	8	13	3	10	2	46
141	18 May.		1	0	5	16	2	13	2	55
142	19 May.		0	0	8	8	1	10	0	47
143	20 May.		6	0	2	11	2	20	0	45
144	21 May.		31	0	6	6	0	15	0	30
145	22 May.		1	0	6	3	0	7	0	35
146	23 May.		1	0	3	9	0	14	0	10

FIGURA 1. Hoja de cálculo de Microsoft Excel utilizada por el comité para introducir los recuentos. La introducción de los mismo se puede hacer de forma manual (con el teclado) o bien de forma automática (reconocimiento de voz) mediante el uso del programa realizado por el comité llamado Dictapolen.



FIGURA 2. Los pólenes que se van reconociendo en el porta se van dictando por el micrófono de cabeza. El dictapólen se encarga de multiplicarlos por un factor de corrección para transformarlos en granos/m³ (media de 24 horas) y enviarlos automáticamente a la hoja Excel y de ahí a la base de datos del comité mediante Internet. Esto permite agilizar y automatizar las actualizaciones diarias de los recuentos. (foto: Belén Bolea, técnico de aerobiología de nuestro centro).

FIGURA 3. Gráfico usados en la WEB del comité desde 1995-2002. Permitían ver bien los recuentos altos (*Cupresáceas*, *Fraxinus*, *Ulmus*, *Populus*, *Platanus*, *Morus* y *Quercus*, pero por el contrario no permitía visualizar recuentos bajos en ese período (por ejemplo gramíneas).



Para generar los gráficos utilizábamos entonces un programa poco usado por los informáticos pero sí por los médicos, el "Harvard Presentation Graphics". Con él podíamos generar atractivos gráficos de líneas y áreas que nos permitían exponer los pólenes más importantes en cada estación del año (figura 3). No obstante, para poder subirlos al servidor, era necesario primero pasarlos a un formato GIF. Para ello utilizamos un programa muy sencillo pero extremadamente útil llamado Snagit 3.1 que en realidad no es más que una utilidad para capturar pantallas del PC. Como esto significaba tener que realizar más de 2.000 GIF al año, se diseñó un programa que, a partir de los gráficos de Harvard graphics y usando el Snagit, generaba automáticamente los gráficos en formato GIF.

NUEVA WEB DEL COMITÉ DE AEROBIOLOGÍA

El procedimiento para generar la web, aunque muy útil en los primeros años, presentaba algunos inconvenientes, tales como un cierto retraso en la elaboración de los gráficos (al ser un proceso sólo semiautomático) y la dificultad para ver los tipos polínicos cuando los recuentos de varios de ellos eran muy similares (unas líneas tapaban a las otras).

Por ello, en 2002, se desarrolló un nuevo sistema para generar los gráficos polínicos. Básicamente se trata de una base de datos a la cual cada miembro del Comité puede acceder mediante INTERNET y desde ahí mediante un programa específico se importan automáticamente los datos desde la hoja Excel presente en su PC al servidor del Comité. Esto permite que cada miembro pueda actualizar sus datos diariamente y a cualquier hora del día, pudiendo visualizar en tiempo real los recuentos “*se acabaron por fin los retrasos en la actualización de los recuentos*”.

Como con el nuevo procedimiento los gráficos no están hechos, sino que por el contrario se generan automáticamente a partir de los datos presentes en la base de datos, esto permite una amplia variedad de posibilidades para el visitante de www.polenes.com

1. Permite personalizar el gráfico de líneas que quiere generar, pudiendo escoger entre ver:
 - a. DE 1 A 21 TIPOS POLÍNICOS EN UNA SOLA PANTALLA
 - i. El poder seleccionar el “polen a ver” permite que tipos polínicos con recuentos habitualmente altos, como pueden ser las cupresáceas,² *Platanus*,³ *Olea*⁴ o gramíneas⁵ no enmascaren otros recuentos que aunque no tan altos no son alergológicamente menos importantes, como pueden ser la quenopodiáceas-amarantáceas o las urticáceas. El paciente, además, puede seleccionar sólo el polen al que está clínicamente sensibilizado y evitar la confusión que pueda producirle la “niebla” de todos los demás pólenes presentes en ese momento en el aire.
 - b. DE 2 DÍAS A 26 AÑOS EN UNA SOLA PANTALLA
 - i. El poder seleccionar el período de tiempo, nos permite poder *explicar la aparición de nuevas sensibilizaciones*. Por ejemplo, si nos fijamos en la evolución del *Platanus* y/o cupresáceas en Madrid, podremos observar que estos recuentos eran bastante bajos desde 1978 hasta mediados de los 80, sin embargo, estos se han ido multiplicando en los años siguientes por tres, representando en la actualidad junto con las gramíneas y *Quercus* los tipos polínicos más abundantes en la atmósfera de esta ciudad. Este dramático incremento de los recuentos de *Platanus* y cupresáceas, puede explicar por qué estos pólenes que apenas producían polinosis en 1980, por el contrario sean en la actualidad una de las principales causa de rinitis y/o asma polínico en Madrid.^{6,7} (figura 4)
 - ii. Este tipo de gráfico también nos sirve *para entender las grandes variaciones de un año a otro en la gravedad de la polinosis*. Por ejemplo, si nos fijamos en los recuentos de gramíneas de 1995 y los comparamos con los hubo tan sólo el año siguiente en el mismo período de la mayoría de los colectores del interior de España (3-4 veces más), podremos entender mejor la grandes varia-

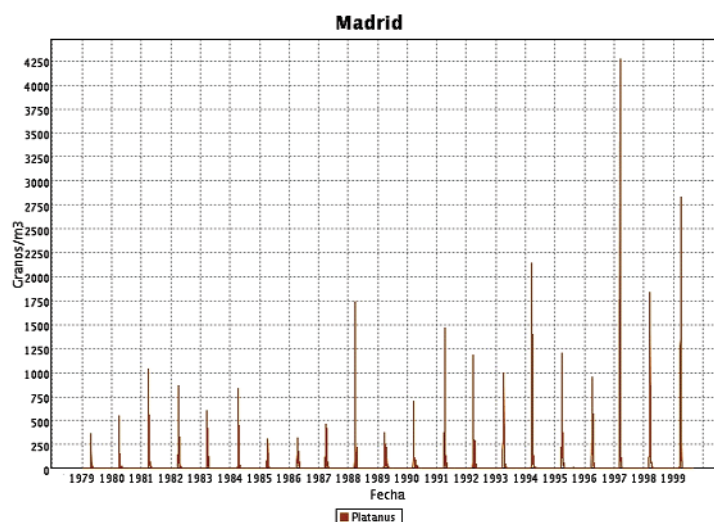


FIGURA 4. En www.polenes.com, podemos observar la evolución de los recuentos de *Platanus* a los largo de los años en Madrid. Obsérvese el importante incremento en la 2ª mitad.

ciones interanuales en la clínica de polinosis que se producen en la España seca.⁸ Utilizando como parámetro de rinitis epidémica las ventas de antihistamínicos que se producen en la mayoría de las farmacias de Madrid, hemos podido encontrar mediante regresiones lineales una correlación muy significativa de las ventas totales mensuales (expresadas en unidades) con los recuentos mensuales de pólenes de gramíneas durante varios años seguidos, lo que sugiere que sólo este tipo de polen produce en Madrid más alergia que todos los demás pólenes juntos.⁹ De igual forma ha podido encontrarse en esta ciudad una significativa asociación entre las asistencias en urgencias por asma del Hospital Gregorio Marañón y los recuentos de pólenes de gramíneas, encontrándose claras semanas epidémicas de asma durante los meses de mayo y junio, pero no de todos los años, sino sólo de aquellos en que los recuentos de gramíneas fueron altos.¹⁰ Esto sugiere que los pólenes de gramíneas representan el factor inductor de asma epidémico más importante en Madrid.

Tomando en conjunto todos estos datos, debemos ser conscientes que cuando en la web visualizamos los recuentos de gramíneas, no sólo estamos viendo “pólenes”, sino un buen indicador de rinitis y asma epidémico.

- iii. Una utilidad evidente de los gráficos de líneas es para que el *paciente conozca cuándo debe de iniciar y finalizar su tratamiento profiláctico*. Ciertamente se evitarían muchas miles de asistencias por asma en urgencias si los pacientes en lugar de “acordarse de Santa Bárbara sólo cuando truena” tomaran por el contrario su medicación profiláctica de forma regular durante todo el período de polinización de aquel o aquellos pólenes a los que están clínicamente sensibilizados. Este período puede ser tan corto como tan sólo de 30 días (*Platanus*) a tan largo como más de 6 meses en el caso de pacientes polisensibilizados (ejem. cupresáceas y gramíneas) o sensibilizados a pólenes con polinizaciones muy largas (ejem. *Parietaria*).
- iv. *La planificación de viajes tanto de ocio como de trabajo es otra de las utilidades que tiene la web*. Por ejemplo, un paciente que sufre de asma moderado por gramíneas en Zaragoza durante los meses de mayo y junio no debería viajar a Extremadura durante ese período. Un paciente que

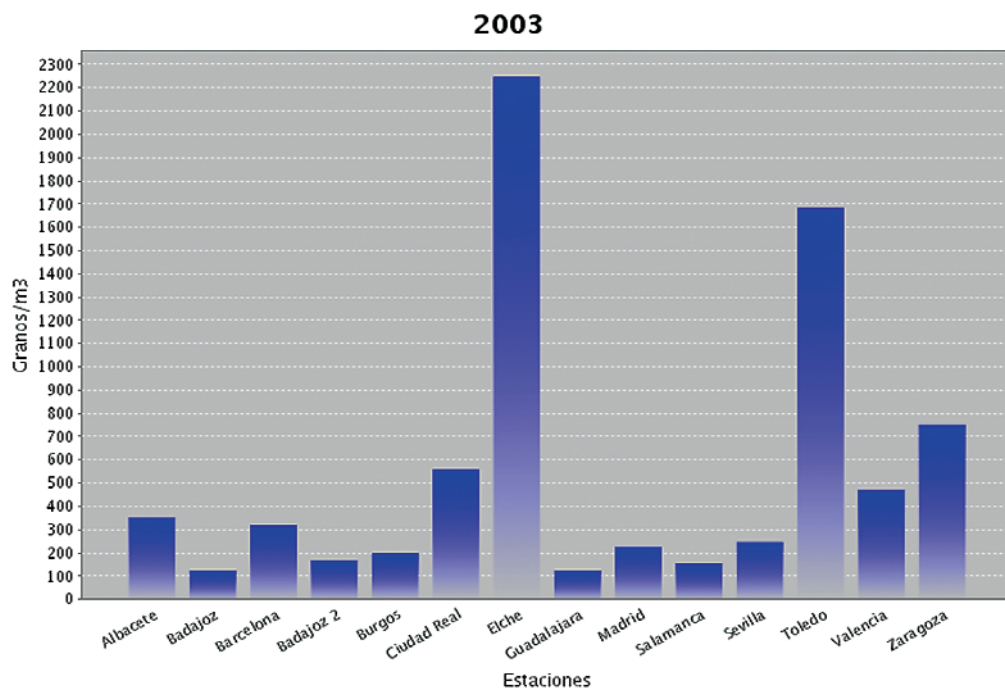


FIGURA 5. En gráficas globales de www.polenes.com podemos observar las concentraciones totales anuales de quenopodiáceas-amarantáceas en el 2003. Éstas resultan ser la principal causa de polinosis en Elche, estación que suele dar los recuentos más altos de este tipo de pólenes.

sufre en La Coruña durante el mes de abril asma moderado por el polen del abedul, no debería viajar a la península escandinava durante los meses de mayo-junio. Los ejemplos pueden ser interminables pues cada paciente tiene que personalizar su planificación. Por ejemplo, si nos ponemos en el caso de un paciente con asma por *Chenopodium* que reside en el medio urbano de Ciudad Real, lo primero que tendría que hacer sería dirigirse al apartado “gráficas globales de concentraciones de pólenes” y escoger algún año previo, inmediatamente en la pantalla se le visualizará un gráfico de barras donde se expresan las recuentos acumulados de quenopodiáceas y/o amarantáceas de todo el año de cada una de los colectores que forman la RED (figura 5). Tal como puede verse en la figura, si en Ciudad Real lo “pasa mal” es muy probable que en Elche lo “pase peor”. Si no obstante no tiene más remedio que acudir a Elche, el segundo paso debería ser el dirigirse a ver el período de polinización (apartado gráficas de concentraciones de pólenes) ya que en Elche el período de “probable polinosis” es decir días con concentraciones reactivas de quenopodiáceas es más prolongado que en Ciudad Real^{11,12,13} (figura 6).

- v. *Los estudios sobre eficacia de vacunas y fármacos para combatir la polinosis con frecuencia se expresan en gráficos de líneas en donde se representan los recuentos de pólenes y los recuentos de síntomas (recogidos en cartillas de síntomas diarios). En la figura 7 podemos ver un ejemplo de 2 grupos de pacientes con rinitis estacional por gramíneas que fueron tratados o no con lavados nasosinuales durante la estación. Obsérvese como el grupo tratado presentó significativamente menos síntomas durante 2 de las 3 semanas de Junio estudiadas.*¹⁴

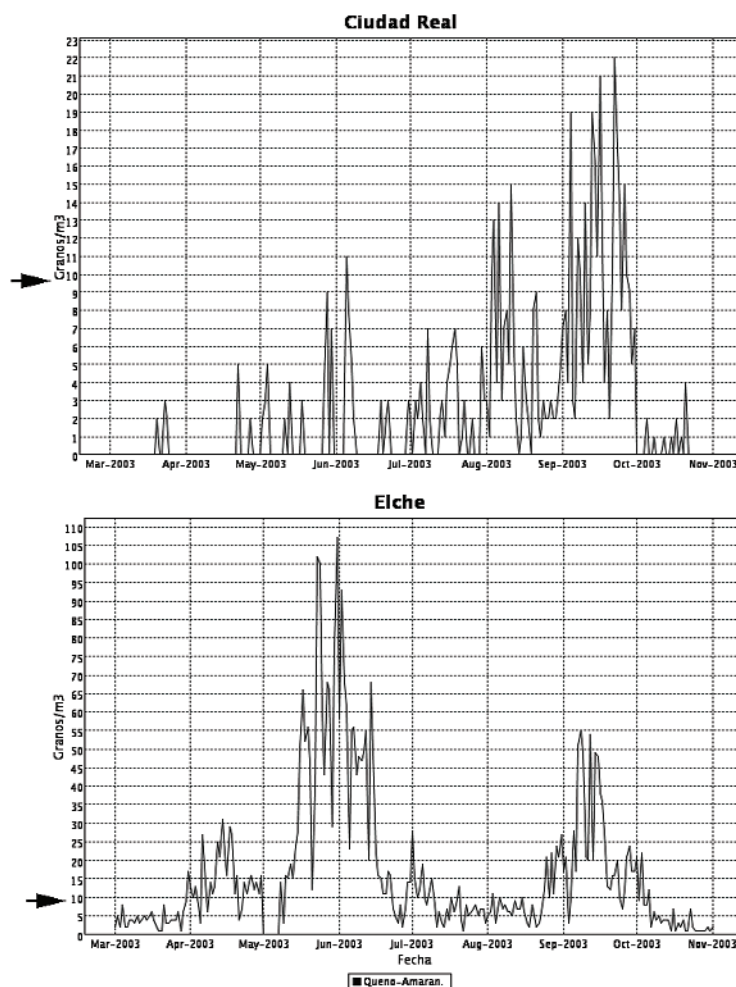


FIGURA 6. En www.polenes.com si observamos los recuentos del 2003, podemos ver como las concentraciones de quenopodiáceas amarantáceas > 10 granos/ m^3 de aire que obtuvo el Dr. F. Feo-Brito en el medio urbano de Ciudad Real sólo se obtuvieron de agosto-octubre y que contrastan con las obtenidas por el Dr. J. Fernández en Elche que se prolongaron durante 4 meses más (abril a octubre).

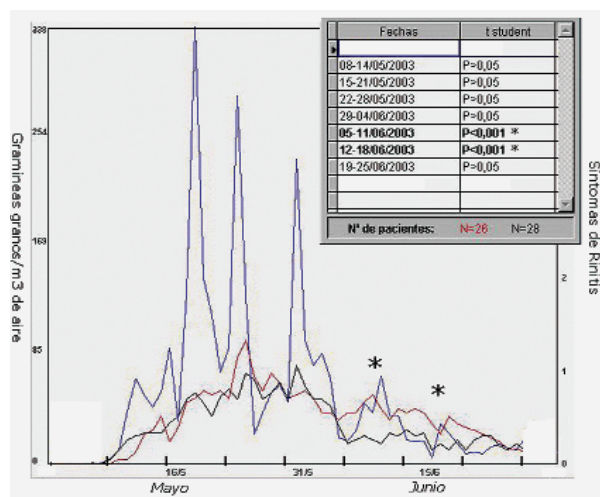


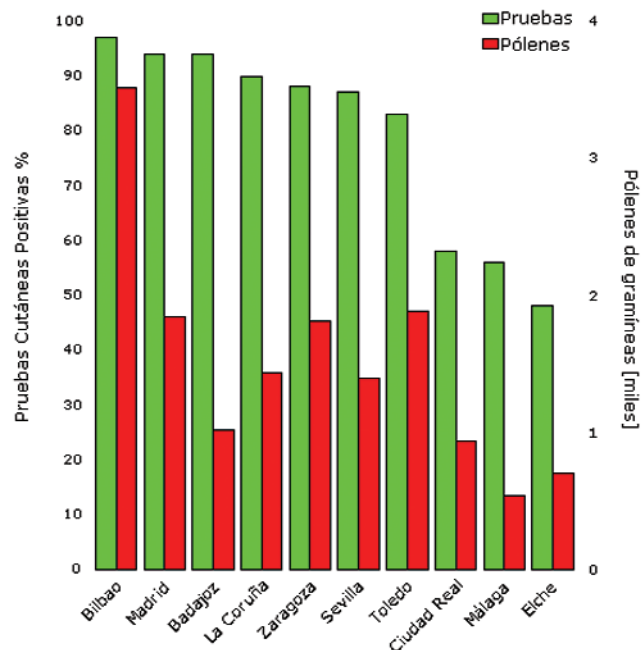
FIGURA 7. Mediante estudios de regresión lineal se observa que la media de los síntomas diarios de rinoconjuntivitis de 2 grupos de pacientes con polinosis por gramíneas se correlacionaron significativamente con los recuentos de pólenes de gramíneas de Madrid ($p < 0.05$) [línea azul]. El grupo tratado con lavados nasosinuales (rhinodouche®) [línea negra] presentó significativamente menos síntomas (t-student $p < 0.05$) en 2 de las 3 semanas de Junio que el grupo que no recibió este tipo de lavados [línea roja].

vi. *Diferenciar sensibilizaciones clínicas de subclínicas.* Recientes estudios realizados por el Comité de Aerobiología objetivaron que los pacientes de la “España seca” (a diferencia de la España verde) presentan mayoritariamente pruebas cutáneas positivas además de un tipo de polen. Esto plantea un problema para la inmunoterapia, ya que el uso de vacunas con múltiples alérgenos ha demostrado ser ineficaz¹⁵ y el uso de vacunas con un solo tipo de polen requiere determinar el polen dominante [contribuidor mayor de los síntomas]. Una buena aproximación es mediante la correlación de los síntomas de alergia (rinoconjuntivitis y/o asma recogidos diariamente por el propio paciente en cartillas específicas y su correlación con los recuentos diarios de pólenes. En este sentido hemos podido desarrollar un programa llamado AlerCon® que asociado al PrickScan® [programa que mide por planimetría las pruebas cutáneas] resultan ser en muchos casos una herramienta eficaz para seleccionar de forma rápida y económica el polen dominante en pacientes polisensibilizados que vayan a recibir inmunoterapia.^{16,17,18}

c. UN AÑO ACUMULADO DE CADA TIPO POLÍNICO

i. Éstos, tal como hemos indicado anteriormente, los podemos ver en el apartado “gráficas globales de concentraciones de pólenes”, y lo que representan es la suma de las concentraciones medias diarias de un determinado tipo polínico y durante un año. Su utilidad va mucho más allá de la sola planificación de viajes. Por ejemplo, es extremadamente útil para poder *explicar la prevalencia de sensibilización a un determinado tipo de polen entre los pacientes con polinosis de diferentes áreas de España*. En la figura 8 pueden verse los datos de un estudio multicéntrico realizado por el Comité de Aerobiología, en 1995. Las columnas verdes reflejan la prevalencia de pruebas cutáneas positivas a pólenes de gramíneas entre los pacientes con polinosis de 10 ciudades de España. La prevalencia más alta fue en Bilbao, con un 97% de positividades y la más baja Elche, con sólo un 48%. En naranja vienen representados los recuentos de pólenes de gramíneas expresado como la suma de las medias diarias de todo el año, los que llamamos gramíneas totales. Pues bien, pueden observar que las gramíneas totales más altas fueron las de Bilbao, con 3.517 granos/m³ de aire y, por el contrario, las más bajas fueron las de Málaga y Elche con sólo 707 granos. Mediante estudios de regresión lineal podemos ver que la correlación entre estas dos variables es con un coeficiente de correlación de Pearson de 0,68 [$P < 0,05$], es decir, una correlación claramente significativa. Parece por tanto que a pesar de las múltiples reactividades cruzadas entre gramíneas con otros pólenes y alimentos de origen vegetal, sigue siendo la exposición ambiental el factor más determinante para producir la mayor o menor prevalencia de sensibilización a gramíneas en un área geográfica determinada.

FIGURA 8. Estos son datos de un estudio multicéntrico realizado por el Comité de Aerobiología en 1995. Las barras verdes representan la prevalencia de pruebas cutáneas positivas a pólenes de gramíneas entre los pacientes con polinosis de 10 ciudades de España. Las rojas representan los recuentos de pólenes de gramíneas expresado como la suma de las medias diarias de todo el año. Mediante estudios de regresión lineal podemos ver que la correlación entre estas dos variables fue significativa ($r=0,68$ $p<0,05$)⁸



Recuentos del día:	13/05/03	14/05/03	15/05/03	16/05/03	17/05/03	18/05/03	19/05/03	20/05/03	21/05/03	22/05/03	23/05/03
	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes
Albacete	35	32					42		53	0	
Badajoz	244	428			0	685	630	833	778	1019	
Barcelona					4	15					
Bilbao	2	2	29		26	64	13	3	23	83	37
Burgos	4	2	12	0	25	27	10	4	8	36	121
Ciudad Real	149	232	185		601	910	549	109	57	48	
A Coruña											
Jaén	372	334	402		1085	421	324	712	502		
Madrid	43	55	89		131	338	143	114	70	89	284
Salamanca	25	25	65			65	55	60		65	
San Sebastián	1	2	33		141	91	6	4	35	66	18
Santander	5	25			119	18	0	4	62	61	
Sevilla	292	317			443	853	556	275	65	175	
Toledo	77	110			1320	943	530	114	52	395	
Valladolid		14	3				63	26	10	7	86
Vitoria	7	11	64		51	59	5	5	76	68	39
Zaragoza	16	25	13	4	17	42	35	16	33	39	40

Comité de Aerobiología de la SEAIC Casillas en blanco interpretar como recuentos no disponibles.

FIGURA 9. En esta imagen de [www. polenes.com](http://www.polenes.com) [menú datos numéricos], podemos de un vistazo observar la intensidad de la polinización de las gramíneas en España en mayo del 2003. Las flechas rojas indican los “días pico” que resultaron ser cifras históricas.

d. DATOS NUMÉRICOS

- En el menú “datos numéricos” se puede apreciar los recuentos de 21 tipos polínicos en cifras. Primero se debe escoger el tipo polínico problema (por ejemplo gramíneas) y a continuación elegir el período de tiempo a visualizar (por ejemplo mayo-junio 2003). Su utilidad, tal como se puede ver en la figura 9, es que de un solo vistazo podemos ver cual es en ese momento la *intensidad de polinización en España*, en este caso de las gramíneas.
- Una cuestión primordial, es si los recuentos deben facilitarse en números absolutos, o en términos cualitativos (bajo, medio o alto). En este sentido, Frankland y Davies¹⁹ pudieron comprobar que cuando las concentraciones medias diarias que obtenían en Londres con su spore-trap, eran >50 gramíneas/m³, casi todos los pacientes clínicamente sensibles a las gramíneas, y residentes en ese área, presentaban síntomas, considerando a esta cifra como alta (no como umbral, ya que muchos pacientes experimentaban síntomas con <20). Posteriormente

autores daneses²⁰ han llegado a clasificar las concentraciones de gramíneas, expresadas en granos/m³ (media diaria), como bajas las <10, moderadas las comprendidas entre 10-50, y altas >50. A nuestro modo de ver, estas clasificaciones pueden resultar demasiado arbitrarias, ya que debido al rango tan amplio en la gravedad de la polinosis (desde casi imperceptible a ingresos hospitalarios por asma) hace que lo que puede ser un recuento bajo para unos, por el contrario puede ser muy alto para otros. Además, debido al efecto “priming” lo que puede ser bajo al inicio de la estación, puede resultar alto pocas semanas después. Parece, por tanto, más prudente proporcionar los recuentos en números absolutos y no exclusivamente en términos cualitativos, para que así cada paciente pueda *aprender a reconocer cuál es su cifra umbral de reactivación*. Ésta, puede orientarle para saber que cifras son las realmente altas para él y de esa forma personalizar su “período” de vigilancia y tratamiento.

- iii. *Predecir recuentos de gramíneas*. Las gramíneas representan con mucho la causa más importante de polinosis en la España de clima continental. Los resultados aerobiológicos, botánicos y clínicos obtenidos hasta la fecha, parecen indicar que, al menos en Madrid, son las gramíneas estepáricas productoras de polen pequeño (*Trisetum paniceum*) los agentes más importantes productores de polinosis, y no las pratenses (húmedas) o las cultivadas. Este tipo de gramíneas estepáricas y de polen pequeño, parecen estar directamente influenciadas por la humedad del suelo preestacional, siendo por tanto muy susceptibles a las amplias variaciones anuales en la pluviosidad de otoño-invierno, lo que a su vez condiciona amplias variaciones de año en año en la cantidad de gramíneas atmosféricas estacionales. Mediante una combinación adecuada a través de fórmulas de regresión multilíneal de los datos numéricos de recuentos de gramíneas con los de pluviosidad y humedad preestacional, así como de los avances de cosecha de cereales, se puede obtener en el mes de marzo una estimación razonablemente aproximada de las gramíneas atmosféricas totales estacionales, que se obtendrán durante los meses de mayo-junio. Estas predicciones son de utilidad para que pacientes, médicos y laboratorios farmacéuticos puedan prepararse mejor en función de la intensidad de la estación que se estime.²¹

AGRADECIMIENTOS

A todos los miembros que forman el Comité de Aerobiología y la RED de colectores de la SEAIC, porque sin su altruista esfuerzo esta web no existiría.

A los informáticos JM Mellado (Yellow) y C. Sánchez (Abildua) por su gran profesionalidad. Así como a las diferentes juntas directivas de la SEAIC por su apoyo desde el inicio de la WEB.

BIBLIOGRAFÍA

1. MARTÍNEZ CÓCERA C, VILLALÓN GARCÍA AL. *Pasado, presente y futuro de los recuentos de pólenes de la SEAIC*. Alergol Inmunol Clin 2003; 18 (extraordinario Núm 3): 1-4.
2. MORAL A. *Aerobiología y polinosis por Cupresáceas en España*. Alergol Inmunol Clin 2003; 18 (extraordinario núm.3): 25- 35.
3. VARELA S, SUBIZA J, SUBIZA JL, RODRÍGUEZ R, GARCIA B, JEREZ M, ET AL. *Platanus pollen as an important cause of pollinosis*. J Allergy Clin Immunol 1997; 100: 748- 754.
4. FEO BRITO, F. *Aerobiología y polinosis por oleáceas*. Rev. Esp. Alergol Inmunol Clín. 2003; 18(extraordinario Núm.3): 19-23.
5. SUBIZA E, SUBIZA J, JEREZ M. *Aerobiología de las gramíneas en los climas de España*. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1989; 4: 45 50.
6. SUBIZA E. *Incidencia de granos de pólenes en la atmósfera de Madrid. Método Volumétrico*. Allergol. et Immunopatol. 1980 suppl. VII.
7. SUBIZA J, JEREZ M, JIMENEZ JA, NARGANES MJ, CABRERA M, VARELA S, SUBIZA E. *Allergenic pollen and pollinosis in Madrid*. J Allergy Clin Immunol. 1995; 96: 15-23.

8. SUBIZA J, FEO BRITO F, POLA J, MORAL A, FERNÁNDEZ J, JEREZ M Y FERREIRO M. *Pólenes alergénicos y polinosis en 12 ciudades españolas*. Rev. Esp. Alergol Inmunol Clín. 1998; 13: 45-58.
9. SUBIZA J, JEREZ M, GAVILÁN MJ, VARELA S, RODRÍGUEZ R, NARGANES MJ ET AL. *¿Cuáles son los pólenes que producen polinosis epidémica en el medio urbano de Madrid?* Rev. Esp. Alergol Inmunol Clín. 1998; 13: 107-119.
10. TOBIAS A, GALAN I, BANEGAS JR, ARANGUEZ E. *Short term effects of airborne pollen concentrations on asthma epidemic*. Thorax. 2003; 58: 708-10.
11. POLA J. *Alergia a pólenes de quenopodiáceas*. Rev. Esp. Alergol Inmunol Clín. 2003; 18 (extraordinario Núm.3): 39-44.
12. FEO BRITO F, GALINDO PA, GARCÍA R., GÓMEZ E., FERNÁNDEZ F, FERNÁNDEZ-PACHECO R, DELICADO A. *Pólenes alergénicos en Ciudad Real: Aerobiología e incidencia clínica*. Rev Esp Alergol Inmunol Clín, 1998; 13: 79-85.
13. FERNÁNDEZ J, GARCÍA F, ESTEBA A Y MIRALLES A. *Incidencia de granos de polen y polinosis en la ciudad de Elche, 1995* Rev. Esp. Alergol Inmunol Clín. 1998; 13: 88-91.
14. SUBIZA J, BARJAU C, SÁNCHEZ I, CHAMORRO M, GONZÁLEZ M SUBIZA JL. *Disminución de los síntomas de rinoconjuntivitis estacional en pacientes con polinosis mediante la realización de lavados salinos nasosinusales con el sistema Rhinodouche*. Rev. Esp. Alergol Inmunol Clín [resumen] (en prensa).
15. ADKINSON NF JR, EGGLESTON PA, ENEY D, GOLDSTEIN EO, SCHUBERTH KC. *A controlled trial of immunotherapy for asthma in allergic children*. N Engl J Med. 1997; 30: 324-31.
16. ZAPATA J. *Interpretación de los recuentos de pólenes [alercón]* Rev. Esp. Alergol Inmunol Clín. 2003; 18 (extraordinario Núm.3): 50-56.
17. SUBIZA J, BARJAU C, NARGANES MJ, BOLEA B. *Alercón una nueva herramienta para el clínico* Rev. Esp. Alergol Inmunol Clín [resumen] (en prensa).
18. SUBIZA J, SUBIZA JL, M. NARGANES MJ, MASIELLO JM. *Comparación de la sensibilidad y precisión de un nuevo dispositivo, Prick Film®, para realizar pruebas cutáneas frente al prick-test convencional* Rev. Esp. Alergol Inmunol Clín. [resumen] 1998; 13 (extraordinario Núm.2): 282.
19. DAVIES RR, SMITH IP. *Forecasting the start and severity of the hay fever season*. Clin Allergy 1973; 3: 263-67.
20. WEEKE ER, SPIEKSMAS F.Th.M. *Allergenic significance of Graminae (Poaceae)*. In: D'Amato, Spiekma F.Th.M., Bonini S. (eds). Allergenic pollen and pollinosis in Europe. London: Blackwell scientific Publications 1991: 109-12.
21. SUBIZA J, MASIELLO JM, SUBIZA JL ET AL. *Prediction of annual variation in atmospheric concentrations of grass pollen. A method based on meteorological factors and grain crop estimates*. Clin Exp Allergy 1991; 22: 540-6.

