

Moderadores: J. Subiza
Garrido-Lestache,
C. Lahoz Navarro

J. Subiza

Centro de Asma y Alergia Dr.
Subiza. Madrid.

MESA REDONDA: POLINOSIS I

Gramíneas: Aerobiología y polinosis en España

DESCRIPCIÓN Y DISTRIBUCIÓN EN ESPAÑA

La de las gramíneas es una familia muy importante que consta de unos 650-700 géneros y alrededor de 12.000 especies repartidas por todo el Globo, que viven incluso en las regiones más frías o tórridas; tal ha sido su éxito que frecuentemente son dominantes en formaciones vegetales importantes como las sabanas, estepas y vegetación acuática. Muchas de ellas son la base de la alimentación animal, ya que dominan en los prados, y del hombre, puesto que a esta familia pertenecen los trigos (*Triticum* sp.), la cebada (*Hordeum vulgare* L.), el arroz (*Oryza sativa* L.), el maíz (*Zea mays* L.), el centeno (*Secale cereale* L.), las avenas (*Avena* sp.) y el resto de los cereales, que almacenan en sus frutos gran cantidad de hidratos de carbono (almidón) y en menor proporción grasas y proteínas. De la médula rica en azúcares del *Saccharum officinarum* L. se obtiene el azúcar de caña. Las gramíneas son plantas con flores del grupo de las monocotiledóneas (subclase *Liliidae*), que tienen el embrión con una sola hoja desarrollada y que se polinizan típicamente por el viento.

Los géneros que se consideran como fuente más importante de polinosis pertenecen en su mayoría a la subfamilia *Pooideae*: *Phleum* (fleo), *Dactylis* (dátilo), *Lolium* (ballico), *Trisetum* (trisetos), *Festuca* (cañuelas), *Poa* (poa), *Anthoxanthum* (grama de olor), *Holcus* (holco), *Agrostis* (agróstide) y *Alopecurus* L. (alopeкуро). De la subfamilia *Chloridoideae* es importante *Cynodon* (grama). En la subfamilia *Panicoideae*, los géneros *Sorghum* (sorgo) y *Paspalum* (páspalo).

Del género *Phleum* hay seis especies en la Península y Baleares, de las cuales las más comunes son *Phleum pratense* L. y *Phleum phleoides* (L.) H. Karst. Son plantas perennes o anuales que tienen una inflorescencia cilíndrica y apretada formada por numerosas espiguillas comprimidas lateralmente, cada una con una sola flor, con las dos brácteas que la protegen o glumas aquilladas. El género *Dactylis* tiene una sola especie, *Dactylis glomerata* L. (grama de jopillos, dátilo, barbicas de macho), que es muy variable y polimorfa, con muchas razas. Se trata de una planta perenne, de hasta 1(2) m, que tiene una inflorescencia más o menos ramosa, con las espiguillas agrupadas en ramilletes apretados algo unilaterales, cada una comprimida lateralmente y con 2-5 flores; las glumas son poco desiguales y aquilladas. Es una especie muy común, ampliamente repartida por la Península y Baleares. El género *Lolium* tiene al menos 5 especies en la Península, de las cuales es común *Lolium perenne* L. (ballico, césped inglés, ray-gras), en los pastos frescos o húmedos, y *Lolium multiflorum* Lam. (hierba de los ojos, ballico) y *Lolium rigidum* Gaudin (ballico) en cultivos y lugares secos y más o menos alterados. La cizaña, *Lolium temulentum* L., planta de cultivos, es hoy en día bastante rara. Se trata de plantas

anuales o perennes que tienen una inflorescencia formada por dos hileras de espiguillas comprimidas, que suelen estar algo empotradas en excavaciones del eje y que se enfrentan por el dorso (la inflorescencia es por ello aplanada); cada espiguilla lleva varias flores, hasta 22, y sólo la espiguilla terminal conserva sus dos brácteas o glumas (en el resto falta la que coincide con el eje). Del género *Trisetum* hay en la Península y Baleares 7 especies (6 más si se incluye el género muy afín *Trisetaria*), de las que las más comunes son *Trisetum flavescens* (L.) P. Beauv., *Trisetaria panicea* (Lam.) Paunero [*Trisetum paniceum* (Lam.) Pers.] y *Trisetaria ovata* (Cav.) Paunero [*Trisetum ovatum* (Cav.) Pers.] Se crían en prados o bien en pastos secos de anuales y tienen una inflorescencia ramosa, en panícula, a veces abierta, otras veces bastante apretada, formada por espiguillas comprimidas lateralmente, cada una con dos o varias flores; las glumas son aquilladas y algo desiguales; la glumilla inferior suele llevar una arista. El género *Festuca* es uno de los más complejos y diversificados en la Península; incluye más de 60 especies que muchas veces son dominantes en ciertos prados o en pastos de montaña. Se pueden encontrar en casi todas las regiones, españolas excepto en las más secas. Son plantas perennes, que forman céspedes o macollas, con inflorescencia ramosa, en panícula, formada por espiguillas algo comprimidas lateralmente, con varias flores, cada una con dos glumas; la glumilla inferior de cada flor, que puede llevar o no arista, tiene el dorso redondeado y no es aquillada. Muy parecidas son las plantas del género *Poa*, unas 33 especies en la Península y Baleares, pero tienen la glumilla inferior de las flores aquillada. En este género hay especies como *Poa annua* L. (hierba de punta, espiguilla, poa) que viven habitualmente junto al hombre en los caminos, calles y lugares pisoteados. Otras especies muy comunes son *Poa trivialis* L., *Poa pratensis* L., *Poa angustifolia* L. y *Poa bulbosa* L. (junquillo). El género *Anthoxanthum* incluye dos especies muy comunes, *Anthoxanthum odoratum* L. (grama de olor) y *Anthoxanthum aristatum* Boiss., la primera perenne, la segunda anual. Son plantas que con frecuencia huelen a cumarina y que tienen una inflorescencia ovoide o alargada, relativamente apretada, formada por espiguillas con dos flores estériles y una flor terminal hermafrodita; las glumas son membranáceas y muy desiguales; la glumilla de las flores estériles suele tener dos lóbulos apicales y llevan una arista en el dorso. El género *Holcus* tiene 4 especies en la Península y Baleares, más dos de posición dudosa que se suelen llevar hoy en día a *Deschampsia*. Dos de las especies, *Holcus lanatus* L. (he-

no blanco, holco) y *Holcus mollis* L. (heno blando, heno blanco), son muy comunes. Se trata de plantas perennes o anuales que pueden medir desde 10 ó 20 cm hasta 1,5 m. Tienen una inflorescencia ramosa, en panícula, formada por espiguillas con 2-3 flores, con glumas casi iguales y más largas que ellas, frecuentemente velludas, la glumilla inferior de algunas de las flores con arista. El género *Agrostis* tiene unas 19 especies en la Península y Baleares, algunas de ellas, como *Agrostis stolonifera* L. (hierba fina), *Agrostis castellana* Boiss. & Reut. y *Agrostis capillaris* L., bastante comunes en los prados y pastos españoles. Son plantas anuales o perennes con inflorescencia muy ramosa, en panícula, integrada por espiguillas con una sola flor; las glumas pueden ser iguales o desiguales, generalmente más largas que la flor; la glumilla inferior puede llevar arista o ser mocha. El género *Alopecurus* tiene 8 especies en la Península, algunas de ellas como *Alopecurus pratensis* L. (cola de zorra, alopecuro de prados) y *Alopecurus arundinaceus* Poir, bastante comunes en prados y herbazales húmedos. Las inflorescencias son alargadas, más o menos apretadas y generalmente casi cilíndricas, como las de *Phleum*, formadas también por espiguillas con una sola flor, pero la glumilla inferior lleva una arista en el dorso o en la parte inferior. El género *Cynodon* tiene una sola especie, *Cynodon dactylon* (L.) Pers. (grama común, grama), muy común en cultivos, campos incultos, depresiones, ribazos, bordes de caminos, arenales, etc. Es una planta perenne, cundidora, que tiene una inflorescencia muy típica formada por 3-5 espigas delgadas dispuestas radialmente como los dedos de una mano; las espiguillas llevan una sola flor y las glumas son casi iguales y aquilladas. El género *Sorghum* tiene dos especies en la Península y Baleares, una silvestre, *Sorghum halepense* (L.) Pers. (millaca, cañota), la otra cultivada, *Sorghum bicolor* (L.) Moench (sorgo común, panizo negro); la primera se extiende sobre todo por las zonas cálidas del este y mitad sur de la Península, en cunetas, bordes de acequias, cultivos estivales de regadío, etc. Se trata de plantas anuales o perennes con una gran inflorescencia ramosa, en panícula; tienen espiguillas de dos tipos, unas sentadas, con una flor hermafrodita y otra reducida a la glumilla inferior, otras levantadas sobre un cabillo, masculinas o estériles. Finalmente, el género *Paspalum* L. incluye 5 especies propias de pastos húmedos, cultivos de regadío, praderas, céspedes, etc. Son plantas anuales o perennes que tienen una inflorescencia muy típica formada por espigas o racimos unilaterales alargados dispuestos de forma espaciada a lo largo de un eje o en forma digitada; las espiguillas van

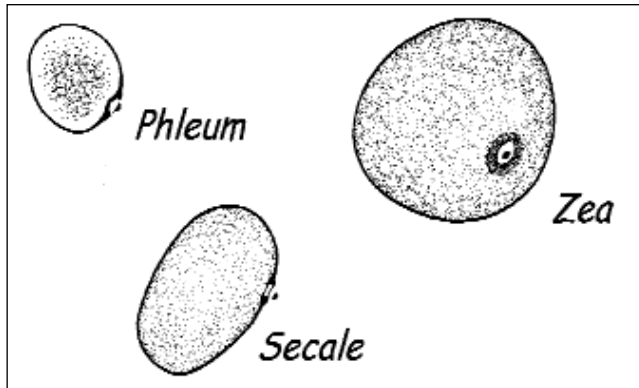


Fig. 1. Gramínea (comprobar que sólo tiene un poro).

adosadas y llevan dos flores, la inferior reducida a la glumilla inferior estéril; la gluma superior es tan larga como las flores, la inferior suele faltar.

MORFOLOGÍA DEL POLEN

Poaceae (gramíneas)

Forma: esferoidal u ovoide

Tamaño: 22-80 μm (pequeño-grande)

Aperturas: **monoporado con opérculo grande** (ojo de delfín)

Exina: bastante fina que se engruesa ligeramente en el poro (**annulus**). Superficie: lisa o con granulaciones finas

Intina: (grosor variable, según especie)

Debe diferenciarse de:

Algunas esporas (comprobar cubiertas de la exina y poro con borde engrosado)

AEROBIOLOGÍA Y POLINOSIS

Globalmente son la causa más importante de polinosis en Europa, debido a la gran alergenicidad de sus pólenes y a su extensa distribución vegetal (20% de la superficie vegetal del mundo)¹⁻¹⁰. Aunque incluye varios miles de especies, su importancia alergológica se centra en un reducido número capaces de producir polen abundante y aerovagante (granos de 20-45 μm de diámetro)^{11,12}.

Su subfamilia *Pooideae* contiene la mayoría de los géneros importantes en producir polinosis (*Phleum*, *Dactylis*, *Lolium*, *Trisetum*, *Festuca*, *Poa*, *Anthoxanthum*, *Holcus*, *Agrostis* y *Alopecurus*). La reactividad cruzada entre ellas es tan importante que en general es suficiente con

una o dos para diagnosticar y tratar a los pacientes. Las subfamilias *Chloridoideae* (*Cynodon*) y *Panicoideae* (*Sorghum* y *Paspalum*, importantes en el sur de EEUU) por el contrario presentan una baja reactividad cruzada con las *Pooideae* y por tanto éstas deben incluirse aparte para el diagnóstico y tratamiento en aquellas áreas donde son prevalentes¹¹⁻¹⁴.

Cuando examinamos los recuentos de gramíneas obtenidos por las 12 estaciones españolas que participaron en un estudio multicéntrico durante los años 1995-96¹⁵, encontramos 3 factores importantes a destacar (Tabla D):

1) Los altos recuentos de Badajoz, Madrid, Toledo y Ciudad Real en 1996.

2) Las amplias variaciones interanuales de estas 4 estaciones.

3) Los bajos recuentos de Elche a pesar de su prolongado período de polinización.

En Madrid ha sido descrito que existe una relación directa entre la pluviosidad preestacional (octubre-marzo) y los recuentos de gramíneas de abril-julio (suma de las medias diarias)¹⁵. Esta pluviosidad preestacional parece que fue también de crucial importancia en los dos años del estudio, no sólo en Madrid, sino también en Badajoz, Toledo y Ciudad Real que comparten con Madrid el mismo clima mediterráneo continental extremo seco¹⁶⁻¹⁸.

Efectivamente la pluviosidad de octubre 1995 a marzo de 1996 de estas 4 estaciones fue un 95%, 240%, 210% y 184% mayor respectivamente en comparación con la obtenida en el mismo período anterior (octubre 1994-marzo 1995), lo que condicionó, unos incrementos porcentuales en los recuentos de gramíneas en 1996 con respecto 1995 del 255%, 643%, 297% y 473% respectivamente, situando a estas localidades en 1996 en primer lugar en cuanto a concentraciones de gramíneas. Este importante incremento en los recuentos tuvo consecuencias clínicas importantes, tal como lo refleja el incremento estacional (abril-julio) en el consumo de antihistamínicos de estas ciudades que se incrementó en 1996 con respecto el año anterior en un 47%, 35%, 45% y 43%, respectivamente.

Sevilla y las dos estaciones de la costa Mediterránea del estudio (Málaga y Elche) también detectaron estos cambios en la pluviosidad preestacional con unos incrementos del 233%, 518% y 78% que produjeron también unos incrementos en los recuentos de gramíneas, que fueron más acentuados en Sevilla (116%) y Málaga (341%) que en Elche (45%), aunque el incremento en el consumo de antihistamínicos fue similar en estas dos últimas (22%, 19%) y superior en Sevilla (36%).

Tabla I. Pólenes de gramíneas, presencia atmosférica y positividad en las pruebas cutáneas.

	1995		1996		Total media	Pruebas cutáneas positivas (%)
	Total	Día pico	Total	Día pico		
Toledo	1.880	74 27-May	7.634	462 31-May	4.757	83
Badajoz	1.015	25 22-May	7.545	472 29-May	4.280	94
Madrid	1.845	85 30-May	6.588	552 01-Jun	4.217	94
Ciudad Real	941	103 25-May	5.388	572 31-May	3.165	58
Bilbao	3.517	302 28-May	2.775	232 23-May	3.146	97
Sevilla	1.390	76 27-May	3.006	189 03-Jun	2.198	87
Zaragoza	1.810	63 07-Jun	1.833	77 25-May	1.822	88
Málaga	544	28 18-May	2.448	259 02-Jun	1.496	56
La Coruña	1.437	135 05-Jul	1.532	133 27-Jun	1.485	90
Elche	707	30 15-Oct	1.026	54 26-May	867	48
Media	1.508	92	3.977	293	2.743	79

	2001		2002		Total media	Pruebas cutáneas positivas (%)
	Total	Día pico	Total	Día pico		
Badajoz	22.000	1.808 24-May	10.820	865 19-May	16.410	88
Toledo	6.503	514 23-May	6.819	430 12-May	6.661	73
Madrid	7.885	523 27-May	4.970	545 21-May	6.428	81
Ciudad Real	3.701	559 02-Jun	5.349	508 21-May	4.525	60
Santander	2.538	75 14-Jun	1.769	165 16-May	2.154	79
Bilbao	1.609	101 30-May	1.728	70 26-Jun	1.669	80
Vitoria	1.594	116 29-May	**	130 12-Jun	1.594	85
Barcelona	1.300	83 04-Jun	1.585	69 22-May	1.443	50
Burgos	1.079	63 04-Jun	1.577	107 16-May	1.328	91
Zaragoza	1.574	65 31-May	962	99 21-May	1.268	77
La Coruña	824	282 01-Jul	441	109 17-Jul	633	81
Media	4.601	381	3.602	282	4.010	77

Prevalencia de pruebas cutáneas positivas a pólenes de gramíneas entre los pacientes con polinosis de ciudades diferentes.

Día pico: día del año con máxima media diaria (granos de gramíneas/m³ de aire).

Total: Suma de las concentraciones medias diarias de pólenes de gramíneas de un año.

** Recuentos no disponibles.

Fuente: Comité de Aerobiología de la SEAIC.

Bilbao como claro exponente de la España verde (clima Atlántico) por el contrario apenas presentó variaciones interanuales en las precipitaciones preestacionales (3%) y en las concentraciones de gramíneas (25%) de esos dos años y es que en ese área climática, similar a la de Londres, las variaciones interanuales en las concentraciones de gramíneas están más supeditadas a la temperatura preestacional que a la pluviosidad que suele ser bastante constante^{19,20}.

El "período de polinización" de las gramíneas es muy amplio debido a la diversidad de sus especies, (cada una con su particular período de floración) y a las condiciones climáticas oscilando de 6-10 meses). No obstante es probable que el "período de polinosis" sea mucho más corto, pues este sólo abarcaría los días en que los recuentos superaran las cifras umbrales de reactivación.

Cifras "probablemente altas", tales como medias mensuales > 20 granos/m³ de aire, sólo se observaron en este estudio de abril-junio en Sevilla, Badajoz y Toledo y de mayo-junio en Málaga, Ciudad Real, Madrid y Bilbao. Mayo resultó en ambos años el mes con mayor media mensual de gramíneas y mayor consumo de antihistamínicos, en prácticamente todas las estaciones, incluso a pesar de que las medias mensuales de *Olea* de abril 1995 en Sevilla y de junio de 1996 en Málaga fueron con respecto mayo un 86% y un 68% superiores.

La prevalencia PCP a pólenes de gramíneas entre los pacientes con polinosis osciló entre el 48% en Elche al 97% en Bilbao con un promedio del 79%, siendo reconocido como causa número uno de polinosis en 9 de las 12 ciudades y número 2 en las 3 restantes (tras la *Olea* en Sevilla y Málaga y tras el *Chenopodium* en Elche), por lo

que globalmente las gramíneas representaron ser la causa número uno de polinosis en este estudio multicéntrico, coincidiendo así con otros estudios previos (Tabla I)³⁵.

En un segundo estudio multicéntrico similar al anterior y realizado por el Comité de Aerobiología de la SE-AIC durante el 2001 y 2002 se observan unos resultados similares [datos no publicados] (Tabla I). Los mayores recuentos se obtuvieron en Badajoz, Toledo y Madrid, por el contrario Barcelona arrojó unas concentraciones menores tanto de recuentos como de PCP. No obstante las concentraciones bajas no fueron sólo exclusivas de la zona costera mediterránea, ya que La Coruña, Zaragoza y Burgos presentaron unas concentraciones similares, aunque con una prevalencia de PCP mayor.

Cuando mediante una combinación adecuada de estos datos (del 1º y 2º estudio multicéntrico), se intentó encontrar una asociación significativa ($p < 0.05$) mediante fórmulas de correlación lineal, ésta sólo se pudo encontrar entre los recuentos de 1995 y las PCP de ese año (Tabla I).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blackley CH. Experimental Researches on the Nature and Causes of Catarrhus Aestivus. London, Bailliere, Tindal & Cox, 1873.
- Bagni N, Charpin H, Davies RR, Nolard N, Stix E. City spore concentrations in the European Economic Community (EEC) I. Grass pollen, 1973. *Clin Allergy* 1976; 6: 61-8.
- Grasses and grasslike plants In: Lewis WH, Vinay P, Zenger VE eds. Airborne and allergenic pollens of North America, Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press, 1983: 105-28.
- Subiza E, Subiza J, Jerez M. Aerobiología de las gramíneas en los climas de España. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1989; 4: 45-50.
- Weeke ER, Spieksma F.Th.M. Allergenic significance of Graminae (Poaceae) In: D'Amato, Spieksma F.Th.M., Bonini S. (eds). Allergenic pollen and pollinosis in Europe. London: Blackwell scientific Publications 1991:109-12.
- Subiza J, Jerez M, Subiza E. Introducción a la aerobiología de las gramíneas. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1992; 7: 151-161.
- Knox RB. Grass pollen, thunderstorms and asthma. *Clin Exp Allergy* 1993; 23: 354-359.
- Subiza J, Jerez M, Jiménez JA, Narganes MJ, Cabrera M, Varela S, et al. Allergenic Pollen and Pollinosis in Madrid. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 15-23.
- Subiza JL, Subiza J, Barjau MC, Rodríguez R, Gavilán MJ. Inhibition of the seasonal IgE increase to *Dactylis glomerata* by daily sodium chloride nasal-sinus irrigation during the grass pollen season. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 711-712.
- Subiza E, Subiza J, Jerez M. Árboles, hierbas y plantas de interés alergológico en España. En: Basomba A. et al eds. Tratado de Alergología e Inmunología Clínica. Vol IV. Madrid, SEAIC-Lab Bayer, 1986:257-366.
- Weber RW. Cross-reactivity among pollens. *Ann Allergy* 1981; 46: 208-215.
- Bush RK. Aerobiology of pollen and fungal allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84: 1120-1124.
- Thomas WR. Grass under scrutiny. *Clin Exp Allergy* 1991;21:255-257.
- Stewart GA. Pollens and allergic disease: do not overlook your own backyard. *Clin Exp Allergy* 1993; 23: 537-541.
- Subiza J, Feo Brito F, Pola J, Moral A, Fernández J, Jerez M, et al. Pólenes alergénicos y polinosis en 12 ciudades españolas. *Rev. Esp. Alergol Inmunol* 1998; 13: 45-58.
- Subiza J, Masiello JM, Subiza JL, Jerez M, Hinojosa M, Subiza E. Prediction of annual variation in atmospheric concentrations of grass pollen. A method based on meteorological factors and grain crop estimates. *Clin Exp Allergy* 1992; 22: 540-546.
- Fuentes JL. Apuntes de meteorología agrícola. Madrid. Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación. 1983.
- Font Tullot I. Climatología de España y Portugal. Madrid: Instituto Nacional de Meteorología, 1983.
- Davies RR, Smith IP. Forecasting the start and severity of the hay fever season. *Clin Allergy* 1973; 3: 263-267.
- Antepara I, Fernandez JC, Gamboa P, Jauregui I, Miguel F. Pollen allergy in the Bilbao area (European Atlantic seaboard climate): pollination forecasting methods. *Clin Exp Allergy* 1995; 25: 133-140.
- Connell JT. Quantitative intranasal pollen challenges. 3. The priming effect in allergic rhinitis. *J Allergy* 1969; 43: 33-44.
- Prieto L, Bertó JM, Lopez M, Peris A. Modifications of PC20 and maximal degree of airway narrowing to methacholine after pollen season in pollen sensitive asthmatic patients. *Clin Exp Allergy* 1993; 23: 172-178.
- Solomon WR, Burge HA, Muilenberg ML. Allergen carriage by atmospheric aerosol. I. Ragweed pollen determinants in smaller micronic fractions. *J Allergy Clin Immunol* 1983; 72: 443-447.
- Agarwal MK, Swanson MC, Reed CE, Yunginger JW. Airborne ragweed allergens: association with various particle sizes and ragweed plants parts. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73: 157.
- Spieksma FThM, Kramps JA, Van Der Linden AC, Nikkels BH, Plomp A, Koerten HK, et al. Evidence of grass-pollen allergenic activity in the smaller micronic atmospheric aerosol fraction. *Clin Allergy* 1990; 30: 273-280.
- Rantio-Lehtimäki A, Viander M, Koivikko A. Airborne birch pollen antigens in different particle sizes. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 23-28.
- Cabrera M, Martínez-Cocera C, Boluda L, Tejada J, Subiza JL, Subiza J, et al. Appearance of grass pollen aeroallergens in the ambient air of Madrid, Spain. *J Allergy Clin Immunol* (submitted).
- Muilenberg ML, Skellenger WS, Burge HA, Solomon WR. Particle penetration into the automotive interior. I. Influence of vehicle speed and ventilatory mode. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 581-585.
- Morrow Brown H. Grass juice is an allergen as well as grass pollen. *Proc. 14th Congr. Eur. Acad. Allergol. Clin. Immunol. Berlin. Allergologie* 1988; B 1366 E: 23.
- Fernandez-Caldas E, Bandele EO, Dunnette SL, et al. Rye grass cross-reacting allergens in leaves from seven different grass species. *Grana* 1992; 31: 157-159.
- Subiza J, Subiza JL, Hinojosa M, Varela S, Cabrera M, Marco F. Occupational asthma caused by grass juice. *J Allergy Clin-Immunol* 1995; 96: 693-695.
- Bryant RH, Emberlin JC and Norris-Hill J. Vertical variation in pollen abundance in North-Central London. *Aerobiologia* 1989; 5: 123-137.
- Cimarra M, Martínez Cócera C, Las Heras P et al. Concentración de polen atmosférico de Madrid. Estudio comparativo de tres años. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1987; 2: 7-10.
- Ickovic MR. The French aerobiological monitoring network: Two years of clinical experience (1986-1987). *Aerobiologia* 1988; 4: 12-15.
- Rinitis, conjuntivitis En: Sastre J et al. eds. Alergológica. Madrid, SE-AIC-Lab. Alergia e Inmunología Abelló. 1994: 63-79.
- Subiza J, Rodríguez R, Ginés L. Poaceae. En: Subiza J. y col. eds. Atlas de aerobiología y polinosis Madrid, SEAIC Lab Schering-

D. Barber

ALK-Abelló, S.A. Madrid.

Gramíneas: alergenos y reactividad cruzada

Las gramíneas conforman una familia de plantas angiospermas ampliamente distribuidas en áreas geográficas de clima templado. Su abundancia, alrededor del 50% del polen ambiental es de gramíneas, hace que sean las causantes de gran parte de las patologías alérgicas respiratorias.

La familia *Pooideae* que incluye diferentes tribus (Tabla I), es la que abarca un mayor número de especies de interés alergológico. El *Cynodon dactylon* o grama común, abundante en zonas subtropicales, es tal vez la única gramínea de interés alergológico no incluida en la subfamilia *Pooideae*.

Antes de abordar en detalle la descripción de los alergenos de gramíneas, merece la pena empezar por estudiar los mecanismos de exposición y sensibilización al polen.

Según los últimos trabajos publicados¹, el grano de polen que, con un diámetro superior a 20 μm no alcanzaría las vías respiratorias bajas, al hidratarse libera un aerosol de partículas de pequeño tamaño (0,6-2,5 μm). Cada grano libera aproximadamente 700 gránulos de almidón que llevan asociados los alergenos del polen y que son las responsables de la sensibilización y posterior clínica del paciente.

La respuesta del sistema inmune se dirigiría a estas superestructuras y los alergenos reconocidos serían bien los más abundantes, bien los más inmunogénicos. La liberación de estos aerosoles alergénicos puede realizarse directamente en la mucosa del paciente o en el ambiente y ser posteriormente inhalados.

Un alergeno mayoritario puede definirse en base a la prevalencia de reconocimiento en una población o por porcentaje de IgE específica total dirigida frente al mismo en una población.

Está claro que para que un alergeno sea clínicamente relevante debe darse una elevada prevalencia y título de IgE específica al mismo.

Según estudios realizados², los patrones de sensibilización en una población pueden depender del nivel de exposición. Niveles de exposición elevados implican una mayor prevalencia de alergenos menores, mientras que con niveles bajos, los alergenos mayores son los de mayor potencial sensibilizante.

A medida que aumenta el número de alergenos reconocidos en un polen, se incrementa la posibilidad de sensibilización a panalergenos y la aparición de fenómenos de reactividad cruzada (pólenes o alimentos).

En general los alergenos mayores suelen ser específicos, mientras que los alergenos minoritarios incluyen diversos panalergenos. Dado que los alergenos mayores suelen ser por un lado los más abundantes en un extracto y por otro los más prevalentes, los sistemas de estandarización tanto a nivel diagnóstico como terapéutico, estarán dirigidos a los mismos, lo que podría ser un hecho significativo en el fracaso terapéutico en pacientes polisensibilizados.

Vamos a describir cuáles son los alergenos caracterizados en gramíneas, centrándonos especialmente en los mayoritarios y en aquellos implicados en reacciones cruzadas.

ALERGENOS DE GRAMÍNEAS

En la Tabla II se resume el conocimiento actual de los alérgenos de gramíneas donde las especies *Lolium perenne* y *Phleum pratense* han sido las más estudiadas. Se han identificado hasta 12 subfamilias de alérgenos en el conjunto de las gramíneas.

De los alérgenos descritos nos vamos a centrar en aquellos de especial relevancia clínica, dos alérgenos mayoritarios específicos de gramíneas (grupo 1 y 5) y dos panalérgenos asociados a reacciones cruzadas (grupo 7 y 12).

ALERGENOS MAYORES (GRUPO 1 Y 5)

Según se muestra en la Tabla II, entre el 80% y el 90% de los pacientes alérgicos a gramíneas presentan IgE específica a estos alérgenos. Además, en ensayos de inhibición de fijación de IgE, cada uno por separado provoca una inhibición próxima al 50%, mientras que la mezcla de los dos inhibe más del 80%³.

Grupo 1:

Los alérgenos del grupo 1 constituyen un conjunto de glicoproteínas relacionadas y de peso molecular comprendido entre 27 y 35 kDa.

La homología entre especies próximas es elevada, así Lol p 1 presenta una homología del 91% con Phl p 1. La identidad de secuencia con especies más distantes es menor, así Cyn d 1 presenta únicamente una homología próxima al 50% con Lol p 1. Este hecho unido a la aparente ausencia de grupo 5 en *Cynodon*, hace que existan patrones específicos en alergia a *Cynodon*.

Funcionalmente los alérgenos del grupo 1 pertenecen a la familia de las β -expansinas, enzimas que catalizan el crecimiento de las paredes celulares de la planta, y que muestran dominios catalíticos similares a los de la familia C1 de cisteinil proteasas. La implicación de la hipotética actividad proteolítica, similar a los alérgenos del grupo 1 de ácaros, en la alergenidad de la molécula no está demostrada⁴. Otros autores han cuestionado incluso la existencia de esta actividad proteolítica⁵ en base a ensayos funcionales.

Estudios realizados sobre Zea m 1 sugieren la implicación de los alérgenos en el crecimiento del tubo polínico. A diferencia de las poco abundantes α -expansinas, los alérgenos del grupo 1 presentan una elevada concentra-

ción, solubilidad y una interacción débil con las paredes celulares, lo que favorece su biodisponibilidad y por lo tanto su alergenidad⁶.

Alérgenos del grupo 5

A diferencia del grupo 1, los alérgenos del grupo 5 parecen ser exclusivos de la subfamilia de las *Pooideae*. Su tamaño molecular es ligeramente superior al grupo 1 (28-40 kDa) y no presentan glicosilaciones. Presentan actividad RNAsa y se sugiere su implicación en mecanismos de defensa⁷.

Una de las características más relevantes del grupo 5 es la elevada presencia de isoalérgenos. El alérgeno ha sido ampliamente estudiado en el caso del *Phleum*, donde está compuesto de dos grupos separados de isoalérgenos Phl p 5a y Phl p 5b, de pesos moleculares aparentes de 31 kDa y 28 kDa, respectivamente. La variabilidad de los isoalérgenos en una especie similar a la existente entre distintas especies. Aunque a nivel de capacidad de fijación de IgE no se han encontrado diferencias significativas entre isoalérgenos, hay estudios que indican diferentes reconocimientos a nivel de células T⁸.

Este hecho debe ser considerado en el diseño de alternativas terapéuticas basadas en el empleo de alérgenos recombinantes.

Como en el caso del grupo 1, la concentración en el grano de polen es elevada y se asocia débilmente a partículas de almidón en aerosoles producidos tras la hidratación del polen, lo que justifica su alergenidad.

PANALERGENOS DE GRAMÍNEAS

De los alérgenos descritos en gramíneas, como ya se ha señalado, hay dos grupos: grupo 12 (profilinas) y grupo 7 (proteínas ligantes de calcio) que presentan elevada reactividad cruzada con alérgenos de otras especies vegetales.

En general, una molécula panalérgica es una molécula con una funcionalidad esencial cuya estructura, bien parcial o totalmente, se ha mantenido prácticamente inalterada en el proceso evolutivo. Esto hace que se mantengan epítomos comunes en distintas especies y que exista un reconocimiento inmunológico por parte de moléculas IgE dirigidas inicialmente frente a una molécula distinta. Las diferencias estructurales hacen que la afinidad de esta IgE pueda variar entre las distintas moléculas y se cree puede ser un factor fundamental en el paso del reconocimiento molecular a la implicación causal de sintomatología alérgica.

Tabla I. Familia *Pooideae*

Familia	Subfamilia	Tribu	Género	Especie	Nombre común
Gramineae	Pooideae (Festucoideae)	Poeae (Festuceae)	<i>Lolium</i>	<i>perenne</i>	Centeno silvestre
			<i>Dactylis</i>	<i>glomerata</i>	Caracolillo
			<i>Festuca</i>	<i>pratensis</i>	Cañuela
		Agrostidae	<i>Poa</i>	<i>pratensis</i>	Espiguilla
			<i>Phleum</i>	<i>pratense</i>	Hierba timotea
			<i>Alopecurus</i>	<i>pratense</i>	Cola de zorro
			<i>Agrostis</i>	<i>alba</i>	Rastrero
		Aveneae	<i>Avena</i>	<i>sativa</i>	Avena
			<i>Holcus</i>	<i>lanatus</i>	Heno-lanota
			<i>Antioxanthum</i>	<i>odolatum</i>	Gramade color
			<i>Phalariss</i>	<i>acuatica</i>	Hierba canaria
			<i>Arrenatherum</i>	<i>elatius</i>	Avenilla
			<i>Trisetum</i>	<i>flavescens</i>	Falsa avena
		Triticeae	<i>Triticum</i>	<i>sativum</i>	Trigo
			<i>Secale</i>	<i>cereale</i>	Centeno
			<i>Hordeum</i>	<i>vulgare</i>	Cebada
		Arundinae	<i>agropyrom</i>	<i>cristatum</i>	Grama de boticas
		Phalarideae	<i>Phragmites</i>	<i>communis</i>	Carrizo
Bromeae	<i>Anthoxantum</i>	<i>odoratum</i>	Grama de olor		
Chloridoideae	Chlorideae	<i>Bromus</i>	<i>inermis</i>	Espiguillas	
	Andropogoneae	<i>Cynodon</i>	<i>dactylon</i>	Grama común	
Panicoideae	Maydeae	<i>Sorghum</i>	<i>helepnse</i>	Sorgo	
		<i>Zea</i>	<i>mays</i>	Maíz	

PROTEÍNAS LIGANTES DE CALCIO

Las proteínas ligantes de calcio constituyen una superfamilia de proteínas presente tanto en el reino vegetal como el animal. Se clasifican en 32 subfamilias que pueden tener desde 2 hasta 8 dominios de unión de calcio (dominios EF). Éstos, con una estructura muy conservada, consisten en una hélice α , un "loop" de unión del ión Ca^{2+} y una segunda hélice α . Presentan una conformación, y por tanto una capacidad antigénica, diferente en presencia o ausencia de Ca^{2+} .

Se han descrito proteínas ligantes de calcio como alérgenos en numerosos pólenes (abedul, aliso, olivo,...). En gramíneas el Phl p 7 y Cyn d 7 son los alérgenos más estudiados. La prevalencia de reconocimiento es baja (entre el 10% y el 20% de la población alérgica a gramíneas). A pesar de su baja incidencia, en la población sensibilizada parece ser un alérgeno muy importante clínicamente y responsable de reactividad cruzada con otros pólenes.

En un trabajo publicado recientemente, estudiando varios alérgenos de la familia en una población polisensibilizada⁹, identifican a Phl p 7 como el sensibilizante primario, siendo este alérgeno capaz de inhibir totalmente la fijación de IgE a los otros alérgenos, pero no al revés.

El papel de este alérgeno puede ser más importante; la existencia de proteínas humanas homólogas podría desencadenar enfermedades autoinmunes con IgE específica dirigida contra las mismas y explicar cuadros clínicos como dermatitis atópicas severas¹⁰.

Podríamos pues interpretar la sensibilización a estas proteínas como un factor de riesgo adicional para el paciente o un factor de severidad en la sensibilización.

PROFILINAS

La regulación del ensamblaje de filamentos de actina es una función esencial en todos los seres vivos. Igual que en el caso de las proteínas ligantes de calcio, hay una superfamilia de proteínas denominadas profilinas presentes en prácticamente todos los sistemas biológicos.

De hecho, existe homología entre profilinas vegetales y humanas¹¹, y en modelos transgénicos las profilinas vegetales pueden sustituir funcionalmente a las animales.

El mecanismo exacto de control de la polimerización de la actina por parte de las profilinas no se conoce totalmente, pero los sistemas biológicos a los que se les han

Tabla II. Alérgenos de gramíneas

Gramínea	Nombre alérgeno	Función biológica	Mr (kDa)	Secuencia	Prevalencia IgE (%)
<i>Cynodon dactylon</i>	Cyn d 1		31-32	C	87
	Cyn d 7	Unión calcio	12	C	10
	Cyn d 12	Profilina	14	C	20
<i>Dactylis glomerata</i>	Dac g 1		32	P	75
	Dac g 2		11	C	45
	Dac g 3		14	C	60
	Dac g 5		31	P	+
<i>Holcus lanatus</i>	Hol l 1		34	C	67
	Hol l 5		30	C	64
<i>Hordeum vulgare</i>	Hor v 5		30	C	+
<i>Lolium perenne</i>	Lol p 1		35	C	87
	Lol p 2		11	C	63
	Lol p 3		11	C	63
	Lol p 5		28-32	C	85
	Lol p 10	Citocromo C	12	P	-
	Lol p 11	Inhibidor tripsina	16	C	65
<i>Oryza sativa</i>	Ory s 1		35	C	+
<i>Phalaris aquatica</i>	Pha a 1		34	C	77
	Pha a 5		31-33	C	42
<i>Phleum pratense</i>	Phl p 1		27	C	96
	Phl p 2		10-12	C	60
	Phl p 4		55	P	56
	Phl p 5	Ribonucleasa	32-38	C	80
	Phl p 6	Partícula P asociada	13	C	75
	Phl p 7	Unión de calcio	6-8,6	C	10
	Phl p 12	Profilina	14	C	20
	Phl p 13	Poligalacturonasa	55-60	C	50
	<i>Poa pratensis</i>	Poa p 1		33	P
Poa p 5			28-34	C	90
Poa p 10		Citocromo C	12	P	-
<i>Sorghum halepense</i>	Sor h 1		35	C	+
<i>Zea mays</i>	Zea m 1	Expansina	17-33	C	+
	Zea m 12	Profilina	14	C	+

eliminado los genes que codifican las profilinas, presentan graves deficiencias en la formación y división celular¹².

A diferencias de las proteínas ligantes de calcio, sólo encontradas en el polen, las profilinas muestran una elevada presencia también en tejidos de almacenamiento, y por tanto son responsables de reacciones cruzadas entre pólenes y alimentos¹³.

La importancia de la profilina para la funcionalidad del polen ha sido demostrada por Vidali et al¹⁴, al probar que la polimeración de la actina es esencial para el crecimiento del tubo polínico.

Como en el caso anterior, la prevalencia de sensibilización a profilina en pacientes alérgicos a gramíneas es baja (alrededor del 20%). La sensibilización inhalatoria a profilinas es un factor de riesgo para el desencadenamiento de gran número de alergias alimentarias.

OTROS ALERGENOS Y EPÍTOPOS

En la Tabla II se enumeran diversos alérgenos adicionales descritos en gramíneas. Los datos de prevalencia y relevancia clínica no están claramente establecidos, siendo a veces contradictorios. En algunos casos estos alérgenos podrían ser fragmentos o variantes de los dos grupos mayores.

Además de la presencia de panalérgenos, la IgE dirigida contra epítomos de carbohidratos es una causa de reactividad cruzada, determinada por la existencia de residuos de fucosa y xilosa no presentes en carbohidratos de mamíferos. Aunque la existencia de IgE específica correactiva ha sido claramente demostrada, la relevancia clínica de ésta sigue siendo objeto de controversia¹⁵.

FUTURO DEL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

El convencimiento de la importancia del patrón molecular de sensibilización en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento del paciente alérgico, junto con la disponibilidad de diagnósticos moleculares específicos, hará que en un futuro próximo se produzcan avances clínicos significativos en el tratamiento etiológico de la alergia.

La elucidación de los mecanismos subyacentes en la inmunoterapia específica¹⁶, en los que continuamente se producen avances significativos, permitirá diseñar estrategias terapéuticas para los distintos patrones de sensibilización y disminuirán por lo tanto el riesgo de fracaso terapéutico existente en la actualidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Taylor PE, Flagan RC, Valenta R, Glovsky MM. Release of allergens as respirable aerosols: A link between grass pollen and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 51-56.
2. Rodríguez R, Villalba M, Monsalve RI, Batanero E. The spectrum of olive pollen allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2001; 125: 185-195.
3. Van Ree R, van Leeuwen WA, Aalberse RC. How far can we simplify in vitro diagnostics for grass pollen allergy?: A study with 17 whole pollen extracts and purified natural and recombinant major allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102:184-190.
4. Grobe K, Becker WM, Schlaak M, Petersen A. Grass group I allergens (β -expansins) are novel, papain-related proteinases. *Eur J Biochem* 1999; 263: 33-40.
5. Li LC, Cosgrove DJ. Grass group I pollen allergens (β -expansins) lack proteinase activity and do not cause wall loosening via proteolysis. *Eur J Biochem* 2001; 268: 4217-4226.
6. Cosgrove DJ. Cell wall loosening by expansins. *Plant Physiol* 1998; 118: 333-339.
7. Bufe A, Schramm G, Keown MB, Schlaak M, Becker WM. Major allergen Phl p Vb in timothy grass is a novel RNase. *FEBS Lett* 1995; 363: 6-12.
8. Würtzen P, Wissenbach M, Ipsen H, Bufe A, Arned J, van Neerven RJ. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 115-122.
9. Tinghino R, Twardosz A, Barletta B, Puggioni EM, Iacovacci P, Butteroni C, et al. Molecular, structural, and immunologic relationships between different families of recombinant calcium-binding pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 314-320.
10. Valenta R, Natter S, Seiberler S, Grote M. Isolation of cDNAs coding for IgE Autoantigens: A link between atopy and autoimmunity. *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 113: 209-212.
11. Valenta R, Duchêne M, Breitenbach M, Pettenburger K, Koller L, Rumpold H, et al. A low molecular weight allergen of white birch (*Betula verrucosa*) is highly homologous to human profilin. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1991; 94: 368-370.
12. Rothkegel M, Mayboroda O, Rohde M, Wucherpfennig C, Valenta R, Jockusch BM. Plant and animal profilins are functionally equivalent and stabilize microfilaments in living animal cells. *Journal of Cell Science* 1996; 109: 83-90.
13. Kazeni-Shirazi L, Pauli G, Purohit A, Spitzauer S, Fröschl R, Hoffmann-Sommergruber K, et al. 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.
14. Vidali L, McKenna ST, Hepler PK. Actin polymerization is essential for pollen tube growth. *Mol Biol Cell* 2001; 12: 2534-2545.
15. Van Ree R. Carbohydrate epitopes and their relevance for the diagnosis and treatment of allergic diseases. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 129: 189-197.
16. Akdis CA, Blaser K. Immunologic mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Adv Exp Med Biol* 2001; 495: 247-259.

M. Cabrera Sierra

Tres Cantos. Madrid

Cuantificación de alérgenos atmosféricos de gramíneas y su correlación con los recuentos de pólenes

Se ha demostrado que los síntomas de los pacientes sensibilizados a pólenes se correlacionan con el respectivo recuento de granos. Sin embargo, diferentes estudios han confirmado la presencia de actividad alérgica aerovagante fuera del periodo de polinización. Por ello, se ha sugerido que el recuento de pólenes no contempla el total de la exposición alérgica. Este hecho indica que existen otras fuentes de alérgenos además de los granos de polen, pudiendo constituir una carga alérgica relevante. Madrid tiene un corto pero intenso periodo de poli-

Tabla I.

Fuente	Ref.
Reactividad cruzada entre pólenes relacionados o no taxonómicamente	(6)
Contribución de otras partes de la planta como hojas y tallos	(2,7)
Gránulos de almidón procedentes de granos de polen liberados en condiciones de humedad tras su ruptura	(8)
Orbículos procedentes del revestimiento de las anteras	(9)
Alérgenos transportados en los mismos granos de polen	(3)
Alérgenos transportados por partículas formadas de forma el natural en ambiente (microgotas de agua)	(3)
Alérgenos transportados por partículas de la contaminación	(10)

nización en el cual, el 79% del total de granos de pólenes de gramíneas son liberados entre el 15 de mayo y el 15 de junio. Se ha cuantificado por primera vez en España y durante todo un año la actividad alérgica de *Trisetum panicum*, gramínea endémica del área de Madrid, encontrando su presencia antes, durante y después del periodo de polinización. Este hecho debe tenerse en cuenta a la hora de valorar a los pacientes e instaurar el tratamiento en esta región. Los métodos inmunoquímicos para valorar la exposición alérgica tienen en cuenta la contribución de alérgenos con reactividad cruzada y otras fuentes de alérgenos en partículas micrónicas.

Las técnicas de muestreo cuantitativo de granos de polen nos ha llevado a conocer mejor la distribución e importancia clínica de estos alérgenos naturales. A pesar de que generalmente se relaciona el comienzo y la gravedad de las manifestaciones alérgicas respiratorias con la aparición y persistencia en el aire de los diferentes tipos de pólenes, un parámetro mucho más relevante es conocer la cantidad real de alérgeno presente en la atmósfera en un momento determinado.

El significado clínico de pequeñas partículas portadoras de alérgenos de plantas ha generado un debate importante en los últimos años. La existencia de estas partículas alérgicas se ha demostrado para diversos grupos de plantas incluyendo la ambrosía¹, el quercus², las gramíneas³ y las betuláceas⁴. Estas pueden ser detectadas antes de la estación de pólenes y pueden persistir después de la polinización, contribuyendo de manera importante a la carga total de alérgenos, habiéndose descrito en un estudio⁵, que durante el pico de ambrosía casi el 50% del total de alérgenos podía estar asociado a partículas más pequeñas que los granos de polen. Estas se encuentran dentro de las dimensiones respirables de tal manera que pueden penetrar profundamente en la vía aérea y provocar

una crisis de asma. Sin embargo, poco se sabe sobre la prevalencia de estas partículas en la atmósfera, su variación geográfica y temporal y su composición química detallada. De forma similar, su origen exacto es desconocido pero se han propuesto varios mecanismos, interviniendo como variables la climatología, el hábitat y la polución (Tabla I).

En los últimos años, uno de los campos más atractivos de investigación básica en alergología es el relacionado con la técnicas de muestreo y detección inmunoquímica de pequeñas partículas en la atmósfera para la cuantificación de su actividad alérgica, con el fin de conocer la carga total de alérgenos frente a la cual están expuestos los pacientes sensibilizados y para el desarrollo de un método rápido y asequible que pueda ser aplicado rutinariamente para complementar la información del recuento de polen. Esto es especialmente importante en los días húmedos cuando el recuento de polen no da una buena indicación del contenido alérgico del ambiente.

Para la cuantificación de la actividad alérgica de estas pequeñas partículas aerogantes, se utilizan colectores de alto volumen con un flujo de aire constante. Estos pueden estar equipados con un impactador en cascada, capaz de seleccionar las partículas en diferentes rangos de tamaño de acuerdo a su diámetro aerodinámico. Los impactadores utilizan una superficie colectora, generalmente filtros. Otros utilizan un buffer líquido que permite obtener el material captado en forma de eluido desde un principio. Tras el periodo de captación, los eluidos extraídos

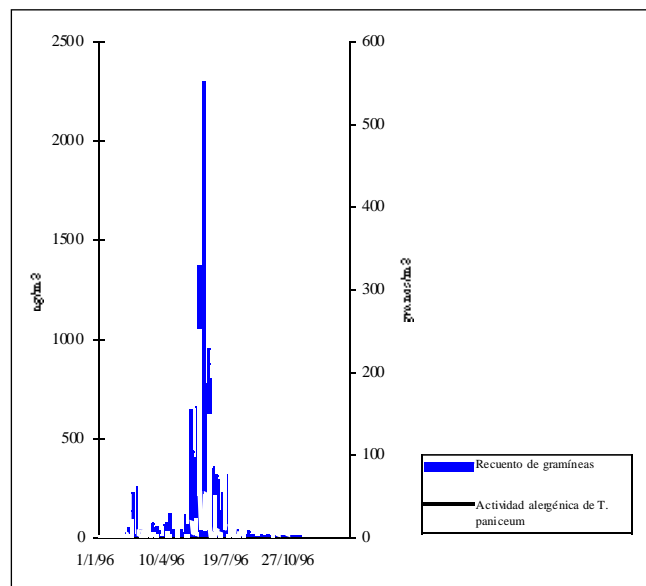


Fig. 1. Actividad alérgica de *T. paniceum* Vs granos de gramíneas. Madrid, 1996.

de estos medios son estudiados mediante métodos inmunológicos para la cuantificación de alérgenos.

Se han determinado algunas relaciones básicas entre las concentraciones de polen y alérgenos en pequeñas partículas y los efectos de los factores meteorológicos sobre los anteriores¹¹. En este estudio se detectó actividad alérgica en todos los tamaños de rango de partícula estudiados (>7,2, 2,4-7,2 y <2,4 μm), sin existir correlación de estos estratos con el recuento de pólenes. Respecto a los granos de polen, se observó que durante los días pico, los factores determinantes son la temperatura y la humedad relativa. Antes del periodo de polinización, la actividad alérgica fue importante en el estrato más pequeño de partícula. Los factores meteorológicos, no afectaron la presencia de las partículas más pequeñas las cuales se mantienen aerovivientes, mientras que la lluvia mediante el efecto de barrido, elimina a las de mayor tamaño. El 52% y 30% del total de la actividad alérgica correspondió al rango de partícula <2,4 μm y >7,2 μm respectivamente. La aparición del rango <2,4 μm fue posterior al pico de granos de polen. Las partículas <1 μm se vieron afectadas por la temperatura antes de la polinización, lo que hace pensar que el calentamiento de la planta propicia la liberación de material antigénico antes de este periodo. Respecto a la presencia de lluvias, se encontró una correlación positiva con estas últimas, dando soporte a la teoría del transporte en microgotas de agua.

En Madrid de forma casi típica, el 79% del total de gramíneas totales se recolecta desde mediados de mayo a mediados de junio debido a las características climatológicas del centro de España. Esto ofrece una gran oportunidad para valorar la carga de aeroalérgenos dependientes de gramíneas fuera de la estación, en una geografía donde los pólenes de gramíneas representan la causa más importante de alergia respiratoria (64% rinoconjuntivitis, 52% asma)¹². Por métodos inmunológicos, en un reciente estudio¹³, se detectó la presencia de alérgenos de *Trisetum paniceum* durante todo un año y se establecieron correlaciones con el respectivo recuento de granos de gramíneas. Esta es la única gramínea que vegeta en abundancia en esta región y produce un polen de diámetro pequeño, los más abundantes en Madrid (30 μm). Se observó un aumento de la actividad alérgica antes, durante y después del periodo de polinización, con dos picos de alérgenos, uno a finales de mayo de 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ y otro en julio de 1,9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ como se observa en la Fig. 1. Otros estudios han demostrado resultados similares¹⁴. Estos hallazgos, indican que la relación entre estas dos variables no es tan obvia

como podría pensarse. Ambos recuentos se solapan pero existe un decalaje consistente entre ellos, fenómeno verificado mediante el estudio estadístico de series temporales¹³. Esto podría explicar el decalaje de síntomas de rinitis y de asma en los pacientes con polinosis en Madrid y la persistencia de títulos altos de IgE total durante todo el año. Además, estos resultados dan soporte a la hipótesis que se plantea sobre el efecto de la presencia de alérgenos de gramíneas fuera del periodo de polinización sobre el estado de inflamación subclínica de la vía aérea en pacientes polínicos sensibilizados a gramíneas en periodos aparentemente libres de alérgenos, como lo confirman recientes estudios que apoyan la presencia de estímulos fuera de estación en los pacientes sensibilizados a pólenes¹⁵. Estos hallazgos deben tenerse en cuenta a la hora de valorar clínicamente a los pacientes y para establecer el tratamiento más adecuado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agarwal MK, Swanson MC, Reed CE, Yunginger JW. Airborne ragweed allergens: association with various particle sizes and short ragweed plant parts. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 74: 687-693.
2. Fernández-Caldas E, Swanson MC, Pravda J, Welsh P, Yunginger JW, Reed CE. Immunochemical demonstration of red oak pollen aeroallergens outside the oak pollination season. *Grana* 1989; 28: 205-209.
3. Spielsma FThM, Nikkels AH, Dijkman JH. Seasonal appearance of grass pollen allergen in natural pauci-micronic aerosol of various size fractions. Relationship with airborne grass pollen concentration. *Clin Exp Allergy* 1995; 25: 234-239.
4. Schäppi GF, Suphioglu C, Taylor PhE, Knox RB. Concentrations of the major birch tree allergen Bet v 1 in pollen and respirable fine particles in the atmosphere. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 656-661.
5. Solomon WR, Burge HA, Muilenberg ML. Allergen carriage by atmospheric aerosol. I. Ragweed pollen determinants in smaller micro-nic fractions. *J Allergy Clin Immunol* 1983; 72: 443-447.
6. Montero MT, López C, Jiménez A, Subiza J. Characterization of allergens from *Trisetum paniceum* pollen: an important aeroallergen in Mediterranean continental climatic areas. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 1442-1448.
7. Subiza J, Subiza JL, Hinojosa M, Varela S, Cabrera M, Marco F. Occupational asthma caused by grass juice. *J Allergy Clin Immunol* 1995 Nov; 96(5 Pt 1): 693-695.
8. Suphioglu C, Singh MB, Taylor P, Bellomo R, Holmes P, Puy R, Knox RB. Mechanism of grass-pollen-induced asthma. *Lancet* 1992; 339: 569-572.
9. Vinckier S, Smets E. The potential role of orbicules as a vector of allergens. *Allergy* 2001; 56: 1129-1136.
10. Knox RB, Suphioglu C, Taylor P, Desai R, Watson HC, Peny JL, et al. Major grass pollen Lol p 1 binds to diesel exhaust particles: implications for asthma and air pollution. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 246-251.

11. Pehkonen E, Rantio-Lehtimäki A. Variations in airborne pollen antigenic particles caused by meteorologic factors. *Allergy* 1994; 49: 472-477.
12. 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.
13. Cabrera M, Martínez-Cocera C, Fernández-Caldas E, Carnes Sánchez J, Boluda L, Tejada J, et al. *Trisetum paniceum* (wild oats) pollen counts and aeroallergens in the ambient air of Madrid, Spain. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 128: 123-129.
14. Holmquist L, Vesterberg O. Luminescence immunoassay of pollen allergens on air sampling polytetrafluoroethylene filters. *J Biochem Biophys Methods* 1999; 41: 49-60.
15. Smurthwaite L, Walker SN, Wilson DR, Birch DS, Merrett TG, Durham SR, et al. Persistent IgE synthesis in the nasal mucosa of hay fever patients. *Eur J Immunol* 2001; 31: 3422-3431.

F. Feo Brito

Sección de Alergología.
Complejo Hospitalario. Ciudad Real.

Aerobiología y polinosis por Oleáceas

Las Oleáceas (*Oleaceae*) constituyen una familia de gran interés para el hombre, porque a ella no sólo pertenece el "olivo" (*Olea europaea*), sino también numerosos representantes de importancia en jardinería, como los "jazmines" (*Jasminum officinale* y *J. primulinum*); los "aligustres" (*Ligustrum lucidum* y *L. vulgare*, un arbusto a menudo utilizado para la formación de setos); las "lilas" (*Syringa vulgaris*) y los "fresnos", estos últimos árboles del género *Fraxinus* (*Fraxinus excelsior*, *F. angustifolia*, *F. ornus*) muy apreciados también por su madera dura y elástica¹.

Se incluyen en las Oleáceas 30 géneros y cerca de 600 especies distribuidas de forma universal y con un mayor predominio en los países cálidos, estando ausentes en las regiones más frías del Hemisferio Boreal. Son angiospermas, es decir plantas con flores, del grupo de las dicotiledóneas, que polinizan normalmente por medio de insectos, lo que les permite ahorrar granos de polen y reducir a dos el número de estambres.

El olivo comenzó a cultivarse hace unos 5.000 años en el Mediterráneo Oriental, propagándose rápidamente a lo largo de toda la costa, de Este a Oeste, a través de Grecia, Sur de Italia/Norte de Túnez y Marsella; alcanzando finalmente la Península Ibérica, y convirtiéndose en el cultivo oleaginoso por excelencia de las civilizaciones mediterráneas. El descubrimiento de América llevó este cultivo a Perú, Chile y Colombia, desde donde se extiende a Estados Unidos, proliferando con éxito en Florida y California.

El olivo es un árbol rústico, muy resistente los calores y la sequía, características adecuadas a todo el Sur Peninsular; lo cual, unido al alto aprovechamiento del terreno y bajo coste de su explotación, le convierten en el cultivo por excelencia de amplias zonas de Andalucía, Castilla La Mancha o Extremadura, con su máxima expresión en la provincia de Jaén, cuya extensión de olivares equivalen al conjunto de toda Grecia²⁻⁴.

Existe una importante reactividad cruzada entre los distintos géneros de las Oleáceas, siendo con mucho el más abundante y alergénico la *Olea europaea*, cuyas amplias extensiones de cultivo le convierten en una destacada causa de polinosis⁵⁻⁷. Así, en Bari el 54% de la superficie cultivada se corresponde a olivares, alcanzando días pico de 4.000 granos/m³ de aire, y afectando al 80% de los pacientes polínicos. El olivo, al igual que sucede con otras plantas, muestra una gran variabilidad interanual; sin embargo, en este caso, parece producirse una cierta alternancia en la polinización/producción. Se refiere a la competencia por las sustancias nutritivas de la planta entre las fru-

tas de una temporada y las flores de la temporada siguiente, y que tendría como consecuencia una alternancia en la producción: un rendimiento alto de flores y frutas se alterna con otro bajo en pólenes y producción⁸. En Toledo y Ciudad Real apreciamos una alternancia similar a la mostrada por Machia en Bari; no obstante, la lluvia estacional o la inestabilidad atmosférica (vientos/calmas) son también factores muy determinantes en las cantidades de polen recolectado⁹. Asimismo, en nuestra zona hemos comprobado la alta capacidad aerovagante del polen de olivo, alcanzando concentraciones tan elevadas en los primeros días de Mayo (650 granos/m³ de aire), como cuando llegan los días álgidos de su polinización local (finales de mayo-primeros de junio). Estos reactivos niveles de polen de olivo coinciden con días húmedos y vientos del Sur, que desplazan las esporas desde las vecinas provincias olivareras de Jaén y Córdoba¹⁰.

Además de la clara relevancia alergénica del olivo, presentan también cierto interés como desencadenantes de rinitis y/o asma, otros dos géneros de esta familia, como son *F. excelsior* (fresno) y *L. vulgare* (aligustre). El fresno alcanza niveles muy bajos durante los meses de invierno e inicio de primavera (media semanales máximas de 8-12 granos/m³ de aire), por lo que su interés alergológico es discreto, limitándose a leves síntomas óculo-nasales en días secos y soleados de marzo-abril¹¹. Similar implicación clínica tiene el aligustre, habiendo demostrado Cariñanos¹² en Córdoba su escasa capacidad aerovagante, llegando a recolectar hasta 98 granos/m³ de aire mediante colector situado a 1,5 m de altura, y en medio de una línea de aligustres; mientras que, en el colector habitual (a 15 m de altura), los picos máximos oscilaban entre 2-6 granos m³ de aire. Su polinización después del olivo puede verse beneficiada por el efecto "priming" de éste, provocando sintomatología a pesar de su escasa presencia atmosférica.

POLINIZACIÓN DE OLIVO

En nuestro país la polinización de olivo se prolonga durante los meses de abril a julio, con niveles máximos entre la segunda quincena de mayo y primera de junio, favorecidos por el incremento de las temperaturas al final de la Primavera¹³. Durante la última década (1994-2003) el Comité de Aerobiología ha llevado a cabo el estudio de pólenes atmosféricos en las diferentes ciudades peninsulares (27), muy representativas de las quince Comunidades Autónomas. En lo que respecta al polen de olivo, y como cabía esperar, encontramos diferencias muy claras en las

distintas zonas analizadas, destacando el sur peninsular con medias de "día pico" muy elevadas: Jaén (13.489 granos/m³), Toledo (3.766), Ciudad Real (845), Málaga (793), Sevilla (650), Albacete (421), Alcázar de San Juan (408); valores moderados en Badajoz (347), Elche (338) y Madrid (313); una incidencia más discreta en Valencia (164), Murcia (162), Salamanca (158), Barcelona (153), Zaragoza (129); y, valores muy bajos en el resto: Ávila (72), San Sebastián (74), Bilbao (53), Vitoria (53), Logroño (43), Burgos (42), Pamplona (36), Valladolid (22), Pontevedra (21), Oviedo (17), Santander (9) y A Coruña (7).

POLINOSIS DE OLIVO

Conocidos los niveles o concentración de esporas en las distintas ciudades, el paso siguiente es evaluar la incidencia de sensibilización a polen de olivo, en los pacientes con alergia estacional. La importancia de estos datos nos ha llevado a realizar dos estudios multicéntricos de polinosis. En 1995 se realizó el primero de ellos, con la participación de doce centros sanitarios, y cuyos resultados expresaron la alta prevalencia (superior al 80%) de sensibilización a olivo en las provincias olivareras (Sevilla, Málaga, Ciudad Real, Toledo), llegando a alcanzar el 97% de los pacientes en Jaén; valores igualmente altos en Logroño (62%), Madrid (61%) y Zaragoza (61%); y, los más bajos en A Coruña (25%) y Bilbao (4%). En general, nos encontramos que el olivo provoca sensibilización en la mayoría de los pacientes polínicos, incluso en ciudades con bajos o muy escasos niveles de polen, como son Zaragoza, Logroño o A Coruña¹⁴.

El segundo estudio de polinosis, llevado a cabo en la presente temporada (2002-03) y realizado en trece ciudades, ratifica nuevamente el alto grado de polinosis por Oleáceas en el sur peninsular, destacando Ciudad Real (87% de polínicos sensibilizados a olivo), Badajoz (70%), Sevilla (68%), Toledo (58%) y Madrid (57%). Pero, al igual que el estudio anterior, se mantiene una notable incidencia en la mitad norte peninsular, como es el caso de Zaragoza (49%), Logroño (39%), Barcelona (38%), Burgos (36%), Vitoria (23%), A Coruña (23%); y, valores bajos, en la cornisa cantábrica (Bilbao 16%, Santander 5%).

UMBRALES DE REACTIVACIÓN

En el estudio de alergia a pólenes es importante identificar las plantas de la zona, los pólenes anemófilos

recolectados y su capacidad sensibilizante. Una vez conocidos los pólenes de interés alergológico en nuestra provincia, es conveniente determinar su relación con los síntomas de las personas alérgica a pólenes. Con esta finalidad se realizó, por el Comité de Aerobiología, un proyecto para determinar los umbrales de reactivación en pacientes polínicos. Durante doce meses (octubre-97-octubre-98) se incluyen en Ciudad Real a 81 pacientes con clínica estacional durante los meses de primavera-verano, con la siguiente distribución según sensibilización: 50,7% gramíneas+ olivo; 30,1% monosensibles a gramíneas, y 19,2% monosensibles a olivo; además, el 25% están sensibilizados a Quenopodiáceas (ninguno monosensible). Utilizando regresión lineal para estudio de correlación entre síntomas y calendario de pólenes, se obtienen los siguientes resultados:

Siendo la primera variable polen de olivo de forma independiente, se obtiene una $R^2 = 0,32$; y, para pólenes de gramíneas, el valor $R^2 = 0,41$ (igualmente significativo $p < 0,05$). El análisis bivariante (olivo y gramíneas) sube el valor de $R^2 = 0,58$.

El estudio de interacción entre ambos pólenes también es significativo con un valor $R^2 = 0,61$.

- Estableciendo la capacidad predictiva del modelo durante los meses de mayo y junio, se obtienen los siguientes resultados:

Durante el mes de Mayo obtenemos un valor de $R^2 = 0,55$ (inferior a la interacción de ambos pólenes). En el mes de Junio se obtiene una $R^2 = 0,81$, indicando una relación muy estrecha entre niveles de pólenes y síntomas de los pacientes.

- La mayoría del los pacientes monosensibles a olivo se reactivan con medias semanales de 153 granos/ m^3 de aire al inicio de la estación polínica, bajando hasta 34 granos/ m^3 en su finalización (segunda quincena de junio).

Estos datos nos indican que en Ciudad Real el polen de olivo tiene una destacada participación en la polinosis epidémica, presentando una correlación estadísticamente significativa con los síntomas de los pacientes. Esta relación se ve interferida por la polinización de las gramíneas, que alcanzan sus niveles máximos en la misma época (50% pacientes alérgicos a ambos pólenes). Asimismo, esta correlación entre pólenes/síntomas es mucho más alta en la segunda parte de la estación polínica (junio), que en su inicio (mayo); y, bajando el umbral de reactivación de 153 granos/ m^3 en mayo, hasta 34 granos/ m^3 en junio. La baja correlación en el mes de mayo probablemente se debe a la variabilidad individual en el umbral de reactivación;

pero una vez se ha inducido la respuesta alérgica, el umbral se reduce por el efecto "priming"¹⁵, y los síntomas tienen una relación más estrecha con los niveles de pólenes (olivo, gramíneas) durante el mes de Junio. Una evolución similar se ha observado en la península Escandinava, con los pacientes alérgicos a *Betula* (umbral de reactivación baja de 80 a 30 granos/ m^3 , entre el inicio/finalización de la estación)¹⁶.

Sin embargo, el umbral de reactivación resulta ser mucho más elevado cuando los pacientes se exponen a cantidades extremadamente elevadas de polen, como ha descrito Florido en la ciudad de Jaén, donde se precisan 400 granos/ m^3 para reactivar a la mayoría de los pacientes¹⁷. Aunque este aspecto podría estar también relacionado con peculiaridades botánicas; o por una mayor tolerancia, genéticamente determinada, como se ha descrito en Israel¹⁸.

Se precisan más estudios de concentración de pólenes/síntomas, para determinar la implicación clínica de los diferentes pólenes alérgicos en cada ciudad, pero estos datos sugieren que el polen de olivo puede inducir sensibilizaciones subclínicas en muchos pacientes, según su lugar de residencia. Además, el perfil antigénico de los distintos olivares puede ser muy variable, por lo que niveles más bajos de polen pueden reactivar a los pacientes en zonas antigénicamente más reactivas¹⁹.

Igualmente, se ha descrito que la alergia a *Olea europaea* es más frecuente entre las mujeres (70% en nuestra serie), predominando el asma sobre la rinitis; y, el aspecto más interesante, la persistencia de clínica perenne entre los pacientes alérgicos a polen de olivo²⁰. Los altos niveles de polen en las comarcas olivareras podrían prolongar la exposición de los pacientes fuera de la estación polínica, como sucede durante los meses de diciembre-enero, en las tareas de recolección. Pero este fenómeno se presenta también en zonas con baja concentración de polen, lo cual sugiere que los antígenos de olivo no están implicados en este proceso; y, parece relacionarse más con la respuesta de los enfermos a otros desencadenantes del asma bronquial (contaminantes ambientales, cambios meteorológicos, infecciones víricas, irritantes inespecíficos, etc.), que serían los responsables de la clínica persistente en el resto de las estaciones. No obstante, el perfil clínico de los pacientes monosensibles, y su vinculación a síntomas perennes, requiere estudios en diferentes áreas que nos permitan alcanzar una explicación a este fenómeno, exclusivo del polen de olivo.

ALERGENOS

La respuesta inmunológica al extracto completo de polen de olivo es muy heterogénea, destacando entre sus alergenios *Ole e 1*, proteína glicosilada que se comporta como epitopo alergénico en aproximadamente el 62% de los pacientes^{21, 22}. La profilina del olivo (*Ole e 2*) se detecta en el 24% de los casos y tiene identidad con la profilina de abedul²³. El *Ole e 3* corresponde al grupo de proteínas que se unen al calcio (procalcinas), y su capacidad de fijación de IgE alcanza hasta el 50% en áreas con alta densidad de olivares²⁴. Otro alergenio con elevada capacidad de unión IgE es *Ole e 4* (80%), de 32 kDa, y sin homología con otras proteínas conocidas. Más limitada es la fijación IgE de *Ole e 5* (35%), que presenta una alta homología con la superóxido dismutasa de varias plantas (espinaca, maíz, tomate)²⁵. Muy variable es la detección de *Ole e 6* en pacientes alérgicos a polen de olivo, oscilando entre el 10-55%, y siendo más frecuente en zonas muy olivareras, como es la provincia de Jaén²⁶. Igualmente variable es la fijación IgE de *Ole e 7*, que presenta homología con las proteínas transportadoras de lípidos, y más frecuente en los pacientes de Jaén (60%) que Madrid (20%)²⁷. Otro alergenio de la familia de los ligantes de calcio es *Ole e 8* (como *Ole e 3*), que además se detecta en el alergenio mayoritario de *Juniperus oxicedrus* (*Jun o 2*), por lo que podría contribuir a la presencia de reactividad cruzada entre ambos taxones polínicos. Finalmente, el alergenio más reciente de polen de olivo es *Ole e 9*, una β -1-3- glucanasa de 45 kDa, que alcanza el 65% de fijación IgE en las personas alérgicas a polen de olivo, y que también podría estar implicada en la reactividad cruzada con otros alergenios vegetales (p. e.: látex, plátano)²⁸.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto ha sido financiado por el Instituto de Ciencias de Salud de Castilla La Mancha como Grupo Consolidado de Investigación en Salud (GC 02022).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Devesa JA. Plantas con semillas. En: Izco J, Barreno E, Brugués M et al. Botánica. McGraw-Hill-Interamericana, S. A. U. Eds. Madrid, 1998; 525-31.
2. Florido JF. Alergia a polen de olivo. Aspectos clínicos y epidemiológicos. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1994; 9: 33-54.

3. Peralta V. Alergia a polen de olivo. Aerobiología y antigenicidad. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1994; 9: 33-54.
4. Chaparro A, Conde J. Estudio y comentarios de las estaciones mediterráneas costeras. En: XIV Congreso Nacional de la SEA. Madrid: Alergia e Inmunología Abelló, 1984: 44-50.
5. D'Amato G, Mullins J, Nolard N, Spieksma F. M. Wachter R. City spore concentrations in the European Economic Community (EEC). VII. Oleaceae (*Fraxinus*, *Ligustrum*, *Olea*). Clinical Allergy 1988; 18: 541-547.
6. D'Amato G, Lobefalo G. Allergenic pollens in the southern Mediterranean area. J Allergy Clin Immunol 1989; 83: 116-122.
7. Negrini AC, Arobba D. Allergenic pollens and pollinosis in Italy: recent advances. Allergy 1992; 47: 371-379.
8. Macchia L. Allergenic significance of Oleaceae pollen. In: D'Amato G, Spieksma F. Th. M, Bonini S. eds. Allergenic pollen and pollinosis in Europe. London: Blackwell Scientific Publications, 1991: 87-93.
9. Domínguez E, Infante F, Galán C, Guerra F, Villamandos F. Variations in the concentrations of airborne pollen associated pollinosis in Córdoba (Spain): A study of the 10-year period 1982-91. J Invest Allergol Clin Immunol 1993; 3: 121-129.
10. Feo Brito F, Galindo Bonilla PA, García Rodríguez R, Gómez Torrijos E, Fernández Martínez F, Fernández-Pacheco R, et al. Pólenes alérgicos en Ciudad Real: Aerobiología e incidencia clínica. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1998; 13: 79-85.
11. Guerra F, Galán C, Daza JC, Miguel R, Moreno C, González J, Domínguez E. Study of sensitivity to the pollen of *Fraxinus* spp. (Oleaceae) in Córdoba (Spain). J Invest Allergol Clin Immunol 1995; 5: 166-170.
12. Cariñanos P, Alcázar P, Galán C, Domínguez E. Privet pollen (*Ligustrum* sp.) as potential cause of pollinosis in the city of Córdoba, south-west Spain. Allergy 2002; 57: 92-97.
13. Subiza E, Subiza J, Jerez M. Árboles, hierbas y plantas de interés alergológico en España. En: Basomba A. et al eds. Tratado de Alergología e Inmunología Clínica. Vol. IV. Madrid SEAIC-Lab Bayer. 1986: 257-366.
14. Subiza J, Feo Brito F, Pola J, Moral A, Fernández J, Jerez M, et al. Pólenes alérgicos y polinosis en 12 ciudades españolas. Rev Esp Alergol Inmunol Clin, 1998; 13: 45-63.
15. Connell JT. Cuantitativa intranasal pollen challenge. II Effect of daily pollen challenge, environmental pollen exposure, and placebo challenge on the nasal membrane. J Allergy 1968; 41: 123-139.
16. Koiviko A, Kupius R, Makinen Y, Pohjola A. Pollen seasons: forecasts of the most important allergenic plants in Finland. Allergy 1986; 41: 233-242.
17. Florido JF, González P, Saenz de San Pedro B, Quiralte J, Arias JM, Peralta V, et al. High levels of *Olea europaea* pollen and relation with clinical findings. Int Arch Allergy Immunol 1999; 119: 133-137.
18. Geller-Bernstein C, Arad G, Keynan, N, Lahoz C, Cardaba B, Wisel Y. Hypersensitivity to pollen of *Olea europaea* in Israel. Allergy 1996; 51: 356-359.
19. Conde Hernández J, Conde Hernández P, González Quevedo MT, Conde Alcañiz E, Conde Alcañiz EM, Crespo Moreira P, et al. Antigenic and allergenic differences between 16 different cultivars of *Olea europaea*. Allergy 2002; 57: 60-65.
20. Liccardi G, Kordash TR, Russo M, Noschese P, Califano C, D'Amato M. Why are nasal and bronchial symptoms mostly perennial in patients non-sensitized to *Olea europaea* pollen allergens?. J Invest Allergol Clin Immunol 1996; 6: 371-377.
21. Villalba M, Batanero E, López-Otín C, Sánchez LM, Monsalve RI, González de la Peña MA, et al. The amino acid sequence of *Ole e 1*, the major allergen from olive tree (*Olea europaea*) pollen. Eur J Biochem 1993; 216: 863-869.

22. Batanero E, Crespo JF, Monsalve IR, 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: 147-153.
23. Ledesma A, Rodríguez R, Villalba M. Olive-pollen profilin. Molecular and immunological properties. *Allergy* 1998; 53: 520-526.
24. 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 Ca-binding proteins (polcalcins) involved in allergy. *Eur J Biochem* 1998; 258: 454-459.
25. 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: 210-216.
26. 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: 293-296.
27. 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: 797-802.
28. Rodríguez R, Villalba M, Batanero E, González EM, Monsalve RI, Huecas S, et al. Allergenic diversity of the olive pollen. *Allergy* 2002; 57: 6-16.