

ORIGINAL**Hipersensibilidad a polen de *Platanus acerifolia*:
detección de las fracciones alérgicas**A.L. Valero, E. Rosell^a, P. Amat, J. Sancho^b, J. Roig^b, J. Piulats^a y A. Malet*Al.lergo Centre. Barcelona. ^aLaboratorio de Bioinvestigación. Merck Farma-Química S.A. Barcelona. ^bDivisión de Alergia. Merck Farma-Química S.A. Barcelona*

Fundamento: Aunque es conocida la poca relevancia clínica de los árboles en las polinosis en comparación con otras plantas, en Barcelona es importante el protagonismo de *Platanus acerifolia*, la especie de árbol más numerosa en la ciudad. Se ha realizado un estudio clínico e inmunológico de hipersensibilidad a polen de *Platanus acerifolia* (híbrida) en Barcelona, de su prevalencia y de las fracciones alérgicas del extracto de polen utilizado. *Métodos:* Se han revisado de forma consecutiva 3.450 historias clínicas de nuestro centro. La metodología diagnóstica ha incluido la realización de test cutáneos (*prick test*) a inhalantes habituales incluido el polen de *Platanus*, IgE específica y test de provocación nasal. *Resultados:* Se detectaron 24 pacientes sensibilizados clínicamente a polen de *P. acerifolia*, que representan el 3,6% del total de las polinosis detectadas. Mediante electroforesis en geles de poliacrilamida y en presencia de dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE) se identificaron diferentes fracciones proteicas, entre las que fueron mayoritarias las de 10, 14, 25 y 40 kDa. Las fracciones que con mayor frecuencia fijaban específicamente IgE fueron las de 5, 13, 23, 40, 43 y 66 kDa. Mediante isoelectroenfoque (IEF) se detectaron bandas mayoritarias entre un pI de 4,5 y 7,0; las de 4,0 y 9,0 eran las que más frecuentemente fijaban IgE. *Conclusiones:* Durante el período de un año, se ha detectado en Barcelona una prevalencia del 3,6% de sensibilización clínica a *P. acerifolia* respecto al total de polinosis. Destaca el alto porcentaje de casos monosensibilizados a este polen y la gran heterogeneidad de las fracciones alérgicas detectadas.

PALABRAS CLAVE: **Alergenos / Hipersensibilidad / Polen de *Platanus*.****Hypersensitivity to *Platanus acerifolia* pollen:
detection of allergenic fractions**

Background: Although the small clinical relevance of trees in pollinosis compared to other plants is known, the role of the *Platanus acerifolia*, the most numerous tree species in the city, in Barcelona is significant. A clinical and immunological study of hypersensitivity to pollen of *Platanus acerifolia* (*hybrida*) in Barcelona was performed in order to assess the prevalence and to determine the allergenic fractions of the pollen extract used in the study. *Methods:* A total of 3,450 medical records from our institution were consecutively reviewed. Diagnostic work-up consisted of skin tests (*prick-test*) to ordinary inhaled agents including *Platanus* pollen, specific IgE, and nasal challenge test. *Results:* Twenty-four patients clinically sensitized to *P. acerifolia* pollen were found. This group accounted for 3,6% of the total number of pollinosis detected. By means of polyacrylamide gel electrophoresis with sodium dodecyl sulfate (SDS-PAGE), different protein fractions were identified, mostly of 10, 14, 25, and 40 kDa. Fractions that specifically fixed IgE most frequent were those of 5, 13, 23, 40, 43, and 66kDa, whereas by isoelectric focusing (IEF) most bands were found between pI 4,5 and 7,0. IgE was most frequently fixed to bands at pI 4.0 and 9.0. *Conclusions:* A prevalence of clinical sensitization to *P. acerifolia* of 3,6% in respect to the total number of pollinosis was documented in the city of Barcelona over one year period. It should be noted the high percentage of cases with hypersensitivity to this pollen only and the large heterogeneity of the allergenic fractions detected.

KEY WORDS: **Allergens / Hypersensitivity / *Platanus* pollen.**

Es conocida la poca relevancia clínica de los árboles en las polinosis si se compara con pólenes de otras plantas. Excepcionalmente en Europa, el polen de olivo en los países mediterráneos y el polen de abedul en los del norte de Europa alcanzan una incidencia importante.

Platanus acerifolia, árbol perteneciente a la familia *Platanaceae*, es un híbrido de una especie euroasiática (*P. orientalis*) y americana (*P. occidentalis*). Los árboles que se plantan actualmente son fruto de una nueva hibridación (*P. hispanica*), que resisten mejor las condiciones adversas urbanas. Fue introducido en la Península Ibérica por los romanos y su utilización se extendió por Europa occidental. Se emplea en zonas urbanas por ser un magnífico árbol ornamental.

Barcelona es una de las ciudades de Europa, junto con Madrid, con mayor número de árboles en sus calles, la mayoría de ellos plataneros. Según el Instituto Municipal de Parques y Jardines actualmente hay plantados en Barcelona 144.598 árboles y los plataneros, con 57.471, es la especie más numerosa. No obstante, la tendencia actual es la de sustituirlo por otras especies.

La polinización de este árbol se produce en los meses de marzo y abril y en el medio urbano, principalmente Barcelona y Madrid, es donde se detecta el mayor porcentaje de polen durante estos meses.

Su polen es tricolporado, de un diámetro medio de 16-18 μm . En mediciones de polen realizadas en Barcelona, el polen de *P. acerifolia* puede representar cifras superiores al 20% del total anual detectado; se alcanzan concentraciones totales anuales de 150-380 pólenes/ m^3 y picos de 2000-2500 granos/ m^3 , con una tendencia de mayor polinización de forma bianual¹. En otros países europeos, como Francia, Italia, Suiza, Bélgica, Portugal y Gran Bretaña, se han detectado altas concentraciones².

Se detectan niveles significativos de polen atmosférico a finales de septiembre e inicio de octubre, a pesar de no existir polinización de este árbol, hecho que se interpreta como una refluencia de polen que había quedado retenido en la superficie de hojas y tronco del árbol.

El polen de *P. acerifolia* es considerado como alérgico por la mayoría de los autores; a pesar de ello se ha descrito una baja sensibilización, 13 y 5%, a este polen en pacientes polínicos^{3,4}. En España se considera una polinosis con una incidencia muy baja, dato que explicaría las pocas referencias bibliográficas encontradas²; a pesar de ello, Subiza⁵ detecta en Madrid un porcentaje superior al 50% de sensibilizaciones cutáneas a este polen entre pacientes polínicos.

Se ha descrito un alérgeno mayor de 22 kDa, con un pI ácido y un contenido glucídico del 6,9%, sensible a la digestión enzimática mediante tripsina⁶ y con una capacidad alérgica e inmunogénica modificada mediante desnaturalización con 8 M urea y la aplicación de calor por encima de los 100°C⁷.

Considerando su alto grado de polinización y las pocas publicaciones existentes al respecto, nos propusimos realizar un estudio clínico-inmunológico de hipersensibilidad a polen de *Platanus* en nuestro medio, así como valorar su prevalencia y determinar las fracciones alérgicas del extracto de polen utilizado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se aplicó un protocolo de estudio a todos los pacientes que acudían a nuestro centro por presentar sintomatología de vías respiratorias de posible origen alérgico durante un año, tiempo durante el cual se visitaron 3.450 pacientes.

El protocolo diagnóstico constaba de una anamnesis detallada, exploración física, pruebas cutáneas (*prick test*) a alérgenos inhalantes (ácaros, epitelios, mohos y pólenes de malezas, gramíneas y árboles) entre los que se incluía polen de *Platanus hybrida*, determinación de IgE específica (Cap-System, Pharmacia, Suecia) frente a los alérgenos con resultados positivos en las pruebas cutáneas, test de provocación nasal frente a alérgenos sospechosos de sensibilización por ser positivos en las pruebas cutáneas y/o determinación de IgE específica.

Extracto de polen. Se utilizó extracto de polen de *Platanus* (Lab. Merck Farma-Química S.A.) tanto para las pruebas cutáneas (5.000 PNU/ml), como para la prueba de provocación nasal (162, 322, 1.610 PNU/ml).

Tabla I. Frecuencia de sensibilizaciones entre los pacientes estudiados.

	Nº de casos (tanto por ciento)	
Pacientes estudiados	3.450	
Hipersensibilidad a inhalantes	1.390	(40,3)
Ácaros	893	(64,2)
Pólenes	665	(47,8)
Malezas	362	(54,4)
<i>Parietaria</i>	322	(48,4)
Gramíneas	289	(43,4)
Árboles	86	(12,9)
<i>Platanus</i>	24	(3,6)

Para la detección de las fracciones alergénicas se utilizaron viales que contenían 3.000 PNU/vial y su contenido proteico era de 15 mg/vial. Los extractos liofilizados se resuspendieron en 500 μ l de tampón fosfato salino pH 7,2 (PBS). La concentración se midió según el método Bradford⁸ utilizando un reactivo comercial (Protein assay kit, Bio-rad Laboratories, Richmond, California, EE.UU.). Para el isoelectroenfoque la muestra, además, se dializó utilizando una membrana de 6.000 Da de corte (Spectra/por, Spectrum Medical Industries INC. Los Angeles, EE.UU.), frente a agua destilada durante una hora y frente a PBS durante dos horas más. Los extractos crudos se distribuyeron en alícuotas y se guardaron a -40°C evitando los procesos de congelación-descongelación, para obviar la degradación proteica.

SDS-PAGE y western blotting. Se realizó una separación electroforética de las proteínas del extracto a estudiar utilizando geles de poliacrilamida (PAGE), en presencia de dodecilsulfato sódico (SDS) (geles de corrida al 15% w/v de poliacrilamida; gel de concentración al 5% w/v). La separación se realizó por el método Laemmli⁹ utilizando geles de 1,5 mm de espesor. Se aplicaron unos 2 μ g de proteína por carril. Se corrieron junto con las muestras marcadores de peso molecular, algunos preteñidos (Rainbow coloured protein low molecular weight markers, Amersham, Reino Unido), lo que permitió un mejor seguimiento de la electroforesis y de la posterior transferencia. La corrida se realizó aplicando una intensidad constante de corriente de 40 mA.

Las proteínas se electrotransfirieron tras la electroforesis a membranas de nitrocelulosa (0,45 mm, Bio-Rad o bien membranas ECL, Amersham, Reino Unido) utilizando una cámara Trans-Blot (Bio-Rad Laboratories Inc.), según el método Towbin¹⁰. La transferencia se realizó a 4°C durante toda la noche a bajo voltaje y alta intensidad (30 V, 400 mA).

Los carriles que contenían los marcadores de peso molecular se separaron y los que contenían las muestras de extracto se cortaron en tiras de 0,25 cm tras visualizar su recorrido con una tinción reversible con rojo Ponceau - S¹¹.

IEF-Immunoblotting. Los isoelectroenfoques se realizaron sobre placas de agarosa isogel (FMC BIO Products, Rockland, EE.UU.) en un rango de pH de 3 a 10. Se aplicó 1 μ g de proteína por carril. La corrida se realizó, básicamente, según las especificaciones comerciales, a 10°C durante 45 min a una potencia constante de 25 W (1.000 V, 20 mA iniciales).

Antes de la transferencia se cortaron los carriles correspondientes a los marcadores de los pI que se tiñeron con una solución de azul de Commassie. Se realizó un *immunoprint* del resto del gel de agarosa¹² sobre membranas de nitrocelulosa. Las membranas se cortaron a tiras y se procedió a la inmunodetección de las bandas específicas.

Inmunodetección de alergen. Tras la separación proteica de PAGE o por IEF, se procedió a la inmunodetección de los alergen reactivos a la IgE utilizando los sueros de los pacientes sensibles a polen de plátano.

Tabla II. Bandas obtenidas en el PAGE-SDS.

D/Serum	2	4	6	7	10	11	12	13	14	15	16	17	19	20	23	24	26	27	28	29
84500		xxx							xxx											
66000	xxx	xxx	xxx		xxx	xxx	xxx		xxx	xxx										xxx
61000	xxx		xxx		xxx		xxx		xxx											
58500	xxx	xxx	xxx		xxx	xxx	xxx		xxx											
53900	xxx	xxx	xxx		xxx		xxx		xxx											xxx
43900	xxx	xxx	xxx		xxx	xxx	xxx	xxx	xxx											xxx
40500	xxx	xxx	xxx		xxx	xxx	xxx		xxx								xxx	xxx		
35800									xxx											
23800	xxx	xxx	xxx				xxx		xxx				xxx				xxx	xxx		
15800	xxx		xxx						xxx											
13400	xxx	xxx	xxx		xxx		xxx		xxx								xxx	xxx		
12400	xxx				xxx				xxx					xxx		xxx		xxx		
9700																		xxx		
8200				xxx				xxx				xxx								xxx
5300	xxx					xxx	xxx			xxx	xxx				xxx		xxx	xxx	xxx	xxx
4500	xxx					xxx	xxx			xxx	xxx		xxx		xxx		xxx	xxx	xxx	xxx

Las tiras de nitrocelulosa se bloquearon con PBS con 1% de Twenn 20 (tampón de bloqueo) durante 1,5 horas a temperatura ambiente y con agitación suave. Después de tres lavados con PBS - 0,1% Twenn 20 (tampón de lavado), se incubaron individualmente con los sueros de los pacientes o los controles, diluidos según su actividad (normalmente, diluidos 1/5 en tampón de lavado), durante un mínimo de 16 horas a 4°C. Tras cuatro lavados, las transferencias se incubaron durante 1 hora, con agitación y a temperatura ambiente, con un anticuerpo monoclonal murino anti-IgE humana (Southern Biotechnology Associates, Inc. Birmingham, Reino Unido), diluido 1: 2.000 en el tampón de lavado. Después de otros cuatro lavados se incubaron durante 60 minutos con un anticuerpo anti-globulina murina conjugada con peroxidasa (Jackson, Baltimore, EE.UU.), diluido 1:25.000 en tampón de lavado. Tras lavar de nuevo, las bandas específicas se detectaron utilizando un sustrato quimioluminiscente. Se utilizó el sistema ECL (Amersham) según el protocolo del fabricante. La nitrocelulosa se expuso en períodos que oscilaron entre los 15 segundos y los 30 minutos, utilizando películas autorradiográficas (Hyperfilm-ECL, Amersham).

En algunas ocasiones las tiras se aprovecharon para una segunda detección. Los anticuerpos que habían reaccionado con las proteínas fijadas en la membrana se desprendieron tratando la nitrocelulosa con una solución reductora (Tris HCL 62.5 mM pH6.7, 2-mercaptoetanol 100 mM, SDS 2%) durante 30 min a 50°C con agitación. Tras cuatro lavados las membranas se

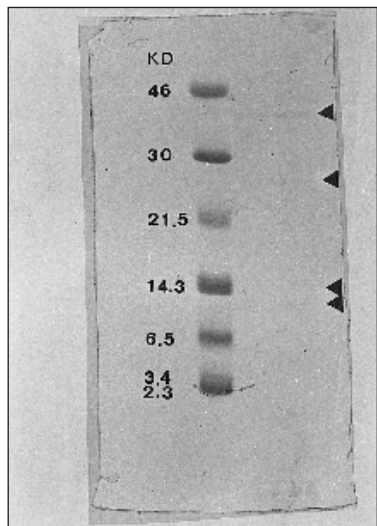


Fig. 1. Electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) del extracto de *Platanus*. En la izquierda se señalan los pesos moleculares del marcador corrido en la primera calle. Las flechas muestran las bandas mayoritarias.

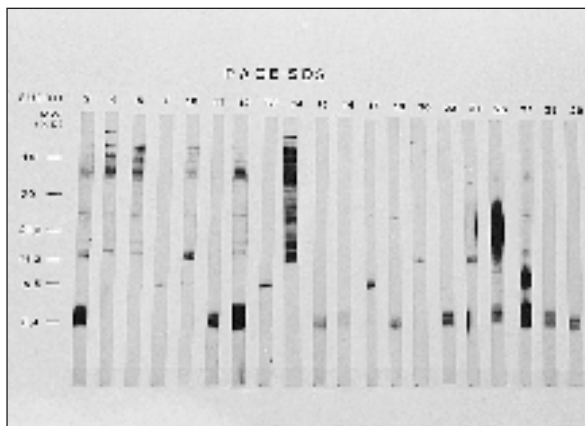


Fig. 2. Perfil de reacción de las IgE presentes en los sueros de los pacientes con el *immunoblotting* del extracto de *Platanus* obtenido tras el SDS-PAGE. En la izquierda se señalan los pesos moleculares del marcador.

bloquearon nuevamente y se incubaron con nuevos sueros siguiendo el mismo proceso descrito anteriormente.

RESULTADOS

De las 3.450 historias clínicas revisadas, 1.390 pertenecían a pacientes sensibilizados a alérgenos inhalantes, el 64,2% de los cuales estaban sensibilizados a ácaros del polvo doméstico y el 47,8%, a pólenes (Tabla I). Las pruebas cutáneas frente a extracto de *P. acerifolia* fueron positivas (> 3mm de diámetro de pápula) en 87 casos (13,8%).

En 24 pacientes se realizó el diagnóstico de sensibilización clínica a polen de *P. acerifolia* basándose en el estudio alergológico y la estacionalidad de la sintomatología referida. En todos ellos se constataron pruebas cutáneas y provocación nasal positivas (3 casos a 162 PNU/ml., 5 a 322 y 16 a 1.610) y en 19 se detectó IgE específica (6 clase 2 y 13 clase 3). Estos casos detectados representan el 3,6% del total de las polinosis y el 27% de los casos sensibilizados a árboles.

Estaban sensibilizados a otros alérgenos 16 casos, 6 a polen de gramíneas, 6 a *Parietaria judaica*, 2 a *Olea europaea*, 4 a ácaros del polvo doméstico y uno a epitelio de perro. Los 8 casos restantes (33%) estaban sensibilizados sólo frente a polen de *P. acerifolia*.

Se recogió el antecedente personal de atopia en 8 casos y familiar en 9 casos: 9 varones y 15 mujeres, con una edad media de 32,6 ± 12,8 años y un interva-

lo de edad de 15-58 años. El motivo de consulta fue de rinoconjuntivitis en todos ellos y asma bronquial en 5, con un período de evolución de sus síntomas de $6,6 \pm 3,8$ años.

Todos ellos presentaban síntomas claramente relacionados con el período de polinización de *P. acerifolia*; 12 pacientes afectos de rinoconjuntivitis y 4 de asma referían síntomas en otros meses del año.

El 70% de los pacientes residían en la ciudad de Barcelona y sus domicilios estaban situados en zonas con plataneros; el resto, vivían en ciudades limítrofes y referían, de igual forma, la cercanía de este árbol.

Los geles de SDS-PAGE con el extracto de plátano utilizado para el diagnóstico contenían múltiples bandas proteicas en un rango de 4-80 kDa; las mayoritarias eran de 10, 14, 25 y 40 kDa (Figura 1). Por *immunoblotting* se detectaron un total de 16 bandas específicas cuyos pesos moleculares fueron calculados teniendo en cuenta la corrida de las proteínas patrón. Las bandas reactivas con las IgE que presentó el extracto tenían un peso molecular de 4,5, 5,3, 8,2, 12,4, 13,5, 15,8, 23,0, 35,8, 40,0, 43,0, 54,0, 58,5, 61, 66 y 84,5 kDa; las bandas más frecuentemente implicadas fueron las de 4,5, 5,3, 8,2, 13,5, 23,0, 35,8, 40,0, 43,0, y 66 kDa (Fig. 2, Tabla II). Algunos pacientes, como los casos 7, 16, 17, 23, 28 y 29, presentaron bandas reactivas de bajo peso molecular, por debajo de los 10.000 Da. Los sueros de los pacientes 20 y 24 presentaron una única banda reactiva a 12,4 kDa. En el resto de pacientes pudieron identificarse bandas alérgicas tanto a bajo como a alto peso molecular. Las dos bandas reactivas frente a las IgE de diversos

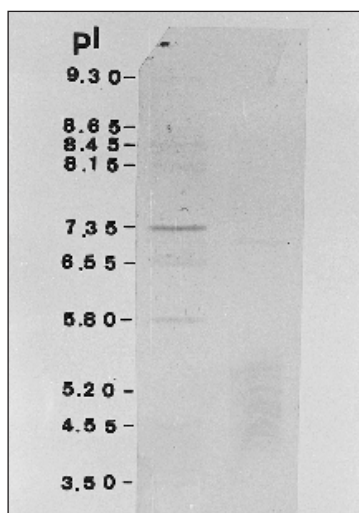


Fig. 3. Isoelectroenfoco (en gel de agarosa con un gradiente de pH de 3 a 10) del extracto de *Platanus* estudiado tras tinción con azul de Coomassie. En la izquierda se señalan los pI de los marcadores.

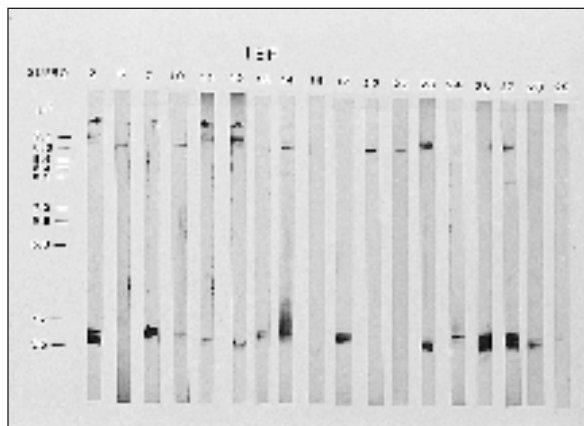


Fig. 4. Inmunodetección de las IgE unidas a las bandas alérgicas tras el IEF. En la izquierda se señalan los pI del marcador.

pacientes y de bajo peso molecular, 4,5 y 5,3 kDa, fueron las que aparecieron con más frecuencia (55 y 50% de los casos, respectivamente).

Las bandas correspondientes a pesos moleculares entre 40-44 y 66.000 Da aparecieron en el 45% de los sueros estudiados. Con el suero del paciente 22 no se pudo detectar bandas específicas en la SDS-PAGE, mientras que sí apareció una banda específica en el IEF.

Mediante IEF del extracto, en un gradiente de pH de 3 a 10, se obtuvieron múltiples bandas; las mayoritarias se situaron en un rango ácido, entre puntos isoelectrónicos de 4,5 y 5,5 (Fig. 3). Destacó una banda mayoritaria en el extracto con un pI alrededor de 7. Por *immunoprint*, tras la incubación con los sueros de los pacientes, se detectaron 14 bandas alérgicas de pI 9,26, 9,04, 8,28, 7,6, 6,32, 5,72, 5,04, 4,14, 4,06, 3,99, 3,84, 3,76, 3,54, 3,46. Las más reactivas frente a las inmunoglobulinas IgE séricas fueron las de pI de 4-5,5 y alrededor de 9 (Fig. 4, Tabla III). Dentro de las bandas reactivas fueron las de pI 4,06 y 9,04 las que con mayor frecuencia fijaron las IgE (60% de los casos estudiados). En el caso del *immunoprint*, los sueros de los pacientes 4, 16 y 19 no reaccionaron de manera específica con las proteínas del extracto de plátano separado por isoelectroenfoco.

DISCUSIÓN

En Barcelona, se detectan grandes cantidades de polen de *P. acerifolia* en los meses de marzo y abril, cifras que llegan a representar en ocasiones valores superiores al 20% del total anual detectado. A pesar de

ello, no se ha considerado un polen muy alergénico en nuestra área, donde predomina la sensibilización a polen de *Parietaria* de forma mayoritaria.

El 13,8% de los polínicos estudiados tienen pruebas cutáneas positivas a polen de *P. acerifolia*, porcentaje que oscila entre el 5 y el 52 % en distintas ciudades españolas (Tabla IV).

El 3,6% de los pacientes polínicos diagnosticados sufrían síntomas durante la época estacional de *P. acerifolia*, frecuencia similar a la de otros estudios realizados en Barcelona (6%), Nápoles (5%) e inferior a las de Montpellier (13%) y Madrid (28%)^{3,4,13,22}.

La mayor parte de los pacientes de la presente serie residen en la ciudad de Barcelona, lugar donde se detectan mayores niveles de polinización; en todos ellos destacaba la cercanía a zonas donde abundan los plataneros como árbol ornamental. Todos ellos referían síntomas de aparición brusca e intensa a los pocos días del inicio de la polinización¹³, los cuales eran de mayor intensidad en el transcurso de las primeras 4-6 horas de la mañana²³. En algunos casos destaca la aparición de síntomas más leves y puntuales a finales de septiembre e inicio de octubre, hecho explicado por la posible reflorescencia del polen adherido en la hoja verde del árbol.

A pesar de que se han descrito pocos casos de monosensibilización^{13,15,19,21,24,25}, en la presente serie representan un porcentaje inusualmente elevado (33%). En la mayoría de los casos descritos coexisten sensibilizaciones frente a polen de gramíneas, *Olea europaea*, *Parietaria judaica*, *Plantago ovata* y *chenopodiaceas*. En estudios *in vitro* se ha detectado una significativa reactividad cruzada con polen de gramíneas, hecho que justificaría la abundancia de sensibilizacio-

nes cutáneas detectadas en zonas donde abunda esta polinosis y la menor prevalencia de sensibilización en zonas donde es menos frecuente, como en Barcelona, y ello a pesar de las altas concentraciones atmosféricas detectadas¹³. Bartolomé et al²², mediante RAST-inhibición, detectaron una cierta reactividad cruzada con polen de *Parietaria*, *Olea* y *Artemisia* y obtuvieron, asimismo, una baja inhibición con los pólenes de *Dactylis glomerata*, *Lolium perenne*, *Betula verrucosa*, *Mercurialis annua* y *Chenopodium album*.

Se ha detectado una gran heterogeneidad en las fracciones alergénicas de polen de *P. acerifolia*. Las fracciones más frecuentemente implicadas tenían un peso molecular de 5, 13, 23, 40, 43 y 66 kDa, no destacando sobremanera ninguna de ellas ya que la frecuencia de implicación oscilaba entre el 40 y 55% de los casos estudiados.

Anfosso⁶ describió un alérgeno mayor de 22 kDa que podría corresponder a la fracción de 23 kDa detectada por nosotros en el 40% de los casos. Bartolomé et al²² describieron como alérgenos principales a las fracciones de 48, 28 19 y 17 kDa, la mayor parte de ellas descritas en el presente estudio. La fracción de 17 kDa descrita por Varela et al²⁵ como el alérgeno mayor en un conjunto de sueros, podría corresponder a la banda comprendida entre 14 y 16 kDa descrita por nosotros.

Así pues, se ha detectado una prevalencia del 3,6% de sensibilizaciones clínicas a polen de *Platanus* durante el período de un año en nuestro medio respecto al total de polinosis diagnosticadas; destaca el alto porcentaje de casos sensibilizados sólo frente a este polen y la gran heterogeneidad de las fracciones alergénicas detectadas.

Tabla III. Síntesis bandas obtenidas en el IEF.

pl/Serum	2	6	7	10	11	12	13	14	15	17	20	22	23	24	26	27	28	29
9,26	xxx				xxx	xxx		xxx		xxx			xxx		xxx			xxx
9,04	xxx	xxx		xxx		xxx	xxx	xxx			xxx	xxx	xxx	xxx				xxx
8,28																		xxx
7,6								xxx										xxx
6,32																		xxx
5,72																		xxx
5,04																		xxx
4,14			xxx				xxx											xxx
4,06	xxx		xxx	xxx			xxx	xxx		xxx				xxx	xxx	xxx	xxx	xxx
3,99										xxx				xxx	xxx	xxx	xxx	xxx
3,84	xxx				xxx	xxx			xxx				xxx					
3,76	xxx				xxx	xxx			xxx				xxx					
3,54																		xxx
3,46																		xxx

Tabla IV. Porcentajes de pruebas cutáneas positivas y recuento de polen de *Platanus* con respecto al total.

Ciudad	TCP ^a	Polen ^b
Madrid ¹³	52	17
Toledo ¹⁴	52	1,2
Badajoz ¹⁵	28	4,1
Zaragoza ¹⁶	25	38
Logroño ¹⁷	25	-
Ciudad Real ¹⁸	19	1,3
La Coruña ¹⁹	13	-
Málaga ²⁰	8	5,3
Jaén ²¹	5	0,8
Barcelona	13	22

^aPorcentaje de casos con test cutáneos positivos a polen de *Platanus*. ^bPorcentaje de polen de *Platanus* detectado con respecto al total de pólenes.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Belmonte J, Roure JM, Botey J, Cadahía A. Aerobiología en Cataluña. Bol Red Esp Aerobiol 1995; 1: 87-102.
- Subiza J, Cabrera M, Valdivieso R, Subiza JL, Jerez M, Jiménez JA, et al. Seasonal asthma caused by airborne *Platanus* pollen. Clin Exp Allergy 1994; 24: 1123-1129.
- D'Amato G, Lobefalo G. Allergenic pollens in the southern Mediterranean area. J Allergy Clin Immunol 1989; 83: 116-122.
- Bousquet J, Cour P, Guerin B, Michel FB. Allergy in the Mediterranean area I. Pollen counts and pollinosis of Montpellier. Clin Allergy 1984; 14: 249-258.
- Subiza J. Los pólenes como agentes etiológicos en el asma. Rev Esp Alergol Inmunol 1995; 10: 21-28.
- Anfosso F. Isolement et caractérisation des allergènes du pollen de platane (*Platanus acerifolia*). Rev Fr Allergol 1980; 20: 209-212.
- Anfosso F, Soler M, Leyris R, Mallea M, Charpin J. Denaturation of allergen P: effect on allergenicity, antigenicity and immunogenicity. Ann Allergy 1979; 42: 384-389.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. An Biochem 1976; 72: 248-254.
- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 1970; 227: 680-685.
- Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets. Procedure and some applications. Proc Natl Acad Sci USA 1979; 76: 4350-4354.
- Hames BD, Rickwood D. Gel electrophoresis of proteins. A practical approach. Nueva York: ICL Press, Oxford University Press, 1990; 282.
- Peltre G, Lapeyre J, David B. Heterogeneity of grass pollen allergens (*Dactylis glomerata*) recognized by IgE antibodies in human patients sera by a new nitrocellulose immunoprint technique. Immunol Lett 1982; 5: 127-131.
- Subiza J, Jerez M, Gavilán JM, 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 1998; 13: 107-119.
- Moral de Gregorio A, Senent Sánchez C, Cabañes Higuero N, García Villamuza Y, Gómez-Serranillos Reus M. Pólenes alergénicos y polinosis en Toledo durante 1995-1996. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1998; 13: 126-134.
- González Galán I, Devesa Alcaraz JA, Ramos Maqueda S, Rodríguez Mesa P. Pólenes alergénicos y polinosis en Badajoz. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1998; 13: 63-69.
- Pola Pola J, Zapata Jiménez C, Sanz Turón E. Polinosis en el área de Zaragoza. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1998; 13: 135-139.
- Lobera Labairu T, Blasco Sarramián A. Estudio de polinosis en La Rioja. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1998; 13: 102-106.
- Feo Brito F, Galindo Bonilla PA, García Rodríguez R, Gómez Torrijos E, Fernández Martínez C, Fernández-Pacheco F, et al. Pólenes alergénicos en Ciudad Real: aerobiología e incidencia clínica. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1998; 13: 79-85.
- Ferreiro Arias M, Núñez Orjales R, Rico Díaz MA, Soto Mera T, López Rico R. Pólenes alergénicos y polinosis en el área de La Coruña. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1998; 13: 98-101.
- Torrecillas M, García González JJ, Palomeque MT, Muñoz C, Barceló JM, de la Fuente JL, et al. Prevalencia de sensibilizaciones en pacientes con polinosis de la provincia de Málaga. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1998; 13: 122-125.
- Peralta Prieto V. Estudio de sensibilización a pólenes y análisis aeropalínológico en la provincia de Jaén durante 1995. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1998; 13: 93-97.
- Bartolomé B, Olivé A, Vives R, Martínez J, Martínez A, Palacios R. Estudio y caracterización de los alérgenos del polen de *Platanus acerifolia*. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1996; 11: 172.
- González Minero FJ, Candau P, Tomás C, Morales J. Daily variation patterns of airborne allergenic pollen in southwestern Spain. Invest Allergol Clin Immunol 1998; 8: 89-93.
- Carreño A, Contreras L, García J, Munuera M, Contreras J, Funes E, et al. Plátano de sombra. Un polen relevante en la C.A. de Murcia. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1996; 11: 211.
- 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: 748-754.