

Universidad Católica de Santa María
Escuela de Postgrado
Maestría en Ciencias Biomédicas



**“DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA
PRIMARIA Y TERCIARIA DE LAS PROFILINAS
VEGETALES QUE PRESENTAN REACTIVIDAD
CRUZADA CON MAYOR FRECUENCIA.”**

Tesis presentada por la Bachiller:

Mixcan Martínez, Cristal Danae

Para optar el Grado Académico de:

Maestro en Ciencias Biomédicas

Asesor:

Gomez Valdez, Badhin

Arequipa-Perú

2018



**BOLETA DE NOMBRAMIENTO DE JURADO DICTAMINADOR Nro. 232 DE
BORRADOR DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO**

Arequipa 09 de enero del 2018

Sr. Dr. Hugo Tejada Pradell.

Director de la Escuela de Postgrado de la UCSM.

De mi consideración:

En concordancia al Reglamento de Graduación de MAESTRO de la EPG-UCSM. Cumpló con emitir dictamen favorable al Borrador de Tesis titulada: "DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA PRIMARIA Y TERCIARIA DE LAS PROFILINAS VEGETALES QUE PRESENTAN REACTIVIDAD CRUZADA CON MAYOR FRECUENCIA " Presentado por el magister:

MIXCAN MARTINEZ, Cristal Danae.

Expediente Nro. 20170000054780

Para optar el Grado Académico de MAESTRO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

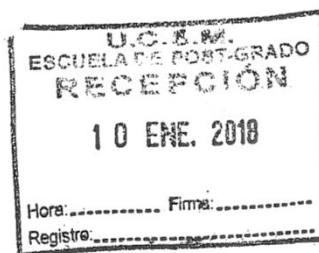


Dr. Hugo Tejada Pradell

Docente-Dictaminador

Arequipa 10 de enero 2018

Señor Dr. Hugo Tejada
Director de la Escuela de Postgrado
Universidad Católica de Santa María
Presente



De mi especial consideración:

Cumplo con hacer llegar el dictamen del proyecto de tesis doctoral titulado: "Determinación de la estructura primaria y terciaria de las profilinas vegetales que presentan reactividad con mayor frecuencia" presentado por la Ingeniera Cristal Danae Mixcan

LISTA DE VERIFICACIÓN PARA EL DICTAMINADOR

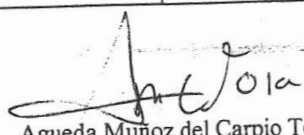
Partes del proyecto	RESULTADO DE LA EVALUACIÓN DEL DICTAMINADOR				
	Estándar de calidad	Si cumple	Cumple Parcialmente	No cumple	Observaciones
1. Título	-El título debe ser claro y específico. -Contiene la variable evaluada	X X			
2. Autor	-Considera los nombres y apellidos del autor	X			
3. Enunciado del problema	-El Enunciado del problema es claro y específico -Está redactado en forma declarativa o interrogativa -Tiene relación el título del proyecto	X X X			
4. Descripción del problema	-Demuestra un adecuado manejo y conocimiento del problema de investigación -Responde ¿Qué se sabe del tema? -Responde ¿Qué tipo de respuestas brindarán al estudio?	X X X			
5. Variables	-Detalla cuáles son las variables - Contiene la definición conceptual de las variables -Contiene la definición operacional -Presenta completa y adecuadamente la tabla de Operacionalización de variables.	X X X X			
6. Justificación	-Desarrolla una adecuada justificación del proyecto -Responde ¿Por qué es importante la pregunta de la investigación?	X X			
7. Marco conceptual	-Desarrolla una adecuada revisión teórica del tema elegido -Desarrolla variables del estudio -Contiene las referencias bibliográficas -Las citas están redactadas en estilo Vancouver -Puede haber sospecha de copias literales	X X X X			No existe sospecha de copias literales
8. Antecedentes	- Incluye un adecuado y actualizado análisis del	X			

bibliográficos	estado del arte del tema. - Incluye artículos nacionales - Incluye artículos internacionales - La bibliografía es actualizada. - La estructura de los antecedentes contiene: Título, Autor, Lugar y año de publicación, Resumen - Contiene citas bibliográficas en estilo Vancouver	X X X X X X			
9. Objetivos	- Los objetivos están redactados con claridad - Los objetivos son alcanzables - Los objetivos son pertinentes al tema - Utiliza verbos en infinitivo	X X X X			
10. Hipótesis	- Está formulada de manera clara, y como proposiciones - Se sugiere una respuesta al tema	X X			
11. Técnica de estudio	- Detalla que técnicas se van a utilizar	X			
12. Instrumento recojo de datos	- Indica documento mediante el cual se tomarán los datos	X			
13. Materiales	- Detalla todos los materiales de escritorio, de laboratorio de campo u otros a utilizar dentro del proyecto.	X			
14. Unidades de estudio	- Especifica los sujetos de estudio. - Especifica los criterios de inclusión - Especifica los criterios de exclusión - Indica las características de la muestra que se van a medir	X X X X			
15. Cronograma	- Especifica las fechas probables de cada etapa de la investigación	X			
16. Referencias Bibliográficas	- Respeta el orden de aparición de las citas. - Están redactadas en estilo Vancouver. - Las referencias están entre 15 a 30 - Las referencias no tienen más de 10 años de antigüedad	X X X X			
17. Anexos:	Contiene: - Instrumento utilizado para recolección de datos	X X			

RESULTADO DE EVALUACIÓN DE PROYECTO DE TESIS

DICTAMEN FINAL	Aprobado	Aprobado
	(X)	()

DICTAMINADORA


Agueda Muñoz del Carpio Toia
Jurado Evaluador

INFORME

A: Dr. Hugo Tejada Pradell
Director de la Escuela de Post Grado, UCSM.

DE: Dr. Julio Cesar Bernabé Ortiz
Docente de la Escuela de Post Grado

ASUNTO: Dictamen para el borrador de tesis titulado: DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA PRIMARIA Y TERCIARIA DE LAS PROFILINAS VEGETALES QUE PRESENTAN REACTIVIDAD CRUZADA CON MAYOR FRECUENCIA." con el que pretende optar el grado Académico de MAESTRO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS.

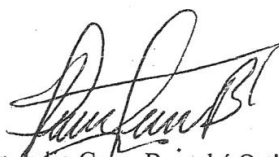
MAESTRISTA: *Mixcan Martinez, Cristal Danae*

FECHA: 11-12-2017

Visto el borrador de Tesis en mención y superada las observaciones realizadas, procede a su aprobación y consecuente dictamen aprobatorio para su sustentacion.

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente.



Dr. Julio Cesar Bernabé Ortiz
Código 1072

RESUMEN

Hasta el día de hoy se conoce que las reactividades cruzadas en las proteínas se deben según la OMS a compartir más del 70% de identidad primaria y la mayoría se describen en especies filogenéticamente cercanas, sin embargo, hay estudios que indican que no solo para tener este tipo de reacción se debe a la estructura lineal de las proteínas sino a la estructura terciaria.

Actualmente solo se han registrado 5 estructuras de profilinas vegetales y con este trabajo se logró modelar por predicción estructural y optimización por dinámica molecular 59 estructuras moleculares teniendo como molde a la proteína 5EM0 de Art v 4 (*Artemisa vulgaris*). Todas las estructuras fueron modeladas por el programa MODELLER y todas pasaron por simulación y dinámica molecular bajo las mismas condiciones a 36.5 °C termostato Nose-Hoover, ensamble NVT, con un campo de fuerza OPLSAA y una trayectoria promedio de 100 ns. Para la validación y análisis de las profilinas estudiadas se usó el servidor gratuito ProSa (validar la estructura de la proteína), Ramachandran (indica las configuraciones permitidas de los aminoácidos), RMSD (cálculo de la estabilidad de la proteína con respecto al tiempo), RMSF (fluctuación de los aminoácidos con respecto al tiempo) y APBS (potencial electrostático para medir las interacciones electrostáticas en medios acuosos).

Con toda esta base de datos generada (59 estructuras) es posible explicar de una forma más consistente la reactividad cruzada de ciertas familias de proteínas vegetales por su estructura y su potencial electrostático. Se espera contribuir con los estudios alérgicos desde un punto de vista *in silico* para luego ser aplicado en las investigaciones prácticas.

Palabras claves: *in silico*, profilinas, reactividad cruzada, modelamiento molecular.

ABSTRACT

To this day it is known that cross reactivities in proteins are due to the WHO to share more than 70% of primary identity and most are described in phylogenetically close species, however, there are studies that indicate that not only to have this type of reaction is due to the linear structure of the proteins but to the tertiary structure.

Currently only 5 structures of plant profilins have been registered and with this work we managed to model molecular structures by structural prediction and optimization by molecular dynamics, having as mold the 5EM0 protein of Art v 4 (*Artemisa vulgaris*). All the structures were modeled by the MODELLER program and all underwent simulation and molecular dynamics under the same conditions at 36.5 ° C Nose-Hoover thermostat, NVT assembly, with an OPLSAA force field and an average trajectory of 100 ns. For the validation and analysis of the profilins studied, the free server ProSa (validating the structure of the protein), Ramachandran (indicates the allowed configurations of the amino acids), RMSD (calculation of the stability of the protein with respect to time), was used. RMSF (fluctuation of amino acids with respect to time) and APBS (electrostatic potential to measure electrostatic interactions in aqueous media).

With all this generated database (59 structures) it is possible to explain in a more consistent way the cross reactivity of certain families of vegetable proteins by their structure and their electrostatic potential. It is expected to contribute to allergenic studies from an *in silico* point of view and then be applied in practical investigations.

Keywords: *in silico*, profilins, cross-reactivity, molecular modeling.

DEDICATORIA

A mi familia: Papá, Mamá, hermanos, sobrinos y Bella.



EPÍGRAFE

“El éxito pasado, no es garantía del éxito futuro”



FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Esta tesis fue financiada por CONCYTEC con el proyecto 138-2015 FONDECYT llamado "ESTUDIO MEDIANTE SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR Y QMMM DE LAS PROFILINAS HUMANAS Y VEGETALES QUE DESENCADENAN REACCIONES ALERGÉNICAS AL POLEN"



INDICE

CAPÍTULO I: Introducción	1
CAPÍTULO II: Marco Teórico	2
I. ASPECTOS GENERALES	3
1.1. Identificación de componentes alérgicos	3
1.2. Grupos de Interés	3
1.3. Clasificadores de Alérgenos	3
II. EL SISTEMA INMUNITARIO Y LA ALERGIA	5
2.1 Las reacciones mediadas por IgE	6
2.2 Las reacciones no mediadas por IgE	7
2.3 La participación de IgG en las alergias	8
2.4 Unión de IgE de componentes alérgicos y no alérgico	10
2.5 Identificación de nuevas moléculas alérgicas	11
2.6 Nomenclatura de alérgeno	11
III. TIPOS DE ALERGÉNNOS	12
3.1 Aeroalérgenos	12
3.2 Contacto	12
3.3 Ocupacionales	13
IV. REACTIVIDAD CRUZADA	13
4. Base Biológica de la Reactividad Cruzada de Alérgenos	14
4.1 Estructuras Primaria y Terciaria de Alérgenos	14
4.2 Panalérgenos	15
4.2.1 La proteína PR-10	16
4.2.2 Proteínas de Transferencia de Lípidos no	18
4.2.3 Profilinas	19
a)Relevancia clínica de la profilina como	21
b)Como alérgeno vegetal-alimentario	23
c)La profilina y alergia al látex de caucho	23
4.3 Epítomos alérgicos	24
V. CAUSAS	25
5.1 Alimentos	25
5.2 Latex	26
5.3 Medicamentos	26
5.4 Polen	27
5.5 Animales	28
5.6 Insectos	29
5.7 Productos de Limpieza	31

5.8 Estrés	31
5.9 Otros factores ambientales	32
VI. DIAGNÓSTICO	32
6.1 Prueba cutánea	32
6.2 Prueba de sangre	33
6.3 La inmunoterapia sublingual basada en tabletas (SLIT)	33
VII. QUIMICA COMPUTACIONAL	34
7.1 Software Bioinformáticos para alérgenos	35
7.2 Los perfiles alérgicos disponibles de fuentes alérgicas	36
CAPÍTULO III: Metodología	39
CAPÍTULO IV: Resultados y Discusiones	41
1- Familia <i>Rosaceae</i>	41
2- Profilinas Estables	54
3- Profilinas Inestables	61
CAPÍTULO V: Bibliografía	70
INDICE DE TABLAS	
Tabla 2.1. Bases de datos que contienen información de la estructura y función de alérgenos	4
Tabla 2.2. Características básicas de la proteína Phl p 12 (polen de hierba)	22
INDICE DE IMÁGENES	
Figura 2.1: Representaciones de la cinta y la superficie sólida del polen de abedul	18
Figura 2.2 Homología entre miembros de la familia nsLTP.	20
Figura 2.3: Estructuras tridimensionales de Phl p 12 (polen de hierba) y Cuc m 2 (melón).	21
Figura 2.4: Representación esquemática donde se muestra 11 componentes del kiwi.	37
Figura 4.1: Estructura de las profilinas vegetales de la familia <i>Rosaceae</i> obtenidas con el programa MODELLER	41
Figura 4.2. Validación de las estructuras modeladas de la familia <i>Rosaceae</i> por el servidor ProSa:	42
Figura 4.3: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Fra a 4 (Fresa)	44
Figura 4.4: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Mal d 4.0102 (Manzana).	45
Figura 4.5: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Pru du	46

4.0101 (Almendra).	
Figura 4.6: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Pru p 4.0101 (Durazno)	47
Figura 4.7: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Pru av 4 (Cereza)	48
Figura 4.8: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Cit s 2 (Naranja)	49
Figura 4.9. Gráfica del RMSD de la familia <i>Rosaceae</i> .	50
Figura 4.10. Gráfica del RMSF de la familia <i>Rosaceae</i> .	51
Figura 4.11. Potencial Electrostático de profilinas de la familia <i>Rosaceae</i>	52
Figura 4.12 Escala de colores para el APBS	53
Figura 4.13. Estructura de las profilinas vegetales más estables entre las 59 estructuras evaluadas por el programa MODELLER	54
Figura 4.14. Validación de las estructuras modeladas que presentaron mayor estabilidad entre las 59 estructuras analizadas por el servidor ProSa:	55
Figura 4.15. Diagrama de Ramachandran para la profilina Amb a 8 (Ambrosia)	56
Figura 4.16. Diagrama de Ramachandran para la profilina Hor v 12 (Cebada)	57
Figura 4.17. Diagrama de Ramachandran para la profilina Tri a 12.0104 (Trigo)	58
Figura 4.18. Gráfica del RMSD de las estructuras modeladas que presentaron mayor estabilidad entre las 59 estructuras analizadas	59
Figura 4.19. Gráfica del RMSF de las estructuras modeladas que presentaron mayor estabilidad entre las 59 estructuras analizadas	60
Figura 4.20. Potencial Electrostático de las profilinas vegetales que mostraron mayor estabilidad	60
Figura 4.21. Estructura de las profilinas vegetales más inestables entre las 59 estructuras evaluadas por el programa MODELLER.	61
Figura 4.22 Validación de las estructuras modeladas que presentaron mayor inestabilidad entre las 59 estructuras analizadas por el servidor ProSa	62
Figura 4.23: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Pho d 2 (Palmera)	63
Figura 4.24: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Gly m 3.0101 (Soya)	64
Figura 4.25: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Cor a 2.0101 (Azafrán)	65
Figura 4.26. Gráfica del RMSD de las estructuras modeladas que presentaron mayor inestabilidad entre las 59 estructuras analizadas	66
Figura 4.27. Gráfica del RMSF de las estructuras modeladas que presentaron mayor inestabilidad entre las 59 estructuras analizadas	67
Figura 4.28. Potencial Electrostático de las profilinas vegetales que mostraron mayor estabilidad	68

ANEXOS		
Anexo 1: Cuadro resumen de las profilinas vegetales		76
Anexo 2: Estructura de las profilinas vegetales		78
Anexo 3: RMSD y RMSF de las estructuras evaluadas		83
CAPÍTULO I: Introducción		1
CAPÍTULO II: Marco Teórico		2
I. ASPECTOS GENERALES		3
1.1. Identificación de componentes alergénicos		3
1.2. Grupos de Interés		3
1.3. Clasificadores de Alérgenos		3
II. EL SISTEMA INMUNITARIO Y LA ALERGIA		5
2.1 Las reacciones mediadas por IgE		6
2.2 Las reacciones no mediadas por IgE		7
2.3 La participación de IgG en las alergias		8
2.4 Unión de IgE de componentes alergénicos y no alergénico		10
2.5 Identificación de nuevas moléculas alergénicas		11
2.6 Nomenclatura de alérgeno		11
III. TIPOS DE ALERGÉNNOS		12
3.1 Aeroalérgenos		12
3.2 Contacto		12
3.3 Ocupacionales		13
IV. REACTIVIDAD CRUZADA		13
4. Base Biológica de la Reactividad Cruzada de Alérgenos		14
4.1 Estructuras Primaria y Terciaria de Alérgenos		14
4.2 Panalérgenos		15
4.2.1 La proteína PR-10		16
4.2.2 Proteínas de Transferencia de Lípidos no		18
4.2.3 Profilinas		19
a)Relevancia clínica de la profilina como		21
b)Como alérgeno vegetal-alimentario		23
c)La profilina y alergia al látex de caucho		23
4.3 Epítomos alergénicos		24
V. CAUSAS		25
5.1 Alimentos		25
5.2 Latex		26
5.3 Medicamentos		26

5.4 Polen	27
5.5 Animales	28
5.6 Insectos	29
5.7 Productos de Limpieza	31
5.8 Estrés	31
5.9 Otros factores ambientales	32
VI. DIAGNÓSTICO	32
6.1 Prueba cutánea	32
6.2 Prueba de sangre	33
6.3 La inmunoterapia sublingual basada en tabletas (SLIT)	33
VII. QUIMICA COMPUTACIONAL	34
7.1 Software Bioinformáticos para alérgenos	35
7.2 Los perfiles alérgenicos disponibles de fuentes alérgenicas	36
CAPÍTULO III: Metodología	39
CAPÍTULO IV: Resultados y Discusiones	41
1- Familia <i>Rosaceae</i>	41
2- Profilinas Estables	54
3- Profilinas Inestables	61
CAPÍTULO V: Bibliografía	70
INDICE DE TABLAS	
Tabla 2.1. Bases de datos que contienen información de la estructura y función de alérgenos	4
Tabla 2.2. Características básicas de la proteína Phl p 12 (polen de hierba)	22
INDICE DE IMÁGENES	
Figura 2.1: Representaciones de la cinta y la superficie sólida del polen de abedul	18
Figura 2.2 Homología entre miembros de la familia nsLTP.	20
Figura 2.3: Estructuras tridimensionales de Phl p 12 (polen de hierba) y Cuc m 2 (melón).	21
Figura 2.4: Representación esquemática donde se muestra 11 componentes del kiwi.	37
Figura 4.1: Estructura de las profilinas vegetales de la familia <i>Rosaceae</i> obtenidas con el programa MODELLER	41
Figura 4.2. Validación de las estructuras modeladas de la familia <i>Rosaceae</i> por el servidor ProSa:	42

Figura 4.3: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Fra a 4 (Fresa)	44
Figura 4.4: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Mal d 4.0102 (Manzana).	45
Figura 4.5: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Pru du 4.0101 (Almendra).	46
Figura 4.6: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Pru p 4.0101 (Durazno)	47
Figura 4.7: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Pru av 4 (Cereza)	48
Figura 4.8: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Cit s 2 (Naranja)	49
Figura 4.9. Gráfica del RMSD de la familia <i>Rosaceae</i> .	50
Figura 4.10. Gráfica del RMSF de la familia <i>Rosaceae</i> .	51
Figura 4.11. Potencial Electrostático de profilinas de la familia <i>Rosaceae</i>	52
Figura 4.12 Escala de colores para el APBS	53
Figura 4.13. Estructura de las profilinas vegetales más estables entre las 59 estructuras evaluadas por el programa MODELLER	54
Figura 4.14. Validación de las estructuras modeladas que presentaron mayor estabilidad entre las 59 estructuras analizadas por el servidor ProSa:	55
Figura 4.15. Diagrama de Ramachandran para la profilina Amb a 8 (Ambrosia)	56
Figura 4.16. Diagrama de Ramachandran para la profilina Hor v 12 (Cebada)	57
Figura 4.17. Diagrama de Ramachandran para la profilina Tri a 12.0104 (Trigo)	58
Figura 4.18. Gráfica del RMSD de las estructuras modeladas que presentaron mayor estabilidad entre las 59 estructuras analizadas	59
Figura 4.19. Gráfica del RMSF de las estructuras modeladas que presentaron mayor estabilidad entre las 59 estructuras analizadas	60
Figura 4.20. Potencial Electrostático de las profilinas vegetales que mostraron mayor estabilidad	60
Figura 4.21. Estructura de las profilinas vegetales más inestables entre las 59 estructuras evaluadas por el programa MODELLER.	61
Figura 4.22 Validación de las estructuras modeladas que presentaron mayor inestabilidad entre las 59 estructuras analizadas por el servidor ProSa	62
Figura 4.23: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Pho d 2 (Palmera)	63
Figura 4.24: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Gly m 3.0101 (Soya)	64
Figura 4.25: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Cor a 2.0101 (Azafrán)	65
Figura 4.26. Gráfica del RMSD de las estructuras modeladas que presentaron mayor inestabilidad entre las 59 estructuras analizadas	66
Figura 4.27. Gráfica del RMSF de las estructuras modeladas que presentaron mayor inestabilidad entre las 59 estructuras analizadas	67

Figura 4.28. Potencial Electrostático de las profilinas vegetales que mostraron mayor estabilidad

68

ANEXOS

Anexo 1: Cuadro resumen de las profilinas vegetales	76
Anexo 2: Estructura de las profilinas vegetales	78
Anexo 3: RMSD y RMSF de las estructuras evaluadas	83



CAPÍTULO I

Introducción

La alergia es una respuesta inmune de hipersensibilidad, con una reacción mal dirigida que se produce después de que el cuerpo ha sido cebado por cierto antígeno conocido como alérgeno y es re-estimulado posteriormente por el mismo antígeno para generar síntomas clínicos como una disfunción transitoria o crónica de órganos. Las enfermedades alérgicas afectan principalmente a la piel y a los tejidos de la mucosa que bajo ciertas condiciones, suelen generar el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.

En las últimas décadas, la prevalencia de las enfermedades alérgicas en los países occidentales ha aumentado a través de la edad, sexo y grupos raciales, cuyos costos anuales de atención médica han aumentado sustancialmente. Algunos especialistas explican que el estudio de las propiedades bioquímicas e inmunológicas de los alérgenos han sido y son de vital importancia, ya que para el diagnóstico de componentes alérgicos pueden ser muy útiles en el tratamiento de algunos pacientes. Sin embargo, existen médicos que aún se sienten insatisfechos con estas pruebas clínicas debido a que los componentes de las pruebas son muy limitadas y generales. Gracias al avance de nuevas tecnologías hoy se puede contar con la bioinformática de alérgenos que es la deconstrucción bioquímica y matemática de los protagonistas de estas reacciones alérgicas, la cual es una herramienta para estudios clínicos a disminuir los tiempos y costos en estas investigaciones.

La OMS considera a la rinitis alérgica y la sinusitis como una de las principales enfermedades respiratorias crónicas en todo el mundo, una de las causas fundamentales de estas enfermedades son las profilinas vegetales que son proteínas con gran homología entre pólenes y vegetales, ocasionando que en los receptores de estos antígenos ocurra una “reactividad cruzada” entre ellos, es importante identificar la reactividad cruzada en el campo clínico para dar un correcto diagnóstico y un rápido tratamiento a las personas que sufren de este tipo de alergias.

Con toda esta base de datos generada (59 estructuras) es posible explicar de una forma más consistente la reactividad cruzada de ciertas familias de proteínas vegetales por su estructura y su potencial electrostático. Se espera contribuir con los estudios alérgicos desde un punto de vista *in silico* para luego ser aplicado en las investigaciones prácticas.

CAPÍTULO II

Marco Teórico

I. ASPECTOS GENERALES

1.1 Identificación de componentes alérgicos

Las pruebas de diagnóstico tradicionales para las alergias utilizan generalmente los extractos naturales que pueden dar lugar a falsos positivos porque contienen pan-alérgenos (epítomos alérgicos que se han mantenido constante en vegetales y animales). Con el fin de mejorar la precisión del diagnóstico y tratamiento, la identificación de alérgenos específicos es imprescindible.^{1,2,3} En los últimos 20 años, el desarrollo de sistemas de clonación y expresión, así como nuevas técnicas en biología molecular e inmunología, propulsaron el descubrimiento y la caracterización de alérgenos. Además, se han identificado varios componentes alérgicos, y actualmente hay más de 100 tipos de componentes alérgicos relacionados disponibles. Además, en términos de inmunoterapia específica, las directrices europeas enfatizan la importancia de tratar a los pacientes con sensibilización multialérgica⁴ con un solo alérgeno dominante, y los ensayos clínicos han confirmado que ciertos alérgenos principales pueden usarse para ambos diagnósticos y para la inmunoterapia específica alérgeno. Curiosamente, este enfoque da como resultado los mismos efectos que la inmunoterapia con un extracto alérgico.^{5,6}

1.2. Grupos de Interés

A la luz de la creciente carga de enfermedades alérgicas, han surgido a nivel mundial grupos como: la Academia Americana de Alergia, Asma e Inmunología; Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica; Organización Mundial de Alergia; y el Colegio Americano de Alergia, todos ellos se han unido para aumentar la comunicación de información sobre alergias y asma a nivel mundial. En el marco de esta colaboración, denominada Colaboración Internacional en Asma, Alergia e Inmunología, se están desarrollando una serie de documentos de consenso denominados “Consenso Internacional ON” (ICON), que sirven como un recurso importante y ayudan a los médicos a manejar diferentes enfermedades alérgicas. Se creó un grupo de

autores para describir la historia natural, la prevalencia, el diagnóstico y el tratamiento de las alergias alimentarias en el contexto de la comunidad mundial.⁷

1.3 Clasificadores de Alérgenos

La prevalencia de las enfermedades alérgicas está en aumento, el uso actual de alérgenos recombinantes para las pruebas de diagnóstico y la inmunoterapia está en alta demanda. La mayoría de los genes alergénicos y secuencias de aminoácidos pueden obtenerse de bases de datos públicas.

El análisis de conglomerados de bioinformática de alérgenos descargados de bases de datos públicas mostró que los alérgenos podrían agruparse en siete u ocho grandes grupos de acuerdo a su distancia de parentesco. Además, se ha demostrado que numerosas fuentes alergénicas y alérgenos principales se pueden condensar en menos representativos y significativos, permitiendo así el uso de un menor número de alérgenos cuando se realizan pruebas de alérgenos y tratamientos de inmunoterapia.

Cuando se evaluó su estructura tridimensional, los alérgenos enteros cayeron interesantemente en siete u ocho clases estructurales, cada una de las cuales contenía componentes estructurales similares. Este resultado probablemente explica por qué síntomas clínicos similares son desencadenados por diferentes alérgenos, esto también es conocido como “reactividad cruzada”.⁸

En la Tabla 2.1 se encuentran todas las bases de datos de alérgenos y secuencias, la tabla también muestra información del contenido y la dirección web acerca de cada base de datos, un ejemplo es la base de datos Allergome (www.allergome.org), donde existen 3089 moléculas alergénicas listadas hasta el 21 de diciembre del 2016. Entre las fuentes alergénicas y las moléculas individuales, aquellas para las que se dispone de una caracterización inmunológica suficiente han sido oficialmente nombradas por el Subcomité de Nomenclatura de Alérgenos de la Organización Mundial de la Salud y de la Unión Internacional de Sociedades Inmunológicas (OMS/IUIS) (www.allergen.org). La búsqueda en la base de datos de los alérgenos designados que son oficialmente reconocidos por el Subcomité de la OMS/IUIS reveló que existen 863 alérgenos que fueron listados hasta el 21 de

diciembre del 2016. En estas bases de datos figuran en la lista 3 categorías Animalia (*Arthropoda*, *Chordata*, *Cnidaria*, *Mollusca*, *Nematoda*) Fungi (*Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Zygomycota*) y Plantae (*Liliopsida*, *Magnoliopsida*, *Pinopsida*).⁹

Tabla 2.1. Bases de datos que contienen información de la estructura y función de alérgenos

Base de datos	Contenido	Dirección web: http://www.+
Especificidad No alérgica *		
GenBank	Secuencia de nucleótidos	ncbi.nlm.nih.gov/genbank/
UniProt	Secuencia de proteínas y función	ebi.ac.uk/uniprot/
European Nucleotide Archive (ENA)	Secuencia nucleotídica	ebi.ac.uk/ena/
Worldwide Protein Data Bank (wwPDB)	Estructura tridimensional de proteínas	wwpdb.org/
Pfam	Estructuras de proteínas y arquitecturas de dominios	pfam.sanger.ac.uk/
MEROP	Peptidasas e inhibidores de la peptidasa	merops.sanger.ac.uk/
Especificidad alérgica		
International Union of Immunological Societies (IUIS) Allergen Nomenclature Subcommittee	Base de datos de todos los alérgenos	Allergen.org

Allergome	Similar a la base de datos IUIS, pero contiene otra información, así como los datos sobre los alérgenos.	allergome.org
AllFam	Una base de datos de alérgenos comisariados sobre la base de la información contenida en Allergome y Pfam	meduniwien.ac.at/allergens/allfam/
Food Allergy Research and Resource Program Allergen Database	Una base de datos de alérgenos relevantes para la industria alimentaria	allergenonline.com
InFormAll	Una base de datos de alérgenos relevantes para la industria alimentaria	allerges.ifr.ac.uk/
Structural Database of Allergenic Proteins (SDAP)	Una base de datos de alérgenos que incluye datos de epítomos, junto con una colección de herramientas bioinformáticas para su análisis	fermi.utmb.edu/
Immune Epitope Database and Analysis Resource	Una base de datos de epítomos de ambos antígenos y alérgenos.	IEDB.org

* Estas bases de datos hacen referencia a conglomerados de referencia cruzada, estructuras y secuencias con datos de alergenidad. ⁷⁷

II. EL SISTEMA INMUNITARIO Y LA ALERGIA

El término alergia se refiere a una respuesta inmune dirigida hacia un alérgeno. Según se define en las directrices patrocinadas por los Institutos Nacionales de Alergia y Enfermedades Infecciosas (NIAID, por sus siglas en inglés) de 2010, la alergia alimentaria es un "efecto adverso para la salud que surge de una respuesta inmune específica que se produce reproduciblemente al exponerse a un alérgeno determinado". Según la Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica (con sus siglas en inglés EAACI), la hipersensibilidad alérgica (con mecanismo inmunológico definido o fuertemente sospechoso) puede clasificarse como mediada por IgE o no mediada por IgE, esta última está asociada con una respuesta específica de células T, como en la dermatitis de contacto.^{10,11}

Las reacciones alérgicas se consideran trastornos multifactoriales, heterogéneos causados por una interacción de factores ambientales y genéticos y pueden expresarse en muchos órganos diferentes (los típicos síntomas alérgicos incluyen asma, rinoconjuntivitis, síntomas gastrointestinales y lesiones cutáneas) y en cualquier grupo de edad.¹²

2.1 Las reacciones mediadas por IgE

El mecanismo mediado por IgE está asociado con la atopia, definida como una tendencia personal o familiar al producir anticuerpos de IgE en respuesta a dosis bajas de alérgenos, generalmente proteínas, y desarrollar síntomas típicos, como asma, rinoconjuntivitis, eczema o dermatitis.¹³ Las enfermedades alérgicas (atópicas) resultan de una interacción entre la susceptibilidad genética individual y la exposición a factores ambientales. Según los estudios en gemelos, la contribución genética a la enfermedad alérgica se ha estimado como más del 50%, con estimaciones de heredabilidad que van desde el 36-79%.¹⁴ Debido a los cambios probables en el medio ambiente, se ha observado un aumento en la prevalencia de alergias en las últimas décadas. Los factores ambientales, en combinación con la predisposición genética de un paciente, pueden contribuir al desarrollo de las llamadas formas extrínsecas de asma o dermatitis atópica, que van acompañadas de sensibilización a factores ambientales y la presencia de

antígenos específicos IgE sérica¹⁵.

Se caracterizan por un inicio agudo de los síntomas generalmente en las 2 horas siguientes a la ingestión o exposición de un alérgeno desencadenante. Las reacciones mediadas por IgE a los alérgenos típicamente involucran la piel, el tracto gastrointestinal y el tracto respiratorio. La sensibilización alérgica se produce cuando los anticuerpos específicos de los alérgenos de IgE (sIgE) son producidos por las células plasmáticas que se han diferenciado de los linfocitos B alérgenos específicos. Los anticuerpos sIgE se unen a la superficie de los mastocitos tisulares y de los basófilos sanguíneos, y al volver a exponerse al alérgeno, las proteínas antigénicas en el alimento se unen y reticulan estos anticuerpos sIgE unidos a la superficie celular, lo que desencadena la liberación de los síntomas, causando mediadores, tales como histamina y leucotrienos. Los sujetos pueden tener sensibilización alérgica (producción de sIgE) a alérgenos alimentarios sin tener síntomas clínicos de una reacción alérgica a la exposición. Por lo tanto, la sensibilización por sí sola no es suficiente para definir la alergia. Una alergia mediada por sIgE requiere tanto la presencia de sensibilización como el desarrollo de signos y síntomas específicos sobre la exposición a ese alérgeno.^{16,17}

2.2 Las reacciones no mediadas por IgE

Para la alergia no mediada por IgE, el mecanismo puede implicar complejos inmunes formados por antígenos alimentarios y anticuerpos contra ellos, tales como IgG, IgM e IgA, así como inmunidad mediada por células. La alergia no mediada por IgE a los alimentos causa una amplia gama de enfermedades de la dermatitis atópica a la enfermedad celíaca. Los estudios sugieren que la alergia alimentaria gastrointestinal no mediada por IgE puede ser una reacción alérgica de tipo no inmediato en la que están involucradas células presentadoras de antígeno, células T, células epiteliales y eosinófilos, pero el mecanismo preciso de la alergia no mediada por IgE sigue siendo esquivo). La rinitis ocupacional inducida por irritantes y no mediada por IgE es causada por la exposición laboral a drogas, polvo de madera, productos químicos, etc., y es diferente de la rinitis ocupacional alérgica, que es una reacción de hipersensibilidad mediada por IgE. La rinitis ocupacional no mediada por IgE

puede deberse al contacto con productos químicos de bajo peso molecular.

18,19

2.3 La participación de IgG en las alergias

Las enfermedades alérgicas se definen generalmente como un grupo de reacciones alérgicas impulsadas por mecanismos IgE dependientes y afectan aproximadamente al 22% de la población mundial. En algunas reacciones alérgicas, los niveles séricos de IgE son normales, lo que sugiere que el mecanismo mediado por IgE puede no ser el único mecanismo que causa trastornos alérgicos. IgG también puede desempeñar un papel en la patogénesis de la alergia. Los papeles de la IgG y el receptor Fc γ R en los seres humanos con enfermedad alérgica sigue estando en estudio, pero la IgG específica para alérgenos podría contribuir a la patogénesis de la alergia. IgG puede interactuar con el receptor Fc-gamma (Fc γ R) en las células presentadoras de antígeno y causar la inducción de la inflamación alérgica. Los estudios demostraron que los ratones deficientes en IgE eran capaces de desarrollar hiperactividad de las vías respiratorias, y la IgG específica pudo haber jugado un papel. Los receptores de IgG humana de alta afinidad Fc γ RIIA y Fc γ RI pueden estar implicados en una respuesta alérgica mediada por IgG y anafilaxis. Se ha informado de que Fc γ RI contribuye a la hipersensibilidad tipo I inducida por IgG2a y anafilaxia sistémica pasiva, mientras que Fc γ RIIB regula negativamente las reacciones de hipersensibilidad en ratones. Además, algunos estudios encontraron aumentos en los anticuerpos IgG específicos de alérgenos en seres humanos después de la inmunoterapia específica. Una de las subclases IgG, IgG4, puede ser capaz de bloquear los antígenos IgE de unión a los mastocitos y, por tanto, inhibir la respuesta alérgica ^{18,20}

Un ejemplo claro de cómo se desarrollan las alergias es el caso de las alergias alimentarias, donde cualquier alimento tiene el potencial de causar sensibilización, los hábitos alimenticios pueden influir en la aparición de anafilaxia inducida por alimentos. En los EE.UU, el maní representa a una de las alergias alimentarias más

frecuentes. Por el contrario, en Noruega, donde el consumo de pescado es alto, se estima que la prevalencia de alergia a los peces es 1 de 1000 adultos e incluso más alta en niños. Los alérgenos alimentarios "emergentes" incluyen frutas tropicales (aguacate, kiwi, pistachos, castañas y nueces), semillas de sésamo, linaza, especias y condimentos. Existen varias razones para esta observación: una disponibilidad más general de frutas y hortalizas frescas, son formas más sofisticadas de procesamiento de alimentos, la introducción de alimentos genéticamente modificados y, por último, una prevalencia creciente de alergia al polen de abedul y látex de caucho natural. De hecho, uno de los mecanismos subyacentes a la aparición de alergia alimentaria de plantas mediada por IgE es la sensibilización por una vía alternativa, como el tracto respiratorio, por el cual los aeroalérgenos procedentes de especies taxonómicamente más o menos relacionadas inducen la síntesis de anticuerpos IgE reactivos cruzados que pueden conducir a alergias cruzadas²¹

Alrededor del 70% de los pacientes alérgicos al polen de abedul (BP) muestran reacciones mediadas por IgE a los alimentos vegetales como la avellana, la manzana, nueces, kiwi, zanahoria, azafrán y soya. Estas alergias alimentarias son una consecuencia de la sensibilización a Bet v 1 y posterior reconocimiento de la IgE y células T con reactividad cruzada a los alérgenos alimentarios homólogos como Cor a 1, Mal d 1, Pru p 1, Api g 4 y Gly m 4. Estos alérgenos poseen alta secuencia e identidades estructurales similares con Bet v 1. Por otra parte, la IgE específica del alérgeno relacionado con Bet v 1 no predice una alergia clínicamente manifiesta. Los factores que determinan el espectro clínico de la alergia alimentaria vegetal asociada a Bet v 1 son en su mayoría desconocido.²²

Los principales alérgenos alimenticios, responsables de la alergia alimentaria severa, son glicoproteínas solubles en agua que tienen pesos moleculares entre 10 y 70 kDa, que son altamente resistentes al procesamiento (por ejemplo, cocción) y a la digestión gastrointestinal (ácido gástrico y proteasas intestinales). Sin embargo, existen excepciones; por ejemplo los homólogos de Bet v 1 son termolábiles y son digeridos en pepsina (proteasa principal del estómago) en cuestión de minutos.¹⁵ En consecuencia, los pacientes que sufren del síndrome de abedul-manzana sólo presentan reacciones que están confinadas a la mucosa oral, ya que el alérgeno

nunca llega a los intestinos en una configuración de unión a IgE. Se han identificado diferentes alérgenos en muchos alimentos, los cuales se han aislado, secuenciado y clonado. Además, se han asignado partes de alérgenos que interactúan con células T y B, denominados epítomos de células T y B, en muchos de estos alérgenos, por ejemplo, b-lactoglobulina, a-lactoalbúmina y caseínas en la leche, ovomucoide en el huevo, parvalbúmina en bacalao, tropomiosina en camarones, etc.²³

2.4 Unión de IgE de componentes alergénicos y no alergénicos

La palabra "alergia" se usa generalmente para indicar la hipersensibilidad de tipo I, que es una reacción inmediata mediada por IgE. Lamentablemente, esto no es suficiente para clasificar una molécula como un "alérgeno real" porque algunas proteínas de unión a IgE no tienen relevancia clínica ya que no causan ningún síntoma alérgico. Por ejemplo, las proteínas vegetales que llevan oligosacáridos unidos a N se reconocen por IgE específica para glicopéptidos, conocidos como determinantes de carbohidratos reactivos cruzados (CCD). La estructura de estos oligosacáridos está al menos parcialmente conservada en una gran variedad de glicoproteínas de plantas e insectos y representa una causa importante del co-reconocimiento por IgE específica de CCD. La profilina Ana c 2, es decir, la bromelaína de la proteasa de la piña, es un ejemplo bien conocido de una glicoproteína que detecta anticuerpos IgE que reconocen específicamente la CCD, esta parece ser una causa muy rara de síntomas alérgicos, pero sin embargo es frecuentemente probado positivo en los análisis de anticuerpos IgE basados en suero. De hecho, se obtienen resultados positivos sobre Ana c 2 cada vez que se prueba un suero de un sujeto que produce IgE específica de CCD. Sin embargo, este resultado positivo es clínicamente irrelevante. Además del Ana c 2, se han descrito muchos otros glicoaérgenos, y la lista incluye Api m 1, Cup a 1, Hor v 17, Ole e 1 y Pla a 2. A diferencia de Ana c 2, se informó que algunos de los anteriormente mencionados pueden causar síntomas alérgicos significativos y por lo tanto, se consideran clínicamente relevantes.^{24, 25}

En el caso de la unión positiva de IgE a un glicoaérgenos, es importante discriminar entre glicopéptidos, reconocidos por IgE específica de CCD, y los

epítomos de proteína asociados a reacciones alérgicas verdaderas. Los epítomos de proteínas de unión a IgE también tienen una relevancia diferente, de hecho, algunos de ellos están asociados a reacciones alérgicas significativas, mientras que otros sólo participan en el co-reconocimiento de IgE mediado por anticuerpos producidos contra una molécula sensibilizante diferente y a veces no tienen efectos clínicos relevantes y no pueden ser considerados alérgenos reales. Este es un aspecto a considerar en el proceso de diagnóstico de la alergia, así como de la validación de alérgenos reales. El perfil alergénico de una fuente alergénica debe incluir sólo alérgenos validados, es decir, proteínas de unión a IgE capaces de inducir síntomas alérgicos. Las proteínas de unión a IgE para las que no se ha demostrado una relevancia clínica no pueden considerarse como componentes del perfil alérgeno de una fuente alergénica.^{25,26}

2.5 Identificación de nuevas moléculas alergénicas

La ruta clásica seguida para identificar una nueva molécula alergénica contenida en un alimento específico comienza con la observación de que uno o más sujetos tienen síntomas alérgicos después de la ingestión de ese alimento. A continuación, el suero de cada sujeto se utiliza para sondear un extracto de proteína obtenido del mismo alimento. La detección y la identificación bioquímica de uno o más componentes reconocidos por la IgE contenida en el suero del sujeto proporcionan la información preliminar sobre nuevas moléculas alergénicas. Una combinación de diferentes metodologías puede ser explotada para lograr este objetivo, tal y como se revisa en la literatura.²⁷

2.6 Nomenclatura de alérgeno

El nombre sistemático de IUIS de los alérgenos, están basados en el nombre como por ejemplo en el caso de la profilina del maíz (*Zea mays*) “Zea m 12”, se usan las tres primeras letras del género “Zea”, sigue el nombre de la especie m (mays) y por último sigue un número “12” que es el número de identificación, en el caso de alérgenos purificados nativos y recombinantes se basa en las tres primeras letras (aunque a veces se usan cuatro letras para

evitar la confusión, como con Cand y Can para *Candida* y *Canis*, respectivamente); del género (por ejemplo, *Dermatophagoides*) combinado con la primera o segunda letra del nombre de las especies (por ejemplo, *pteronyssinus*) y un número arábigo en el orden en que se aisló el alérgeno. Para diferenciar la forma recombinante del nativo, se usan los prefijos r y n, respectivamente, (por ejemplo, rDer p 1, nDer p 1).

Con isoalérgenos, derivados de la misma especie que demuestran más del 67% de identidad de secuencia, se utiliza un sufijo del nombre científico de la especie (por ejemplo, de Amb 1,01 hasta Amb 1,02). Para los isoalérgenos que difieren en unos pocos residuos, se añaden dos dígitos adicionales (por ejemplo, Amb 1,0101). Para identificarlos. Se han caracterizado muchos isoalérgenos, y los estudios indican que estas sutiles diferencias pueden tener efectos alérgicos.^{28,29}

III TIPOS DE ALERGÉENOS

3.1 Aeroalérgenos

Los cambios en los factores meteorológicos pueden afectar la producción de los aeroalérgenos lo cual, a su vez, influye en la prevalencia o gravedad de la enfermedad alérgica vía de sensibilidad y respuesta a las vías mucoides. Por ejemplo, mayores concentraciones de polen en el aire aumentan la posibilidad de sensibilización y exacerbación posterior de la enfermedad. Las exposiciones a concentraciones más altas de aeroalérgenos o proteínas alérgicas pueden conducir a respuestas alérgicas más graves. Considerando que el cambio del uso del suelo puede tener el impacto sobre las cantidades y tipos de polen presentes en cualquier situación como el clima, por tanto, puede desempeñar un papel desencadenante para este tipo de alergias.³⁰

3.2 Contacto

Dermatitis alérgica de contacto (DAC) es cuando el cuerpo desarrolla una reacción inmune a un alérgeno que entra en contacto con el cuerpo. Las sustancias que suelen causar alergia por contacto son en su mayoría químicos que pueden ser usados solos o pueden ser aditivos de sustancias de uso diario

como el lanolin, carba mix, tiosulfato de sodio. Los síntomas de DAC incluyen una erupción cutánea, urticaria, picazón y/o sensación de ardor. Hay otro tipo de dermatitis de contacto llamada dermatitis de contacto irritante, que ocurre cuando se expone a un irritante que daña la piel como pueden ser los ácidos.³¹

3.3 Ocupacionales

Los trabajadores de la salud están expuestos a una gama de agentes de alto y bajo peso molecular que son sensibilizadores alérgicos o irritantes incluyendo limpiadores y desinfectantes, látex de caucho natural y varios medicamentos. Los estudios han demostrado que los trabajadores de este sector están expuestos están en riesgo de rinitis y asma relacionadas con el trabajo (ART). La rinitis relacionada con el trabajo puede preceder al desarrollo de ART y debe ser considerado como un marcador temprano de ART. La prevención de la exposición causal mediante estrategias de control como la eliminación, la sustitución, los controles de ingeniería y la modificación del proceso es la estrategia preferida de prevención primaria para prevenir el desarrollo de enfermedades alérgicas relacionadas con el trabajo.³²

III. REACTIVIDAD CRUZADA

La reactividad cruzada refleja las relaciones filogenéticas entre los organismos. Una relación filogenética da como resultado un alto grado de homología en la estructura primaria de las proteínas (la secuencia de aminoácidos). La alta homología en la secuencia primaria da lugar a estructuras 3D homólogas y, por lo tanto, potencialmente, una reactividad cruzada. Las albúminas séricas de los vertebrados son a menudo reactivas cruzadas³³. Los alérgenos homólogos de hierbas relacionadas filogenéticamente tienden a ser reactivos cruzados, y los anticuerpos IgE frente a los alérgenos de los cacahuetes son a menudo reactivos cruzados con proteínas homólogas en la soya y otras leguminosas.

Sin embargo, desde hace tiempo se conocen como reactividades cruzadas entre organismos mucho más distantes. Algunos de los aspectos más destacados de la historia de las reacciones cruzadas inesperadas en la alergia son la

ambrosía/plátano, que fue reconocido ya en 1970, abedul/ manzana que son Determinantes de Carbohidratos de Reactividad Cruzada (CCD), así como las profilinas de látex/plátano/ aguacate y ácaros/caracoles/camarones.³⁴

4. Base Biológica de la Reactividad Cruzada de Alérgenos

La reactividad cruzada es un fenómeno inmunológico que está influenciado por al menos tres factores: (1) estructura primaria y terciaria del alérgeno, (2) familia de proteínas (Panalérgenos), y (3) epítomos alérgicos.

4.1. Estructuras Primaria y Terciaria de Alérgenos

La similitud entre estructuras primarias y terciarias determina la probabilidad de reactividad cruzada entre los alérgenos. La FAO/OMS predice la probabilidad de reactividad cruzada basado en la identidad de seis o más aminoácidos contiguos o una identidad de secuencia mínima de 35% sobre una ventana de 80 aminoácidos. En particular, las mutaciones puntuales son capaces de inhibir la capacidad de unión a IgE. Las comparaciones de estructuras 3D sugieren que las propiedades conferidas por los pliegues de proteínas en los alérgenos pueden potenciar la inmunogenicidad de proteínas, así como la alergenicidad.³⁵

La distribución de los alérgenos identificados y los datos de reactividad cruzada de la literatura muestra un alto grado de correspondencia. Los alérgenos omnipresentes altamente reactivos como las profilinas y las proteínas de unión al calcio muestran similitudes de secuencia de más del 60% entre miembros de diferentes familias de plantas. Por el contrario, las β -expansinas de hierbas comparten menos del 50% de sus secuencias con homólogos no alérgicos de otras familias de plantas, que no reaccionan de forma cruzada con las expansinas de polen de hierba. Una revisión de similitudes de secuencias entre homólogos alérgicos y no alérgicos de alérgenos de polen muestra que el requisito previo para la reactividad cruzada alérgica es la identidad de secuencia de al menos el 50%. La familia Bet v 1 es la única excepción conocida de esta regla. Los homólogos Bet v 1 con reactividad cruzada sólo comparten el 37-67% de sus secuencias con Bet v 1. Esto puede explicarse por el hecho de que los residuos expuestos a la superficie de

los homólogos Bet v 1 son más conservados que los enterrados, lo que da como resultado mayores niveles de similitud entre superficies comparadas con secuencias enteras.^{36,37}

4.2 Panalérgenos

Además de los alérgenos principales, también se ha demostrado que los alérgenos menores son responsables del reconocimiento cruzado de especies de plantas no relacionadas. Muchos alérgenos menores están implicados en funciones vitales generales y por lo tanto pueden ser ampliamente encontrados desde plantas hasta humanos. Esto da lugar al llamado "panalérgeno" del prefijo griego "pan" significa "todos", haciendo hincapié en la distribución omnipresente de algunas moléculas alérgicas menores a través de la naturaleza. Aunque proceden de organismos no relacionados, tales moléculas funcionalmente relacionadas comparten regiones de secuencia altamente conservadas y estructuras tridimensionales y, por tanto, pueden cumplir los requisitos para el reconocimiento cruzado de IgE. Los panalérgenos conocidos comprenden actualmente sólo unas pocas familias de proteínas, incluyendo, PR-10, profilinas, polcalcinas y proteínas de transferencia de lípidos no específicos (nsLTPs). Las alergias múltiples al polen y las fuentes del alérgico del alimento parecen ser determinadas por la sensibilización a tales alérgenos distribuidos omnipresentemente. De hecho, la polisensibilización a diferentes fuentes alérgicas se observa con más frecuencia en pacientes que muestran profilinas específicas a anticuerpos de IgE. Estos hallazgos pueden ser explicados no sólo por una amplia reactividad cruzada de IgE entre panalérgenos de diferentes fuentes, sino también por la alergenicidad cruzada subyacente a la respuesta de células T a las regiones conservadas de panalérgenos. Esta circunstancia es muy relevante en el manejo de pacientes con alergias múltiples y posiblemente para el desarrollo de múltiples alergias. La exposición inicial a los panalérgenos puede conducir posteriormente la respuesta inmune alérgica hacia los principales alérgenos a través de un mecanismo intramolecular llamado epítopo.^{38,39}

4.2.1 La proteína PR-10

Bet v 1, el alérgeno principal del polen de abedul, fue el primer alérgeno vegetal y la primera proteína alergénica de tipo PR-10 a ser clonada y caracterizada. La arquitectura de proteínas de Bet v 1 comprende una hoja β -antiparalela de siete hilos altamente curvada que abarca una hélice α C-terminal de 25 residuos. La hoja beta y la parte C-terminal de la alfa-hélice larga están separadas por dos alfa-hélices consecutivas que conectan las hebras beta1 y beta2. Todos estos elementos estructurales contribuyen a la formación de una gran cavidad hidrofóbica que penetra toda la proteína y cuya presencia sugiere que Bet v 1 podría funcionar como un portador para múltiples ligandos hidrófobos. La información estructural está disponible para varios alérgenos homólogos de Bet v 1 de los alimentos vegetales (la Figura N°1 muestra algunos ejemplos) y su similitud general ilustra claramente la reactividad cruzada molecular de estas proteínas.⁴⁰

Aunque Bet v 1 contiene una variedad de epítomos de células T diferentes, un epítomo principal de células T localizado en las posiciones 142-156 del residuo de aminoácido C-terminal fue reconocido por células T de 61% de individuos alérgicos al polen de abedul estudiados⁴¹. Esta parte de la molécula comparte semejanzas de secuencia altas con varios alérgenos de polen de árbol relacionados con Bet v 1. La extensión de la reactividad cruzada de células T con los alérgenos alimentarios relacionados con la proteína de la *Betula* también correspondió al grado de similitud de secuencia de los C-terminales de los alérgenos alimentarios con los residuos de aminoácidos 142-156. La capacidad de sensibilización de diferentes homólogos de esta proteína de los alimentos vegetales parece correlacionarse con la presencia de epítomos de células T inmunodominantes. La respuesta IgE específica de Bet v 1 es policlonal y los epítomos se extienden a través de toda la superficie de Bet v 1. Además, el perfil de reconocimiento de IgE de esta proteína PR- es variable y altamente específico del paciente.

Los homólogos de Bet v 1 también se han identificado en una amplia gama de alimentos vegetales. La entidad clínica más frecuentemente observada es causada por anticuerpos IgE que reaccionan de forma cruzada entre sus homólogos como frutos, nueces, semillas y vegetales. Ellos inducen predominantemente síntomas orofaríngeos, síndrome de alergia oral acuñada (OAS). Se han observado reacciones graves a Gly m 4, el homólogo de Bet v 1 de la soya en una subpoblación de individuos alérgicos a Bet v 1. Los pacientes alérgicos a Bet v 1 están en riesgo de adquirir diversas alergias alimentarias y hasta reaccionar a nuevos alimentos sin exposición previa.

La lista de alérgenos alimentarios de plantas a los que reaccionan los individuos alérgicos de Bet v 1 es bastante variada y muy probablemente relacionada con la variación en los patrones de epítomos de IgE individuales descritos. Curiosamente, la mayoría de los alérgenos Bet v 1 reactivos cruzados se encuentran en frutos de las *Rosáceas*, vegetales de las *Apiaceas* o semillas de las *Fabáceas*. Las identidades de secuencias de aminoácidos entre el polen PR-10 seleccionado y los alérgenos vegetales-alimentarios caen entre 38% y 88%. También hay una variedad de alimentos vegetales que contienen homólogos de Bet v 1 con reacciones cruzadas que aún no han recibido una designación de nomenclatura alérgica oficial, incluyendo ciruela, nectarina, higo, mango, caqui, jaca, nuez y garbanzo.³

4.2.2 Proteínas de Transferencia de Lípidos no Específicas (nsLTPs)

Pru p 3 pertenece a la familia de las proteínas no específicas de transferencia de lípidos (nsLTPs), que son los alérgenos frecuentemente involucrados en las reacciones alérgicas inducidas por alimentos en la población adulta del área mediterránea. Los LTP pertenecen a la superfamilia de Prolaminas que incluye varias familias de alérgenos incluyendo los inhibidores de alfa-amilasa, las albúminas 2S y las proteínas de transferencia de lípidos no específicas (nsLTPs). Todos los miembros de la superfamilia

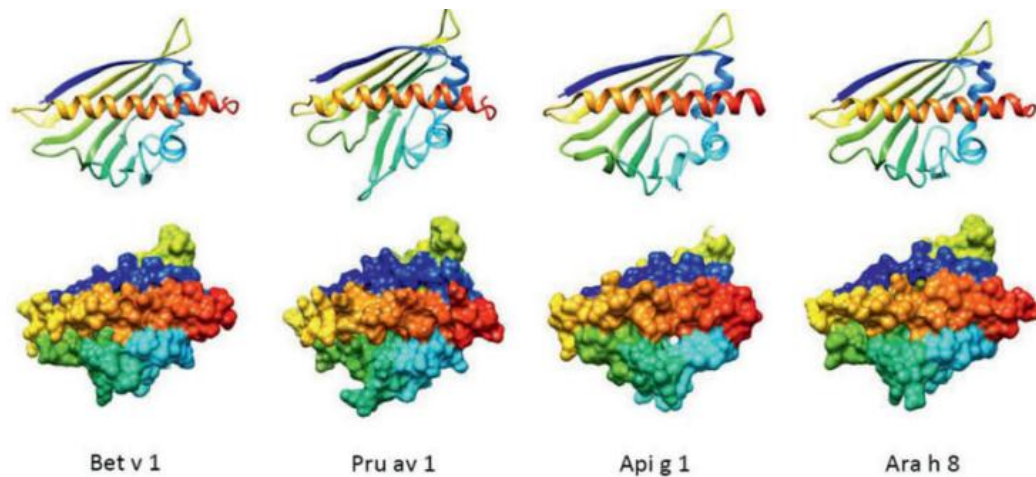


Figura 2.1: Representaciones de la cinta y la superficie sólida del polen de abedul v 1 (PDB 1BV1) y homólogos de la cereza (Pru av 1, PDB 1E09), apio (Api g 1, PDB 2BK0) y el maní (Ara h 8, PDB 4M9B), de color azul en el extremo N-terminal a rojo en el extremo C-terminal. Las imágenes en 3D.³

prolamina comparten el patrón de aminoácidos conservado de ocho residuos de cisteína. En contraste con los otros miembros de la superfamilia, nsLTPs no se limitan a los tejidos de la semilla, pero esta expresada en toda la planta.⁴²

La concentración de nsLTPs es variable y depende de la madurez, condiciones de almacenamiento, y cultivo del fruto. Los LTP tienen un papel en el transporte de moléculas hidrófobas que comprenden las capas de cutina y suberina de los tejidos vegetales. Debido a la sugerencia de que podrían estar involucrados en la defensa de las plantas contra las infecciones bacterianas y fúngicas, los nsLTP se han clasificado como patógeno de tipo 14 relacionadas a proteínas. Hasta la fecha, el Subcomité de la Nomenclatura de Alérgenos de la Unión Internacional de Sociedades Inmunológicas lista 41 LTP alérgicos que provienen de frutas, polen de árboles y malezas, verduras, frutos secos, semillas y látex de caucho natural. LTPs son los alérgenos más importantes de la subfamilia *Prunoideae* que incluye melocotón, albaricoque, ciruela y cereza⁴³. Se ha observado un alto grado de reactividad cruzada IgE anti-nsLTP(Avellanas, nueces, cacahuets, etc.), maíz, cebolla, zanahoria, arroz (reacciones

cruzadas parciales). El epítipo Arg39/Thr40 está bien conservado en nsLTPs de *Rosaceae* y sólo parcialmente conservadas en nsLTP de cereales. Además, los alérgenos relevantes del polen de *Parietaria*, *Artemisia*, *Platanus* y *Olea* son también miembros de la familia nsLTP, pero muestran una reactividad cruzada relativamente baja (*Artemisia* y *Platanus*) o ausente (*Parietaria* y *Olea*) con Pru p 3 como consecuencia de la menor identidad de secuencia (<35%), y diferentes longitudes (Figura N°2)

Los alimentos vegetales frecuentemente involucrados son los frutos pertenecientes a la familia *Rosaceae*, que incluyen manzana, ciruela, albaricoque, cereza y pera. Sin embargo, también hay alimentos botánicos no relacionados con nsLTP que parecen estar fuertemente asociados con melocotón, particularmente en el grupo de frutos secos. De hecho, la nuez, la avellana y el cacahuete han sido descritos como alimentos que provocan no sólo la OEA, sino también graves sistémicas en sujetos sensibilizados con LTP. Además, los cereales como el trigo, el maíz y el arroz pueden causar reacciones sistémicas de varios grados de gravedad. En particular, el trigo ha sido descrito recientemente como la causa de la anafilaxia relacionada con el ejercicio en tres pacientes jóvenes sensibilizados con LTP. Los alérgenos de LTP se han identificado también en el frijol verde, el hinojo, la naranja, el kiwi y la lenteja ^{44,45,3}

4.2.3 Profilinas

Las profilinas representan una familia de pequeñas moléculas (12- 15 kDa), presente en todas las células eucariotas y que participa en la organización del citoesqueleto, así como en la transducción de señales. Es una proteína de unión a actina monomérica y un regulador clave de la dinámica actina-filamento durante procesos tales como el movimiento de las células, citocinesis y señalización. En las plantas superiores, se identifica como un alérgeno en las angiospermas de monocotiledóneas y dicotiledóneas, estas también desempeñan un papel en la citocinesis, flujo citoplasmático, la elongación celular, así como el crecimiento de tubos de polen y los pelos de la raíz. (figura N

2.3 y Tabla N 2.2)^{46,47}

Las profilinas tienen secuencias altamente conservadas compartiendo secuencias idénticas de más de 75%, incluso entre los miembros de organismos distantes relacionados. Esta conservación de la secuencia se refleja por estructuras muy similares y la función biológica.³⁸

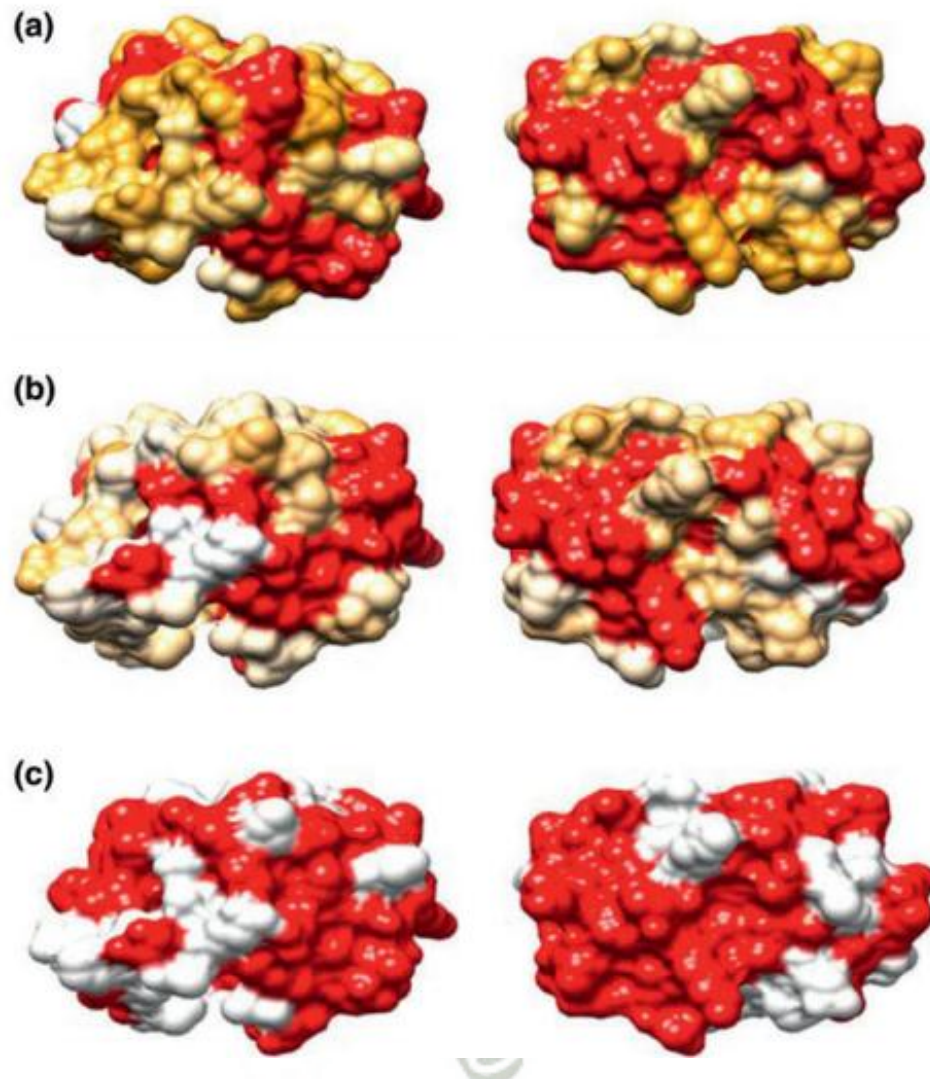


Figura 2.2 Homología entre miembros de la familia nsLTP. (A) Residuos de superficie en Pru p 3 conservados entre 8 *Rosaceae* frutas nsLTP proteínas. Rojo: Residuos conservados en 90% o más proteínas. Naranja: Residuos conservados en 40-90% de las proteínas (gradiente). Blanco: Los residuos se conservan en <40% de las proteínas. (B) Residuos de superficie conservados entre las isoformas Pru p 3 y 4 de Art v 3. Rojo: Residuos en Pru p 3 conservados en 90% o más de Art. 3 isoformas alergénicas.

Naranja: Residuos conservados en 40-90% de Art. V 3 isoformas de alergen (gradiente). **Blanco:** Los residuos se conservan en <40% de las isoformas de alergen Art v 3. **(C)** Residuos de la superficie entre Pru p 3 y Ara h 9. **Rojo:** Residuos en el Pru p 3, entre Pru p 3 y Ara h 9. **Blanco:** residuos no conservados.⁷⁸



Figura 2.3: Estructuras tridimensionales de Phl p 12 (polen de hierba) y Cuc m 2 (melón). Los residuos de aminoácidos idénticos están en rojo, los cambios conservadores en los aminoácidos anaranjados y no relacionados están en azul. La estructura está altamente conservada en todas las profilinas. Una lámina β antiparalela central de 6 hilos y dos hélices a situadas en los lados N y C-terminales.⁷⁸

a) **Relevancia clínica de la profilina como un alérgeno aerotransportado**

Las profilinas son capaces de provocar respuestas de IgE en 10-60% de pacientes polen alérgicos. Sin embargo, la prevalencia de sensibilización parece aumentar, como en más pacientes alérgicos vistos en los departamentos de alergia muestran sensibilización a un gran número de plantas botánicamente no relacionadas.

Por regla general, la sensibilización de profilina sigue a la sensibilización a una fuente primaria de polen alérgico principal. En la mayoría de los casos, el polen de hierba es responsable de la hipersensibilidad profilínica pero, dependiendo de las diferencias

geográficas, también el polen de abedul, el polen de ambrosía y el polen de artemisa pueden actuar como sensibilizadores primarios.

Al ser un alérgeno de polen de menor importancia, la sensibilización a profilina está casi siempre asociada con la sensibilización a los principales alérgenos de polen.

Tabla 2.2. Características básicas de la proteína Phl p 12 (polen de hierba)

Características de la proteína Phl p 12	
Fuente de alérgeno	Phleum pratense, Timothy polen de grass
Familia de proteína	profilina
acceso a UniProtKB N°	P35079
Estructura tridimensional disponible	Si
Estructura molecular	6 enlaces beta y 2 alfa helices
peso molecular	14,235 kDa
longitud	131 aminoácidos
unión a ligando	actina, poli-L-prolina
dimerización	No
glicosilación	No
Puentes disulfuro	Si
punto isoelectrico	5.07
distribución	cada célula de plantas

La evaluación de la relevancia clínica de la profilina como alérgeno aerotransportado es bastante complicada y, en efecto, rara vez se investigó. En un estudio realizado en España, sólo pacientes sensibles al polen y alérgicos al polen obtuvieron resultados positivos en una prueba de provocación conjuntival con profilina de palmito, lo que sugiere que la profilina puede actuar como aeroalérgeno.

Sin embargo, en un estudio de campo, el impacto clínico de la hipersensibilidad a profilina resultó ser bastante limitado, ya que la mayoría de los pacientes sensibilizados reportaron síntomas sólo en estaciones específicas de la fuente primaria de polen sensibilizante. Sin embargo, para el único caso de sensibilización primaria a la profilina informada hasta el momento, el paciente también padecía síntomas estacionales de larga duración.^{48,49}

b) **Como alérgeno vegetal-alimentario**

Aunque la profilina está presente en todos los alimentos derivados de plantas, su importancia como alérgeno alimentario ha sido subestimada durante mucho tiempo. Sin embargo, recientemente ha aparecido su papel como alérgeno vegetal-alimentario en alrededor del 50% de los sujetos sensibilizados, con alergia clínica a ciertos alimentos como el melón, la sandía, los cítricos, el plátano, la piña, el caqui, el calabacín y el tomate que se caracterizan por la hipersensibilidad profilínica. Al ser muy sensible a la pepsina, la expresión clínica de la alergia alimentaria inducida por profilina produce en la mayoría de los casos el síndrome de alergia oral, aunque recientemente se han notificado casos de reacciones alérgicas sistémicas en zonas específicas de España donde los niveles de alergia al polen de hierba son extremadamente elevados. La provocación oral de pacientes alérgicos a alimentos con dosis bajas de profilina purificada ha demostrado inducir reacciones graves en polen de hierba alérgico pacientes residentes en áreas con alta exposición al polen de hierba.⁵⁰

c) **La profilina y alergia al látex de caucho natural**

Al final del siglo pasado y el comienzo del actual se han caracterizado por un aumento impresionante en la prevalencia de alergia al látex de caucho natural (con sus siglas en inglés NRL o en español LCN). NRL contiene muchas proteínas alergénicas, incluyendo profilina (Hev b 8). Por lo tanto, el extracto crudo de las puntuaciones de látex de *Hevea*

brasiliensis a menudo positivo en pacientes con múltiples sensibilizaciones polínicas. Esto ha causado frecuentemente preocupación por el riesgo de reacciones anafilácticas intraoperatorias. Sin embargo, la mayoría de los productos de látex han sido reemplazados por productos sintéticos y, por lo tanto, el riesgo de reacciones alérgicas debidas a los alérgenos del látex, ya no es un problema de salud. Por lo anterior, los pacientes que muestran únicamente la reactividad de IgE a profilina en NRL pueden someterse a cirugía y otros procedimientos médicos sin ningún riesgo.⁵¹

4.3 Epítomos alérgicos

Muchos alérgenos son glicoproteínas que contienen una o varias cadenas de oligosacáridos complejos unidos a la estructura peptídica de la proteína. Ya que los glico-epítomos pueden compartir homologías estructurales más allá de los límites de las familias de proteínas a los que son propensos por una extensa reactividad cruzada, varios de estos epítomos se designan como determinantes de carbohidratos de reactividad cruzada o CCDs.⁵²

Los CCDs no sólo están presentes en las glicoproteínas de prácticamente todo polen, sino que se consideran como las estructuras de epítomo individuales más frecuentes para la IgE. No obstante, después de años de debate sobre su participación en la inducción de los síntomas, ahora hay suficiente evidencia para apoyar la opinión de que la sensibilización de IgE para CCD que es clínicamente insignificante, ya que estos carbohidratos parecen ser capaces de activar basófilos por IgE vinculante sólo *ex vivo*.

Ya sea debido a la insuficiente representación, la baja afinidad de unión de IgE a los epítomos de carbohidratos o la presencia bloqueadores de CCD para anticuerpos IgG4, los glicanos no se comportan como alérgenos *in vivo*. Por el contrario, las IgE para CCD se ponen de manifiesto al "contaminar" extractos basados *in vitro* en pruebas específicas de IgE; la positividad generalizada es la regla general.

Si estos pacientes aparentemente multisensibilizados experimentan

CRD(Componente para Resolver Diagnóstico), existe una posibilidad similar de resultados engañosos y falsos positivos cuando se utilizan alérgenos compuestos por glucosilados. Tales glicoproteínas purificadas naturales que contienen CCD incluyen nCyn d 1, nOle e 1, nCup a 1, nSal k 1, nPla a 2 y nArt v 1, usadas para la detección de sensibilización primaria de grass, olivo, ciprese, saltwort, plátano de sombra y polen de artemisa, respectivamente.⁵³

V. CAUSAS

5.1 Alimentos

Los alérgenos alimentarios, suelen ser proteínas, pero a veces la mayoría de los alérgenos alimentarios pueden causar reacciones cuando se ingieren ya sea en forma cruda o después de ser cocidos o incluso digeridos. En algunos de casos, como los de las frutas y hortalizas, causan reacciones alérgicas principalmente si se comen crudas. Los alérgenos alimentarios también pueden causar reacciones si se inhalan las proteínas alergénicas, aunque estos deben diferenciarse de simplemente inhalar la fragancia de un alimento, ya que esta última no causan reacciones alérgicas. La reactividad cruzada puede ocurrir cuando un alérgeno alimentario tiene similitud estructural o de secuencia con un alérgeno alimentario diferente.

La probabilidad de tener reacciones alérgicas clínicas a los alérgenos reactivos cruzados es muy variable y depende del tipo de alimento. Por ejemplo, la reactividad cruzada clínica entre las leguminosas es generalmente infrecuente (por ejemplo, la mayoría de las personas con alergia al maní toleran los frijoles y los guisantes), mientras que la reactividad cruzada clínica entre los diferentes tipos de crustáceos es común.

Aunque cualquier alimento puede desencadenar una respuesta alérgica y se ha informado que más de 170 alimentos causan reacciones mediadas por IgE, una minoría de los alimentos causa la mayoría de las reacciones alérgicas, siendo atribuida la mayoría a los "alergénicos mayores". Frutos secos, huevos, leche, pescado, mariscos crustáceos, trigo y soya, el apio, la mostaza,

el sésamo, el altramuz y los moluscos han sido identificados como alérgenos. Los aditivos alimentarios y agentes colorantes que contienen proteínas, tales como el achiote, el carmín y la gelatina, pueden provocar reacciones alérgicas.

Los aditivos químicos, tales como los aromas artificiales (por ejemplo, la tartrazina) y los conservantes (por ejemplo, glutamatos y sulfitos), pueden causar reacciones adversas, pero no se ha identificado un mecanismo inmunológico y estas reacciones se clasifican como intolerancias.⁵⁴

5.2 Látex

El látex de caucho natural (LCN) y los aceleradores de caucho (tiuramas, ditiocarbamatos y/o mercaptobenzotizoles) son causas bien conocidas de enfermedades ocupacionales de la piel. Los últimos datos epidemiológicos sobre la alergia al caucho muestran que los aditivos de caucho siguen siendo uno de los alérgenos más fuertemente asociados con la dermatitis de contacto ocupacional, sin embargo, se ha confirmado una disminución de la alergia al LCN.⁵⁵

5.3 Medicamentos

Las reacciones de hipersensibilidad a medicamentos (RDHM) son reacciones típicamente impredecibles. Pueden ser peligrosas para la vida, ya que requieren o prolongan la hospitalización, así como cambios en el tratamiento posterior. Se necesita un diagnóstico definitivo de las reacciones analizadas con el fin de establecer las opciones de tratamiento y medidas preventivas adecuadas. La clasificación errónea basada únicamente en la historia de DHM, sin más pruebas puede afectar a las opciones de tratamiento, como resultado consecuencias adversas, y dar lugar a la utilización de fármacos más caros o menos eficaces, en contraste con los pacientes que se habían sometido a un completo estudio diagnóstico de alergia a fármacos. Una serie de pautas y/o documentos de consenso sobre RDHM inducida clase de fármacos generales o específicas están disponibles para apoyar el proceso de toma de decisiones médicas. El uso de enfoques sistemáticos estandarizados para el diagnóstico y manejo de RDHM tiene el

potencial de mejorar los resultados y su adecuada difusión y aplicación. ⁵⁶

5.4 Polen

La predicción temprana de la concentración de polen alergénico en el aire puede ser valiosa para los profesionales médicos, las personas alérgicas y las compañías farmacéuticas. La creciente prevalencia de las enfermedades alérgicas, principalmente la fiebre del heno, desencadenada por aeroalérgenos afecta a cientos de millones de personas en todo el mundo. En el Reino Unido, los tipos más comunes de polen alergénico son el abedul y el pasto que, respectivamente, afectan aproximadamente al 25% y al 95% de la población, las especies más comunes de Abedul en el Reino Unido son Downy abedul (*Betula pubescens*) y abedul plateado (*Betula pendula*). El primero es el abedul más abundante en Escocia y el noroeste de Inglaterra. Por el contrario, el abedul plateado es la especie más común en el sur y sudeste de Inglaterra. En el Reino Unido, hay alrededor de 150 especies de hierba de las cuales alrededor de 12 especies contribuyen cantidades significativas de polen a la atmósfera. Este alto número de especies dificulta la predicción del polen de césped. En el Reino Unido y en partes de Europa, la prevalencia general de la fiebre del heno es aproximadamente del 15 al 20%. La mayor prevalencia ocurre en la adolescencia tardía y la temprana edad adulta, entre 8 y 35% de adultos y jóvenes en la Unión Europea que tienen IgE (inmunoglobulina E) anticuerpos séricos de polen de hierba son alérgicos a este. Se registraron altas tasas de prevalencia en muchas partes del mundo, tanto para el polen de pasto como para el abedul. La prevalencia de la sensibilidad a los alérgenos de hierba y abedul varía geográficamente dependiendo de la abundancia de la fuente y la cantidad de extracto alergénico en el polen. La longitud de las estaciones del polen de la hierba y del abedul también varía espacial y temporalmente. Esto se debe a la variación de los factores que influyen en la abundancia y dispersión del polen, como el tipo de vegetación local, la altitud, el uso de la tierra y el clima. A escala europea, el polen de hierba es el aeroalérgeno más extendido con las mayores concentraciones en la Península Ibérica Occidental, Europa Central y el Reino Unido. ⁵⁷

La predicción actual de estos alérgenos en el Reino Unido se basa en (i) mediciones de concentraciones de polen en un número limitado de estaciones de monitoreo en todo el país y (ii) en la información general sobre el estado fenológico de la vegetación. Por lo tanto, la metodología de predicción actual proporciona información sólo con una resolución espacial aproximada (cristalografía). La mayoría de los enfoques basados en estaciones que tienen en cuenta sólo las observaciones locales de la floración, mientras que sólo un pequeño número de enfoques tienen en cuenta las observaciones remotas de la fenología de la superficie terrestre. La recopilación sistemática de información detallada sobre el estado de la vegetación en todo el país sería por lo tanto de gran utilidad potencial. En particular, existe la oportunidad de utilizar la teledetección para estimar variables fenológicas relacionadas con la fenofase de floración y, por tanto, la liberación de polen. A su vez, estas estimaciones pueden usarse para predecir la liberación de polen a una resolución espacial fina^{58,59}

5.5 Animales

La alergia a la piel y mucosas de los animales es un problema clínico importante para los pacientes que visitan a los alergólogos. Las alergias a los felinos y caninos son más familiares para la ciencia, principalmente debido a su alta frecuencia de ocurrencia, ligada a la exposición común a los alérgenos de estos animales. Sólo en los Estados Unidos, existe 70 millones de perros y 74,1 millones de gatos que viven en hogares. La frecuencia de la aparición de alergias a animales en Europa y los EE.UU. ha sido innegable, aumentó durante las últimas décadas. En un estudio en Unión Europea se estudió a 3034 pacientes de 17 centros de 14 países europeos, la frecuencia media de pruebas cutáneas positivas (con siglas en inglés SPT) con alérgenos caninos fue del 27,2% y del 26,3% para los alérgenos felinos. En Odense, Dinamarca (56,0% para los caninos y 49,3% para los felinos), el mayor número de SPT positivas con estos dos tipos de alérgenos, en cambio en Viena y Austria-16,1 y 16,8%, se detectaron los niveles más bajos de alergenicidad. En Polonia, en el centro de Lódz, se observaron SPT positivos en el 34,7% de los casos y en el 23,8% fueron positivos para los alérgenos de gato⁶⁰.

En un estudio del 2015 se analizó los niveles de IgE específica a los alérgenos de gato, perro y caballo entre 696 niños suecos de 11-12 años, con el uso del método ImmunoCap. Se observaron niveles elevados de IgE específica en 259 niños (37,2%). Dentro de ese grupo, el 51% mostró síntomas de sensibilización a los tres alérgenos, 23% a dos, y 25% a uno de los alérgenos ⁶¹.

No todos los componentes alérgicos conocidos están disponibles comercialmente. Entre los alérgenos felinos están disponibles: Fel d 1, Fel d 2, Fel d 4, así como, como Can f 1, Can f 2, Can f 3, y Can f 5 están entre los componentes alérgenos caninos. Estos pueden utilizarse para un marcado cuantitativo de los niveles de IgE en el suero sanguíneo utilizando el método inmunofluorescente altamente sensible, donde los antígenos están unidos en fase sólida (ImmunoCap). Otra forma de evaluar los niveles de anticuerpos IgE frente a los alérgenos animales es el ensayo semicuantitativo ImmunoCap ISAC de microarrays, que permite marcar los siete componentes de felinos y caninos, junto con el total de 112 componentes de 51 fuentes alérgicas. La prueba de niveles específicos de IgE para componentes alérgicos seleccionados se utiliza en el trabajo académico, pero su aplicación en la práctica sigue siendo limitada. Sin embargo, los enfoques del diagnóstico alergológico se están desarrollando indudablemente en esa dirección. Las alergias son ahora menos concebidas en relación con la fuente del alérgeno, y más en relación con una proteína específica que causa síntomas específicos. Este enfoque tiene enormes implicaciones clínicas, lo que permite determinar parcialmente el desarrollo natural de la enfermedad alérgica, y en el futuro influirá en la elección del tratamiento más eficaz. ⁶²

5.6 Insectos

Se desconoce la incidencia exacta de las estadísticas sobre picaduras de insectos o picaduras, ya que la mayoría de las personas mordidas o picadas tienen reacciones locales leves que no se informan ni se siguen. En Europa, entre el 56% y el 94% de las personas reportan haber sido picados por un insecto himenóptero. La prevalencia de las reacciones sistémicas a las picaduras de himenópteros es de 0,5% a 3,3% en adultos y de 0,15% a 0,8%

en niños. En Florida, la revisión de los códigos de facturación del departamento de urgencias sugiere que el 42% de los pacientes pediátricos experimentaron reacciones sistémicas a picaduras de himenópteros .

Entre las áreas endémicas de hormigas picantes de los Estados Unidos, el 55% de las personas reportaron haber sido picados en un período de 3 semanas. La prevalencia, sin embargo, de anafilaxia sistémica a las picaduras de las hormigas se informa que es inferior al 1% . Aproximadamente entre 40 a 100 estadounidenses mueren anualmente por picaduras de insectos o picaduras, aunque muchos expertos creen que la verdadera mortalidad es mayor.

Los factores de riesgo de picaduras de insectos y picaduras están fuertemente relacionados con la exposición ambiental. Las personas que viven cerca de cuerpos de agua o humedales corren el riesgo de que se reproduzcan mosquitos, mordedores u otros insectos que requieran que el agua se encuentre cerca. Vivir cerca de áreas boscosas o herbosas es un factor de riesgo para las picaduras de garrapatas. Las personas que trabajan con animales o viven con ellos, en particular caballos, perros o gatos, corren el riesgo de sufrir picaduras de moscas. Por último, los riesgos profesionales como la jardinería o la apicultura aumentan el riesgo de mordeduras o picaduras específicas de insectos. Puede ocurrir exacerbación estacional de la urticaria papular, relacionada con la reexposición del insecto.⁶³

Recientemente se han aislado nuevas proteínas alérgicas entomológicas, como es el caso de la Booklice, pertenecientes a la orden *Psocoptera*, que son pequeñas plagas de insectos domésticos que se distribuyen en todo el mundo. La *Liposcelis bostrychophila* (*L. bostrychophila*), es la especie doméstica que habita en los hogares, infesta libros antiguos, hojas de papel y alimentos almacenados. Recientes estudios entomológicos y serológicos demostraron que *L. bostrychophila* representaba la mayoría de los insectos detectables en el polvo doméstico y podría ser un potente inductor de la alergia respiratoria. Es así que por un análisis proteómico identificó una potente proteína alérgica de *L. bostrychophila*, denominada Lip b 1, y determinó sus secuencias de aminoácidos parciales.⁶⁴

Un alérgeno bastante frecuente y poco estudiado es el del ácaro del polvo doméstico Der p 18 que pertenece a la familia de los glicósidos hidrolasa 18 quitinasas. Un estudio en 2016 demostró que este alérgeno que se creía como secundario más bien es específico del género con una actividad débil de unión a quitina, pero exhibe actividad alérgica y, por lo tanto, debe incluirse en paneles de prueba de diagnóstico para alergia a HDM.⁶⁵

5.7 Productos de limpieza

Cada vez hay más pruebas de que los trabajadores de limpieza tienen un mayor riesgo de asma, en algunas áreas (limpieza industrial o médica) es particularmente evidente para los empleados en la limpieza doméstica. Los estudios epidemiológicos han identificado productos específicos de limpieza profesional asociados con el asma, incluyendo blanqueadores y pulverizadores. Muchos productos utilizados en la limpieza profesional también son ampliamente aplicados en hogares privados. El análisis de los datos de la primera fase de la Encuesta de Salud Respiratoria de la Comunidad Europea (con sus siglas en inglés ECRHS I) mostró que las amas de casa tenían un pequeño pero estadísticamente significativo exceso de riesgo de asma, y se suponía que esto podría estar relacionado con el uso de productos de limpieza en el hogar). Varios estudios han reportado trastornos respiratorios crónicos después de la inhalación accidental relacionados con limpiadores domésticos y sus mezclas, pero no se tiene aún conocimiento de estudios que han evaluado los efectos respiratorios del uso común de productos de limpieza domésticos. El uso frecuente de aerosoles de limpieza comunes puede ser un importante factor de riesgo para el asma de adultos.⁶⁶

5.8 Estrés

El estrés crónico puede agravar las condiciones alérgicas. Esto se ha atribuido a una respuesta predominante de las células TH2 impulsadas por la supresión de la IL-12 tanto por el sistema nervioso autónomo como por el eje hipotalámico-hipófisis-adrenal. El manejo del estrés en individuos altamente susceptibles puede mejorar los síntomas.⁶⁷

5.9 Otros factores ambientales

Las actividades humanas están generando aumentos en los gases del efecto invernadero, tales como el dióxido de carbono, y los cambios en el clima global, a su vez, es probable que hayan tenido impactos sobre la salud humana. Actualmente se ha puesto la atención en los efectos de los gases atmosféricos buscando ver los impactos en: la salud de la población; sobre los alérgenos aerodinámicos y enfermedades alérgicas relacionadas. A pesar de esto, un número de estudios han puesto de manifiesto los posibles impactos del clima en el cambio de los aeroalérgenos que pueden tener una enorme importancia clínica y de salud pública. En la actualidad existe evidencia de los impactos ambientales sobre los alérgenos aerodinámicos, estos incluyen impactos en la cantidad de polen, polen alérgico, la estación del polen y la distribución de las plantas. Por tanto, existe alguna evidencia de los impactos sobre otros alérgenos como esporas de moho sometidas a prueba.⁶⁸

VI. DIAGNÓSTICO

6.1 Prueba cutánea

La prueba cutánea es la prueba de alergia más ampliamente utilizada y se puede realizar durante la consulta inicial con soluciones acuosas de una variedad de alérgenos. Estos incluyen (a) alérgenos comunes inhalados (ácaros del polvo doméstico, polen de hierba, caspa de gato, pelo de perro); (B) alérgenos ocupacionales (tales como persulfato de amonio, sales de platino, antibióticos y látex); Y (c) alérgenos alimentarios.

La prueba del pinchazo de la piel requiere control usando diluyente (control negativo) y solución de histamina (control positivo). Se coloca una gota de solución alérgica sobre la piel del antebrazo. Se usa una lanceta estéril o aguja de calibre 25 (naranja) para pinchar la piel a través de la solución de alérgeno (se usa una aguja separada para cada solución de alérgeno). La solución excesiva de alérgenos se elimina de la piel con un papel absorbente. La reacción se evalúa después de 15 minutos.

La prueba debe realizarse con soluciones alergénicas estandarizadas, si es posible. En la práctica general puede ser suficiente usar cuatro alérgenos (ácaros del polvo doméstico, polen de hierba y alérgeno de gato y perro) más los controles positivos y negativos para confirmar o excluir la atopia y reconocer los alérgenos más comunes encontrados.

Un resultado positivo es un peso de piel > 2 mm que el observado con la solución de control negativo (diluyente alérgeno). Sin embargo, la relación entre un resultado positivo y la enfermedad clínica manifestada causada por ese alérgeno no es absoluta. La concentración de la solución alergénica determinará el resultado de la prueba. Idealmente, la prueba debe combinar la sensibilidad más alta posible con la especificidad más alta posible, pero este grado de precisión no es usualmente alcanzable.

El resultado de la prueba cutánea debe interpretarse a la luz de la historia clínica: si tanto el historial de alergia como el resultado de la prueba son positivos, se confirma la atopia y el alérgeno agresivo: Si ambos son negativos, se excluye la alergia; en el caso de los alérgenos perennes, puede haber una asociación inmediata entre la exposición y los síntomas, dando lugar a una historia falsamente negativa en el contexto de un resultado positivo de la prueba: Muchos pacientes con un resultado positivo de la prueba no tienen síntomas de alergia: Si hay discordancia entre la historia y el resultado de la prueba, se recomienda la derivación a un especialista en alergias.

Las ventajas de la prueba del pinchazo de la piel son: es indolora y tiene un riesgo bajo de efectos secundarios; es informativo para el paciente; el cumplimiento del paciente es alto; y la prueba se puede realizar en centros de salud.

Las desventajas son: los antihistamínicos sistémicos y tópicos pueden suprimir la reacción de fatiga y de inflamación; la prueba es menos confiable con los alérgenos alimentarios (que están menos estandarizados) que con los alérgenos inhalados; el picor produce una ligera molestia; y la interpretación es difícil en pacientes con eczema.

Aunque las pruebas cutáneas con alérgenos inhalados son generalmente seguras, se han reportado reacciones sistémicas ocasionales incluyendo anafilaxia cuando se usan alérgenos alimentarios; las pruebas con alérgenos alimentarios deben realizarse únicamente en centros especializados. ⁶⁹

6.2 Prueba de sangre

La prueba de sangre suelen realizarse para las enfermedades alérgicas como la rinoconjuntivitis alérgica, el eczema atópico, así como personas que presenten alergias alimentarias y farmacológicas. Aunque es posible medir una multitud de IgE específicas de alérgenos mediante inmunoensayos en la sangre del paciente, estas pruebas son costosas y requieren mucho tiempo (para el comercial mencionado la duración de una prueba es de aproximadamente 3-4 h), y necesitan un volumen bastante alto de reactivos y muestra de suero (50 μ L / pocillo) en algunas variedades. Teniendo en cuenta que las alergias están en aumento, es altamente deseable desarrollar una tecnología de detección rápida y económica para la detección de IgE específica de alérgeno en muestras de suero, lo que permite el análisis simultáneo de cientos de alérgenos en una sola corrida. ⁷⁰

6.3 La inmunoterapia sublingual basada en tabletas (SLIT)

Las tabletas SLIT representan un concepto más amigable con el paciente porque pueden usarse para el auto-tratamiento en el hogar.

Actualmente, las tabletas SLIT son los productos de inmunoterapia más documentados del mercado, y los únicos productos desarrollados para cumplir con los estándares actuales de documentación clínica tanto en Estados Unidos como en Europa. Los estudios son grandes, aleatorizados, doble ciego, controlado y confirmatorio. ⁷¹

VII. QUIMICA COMPUTACIONAL

La bioinformática es una herramienta importante en las ciencias de la vida contemporáneas y las ciencias naturales y será una parte esencial de las ciencias naturales en el siglo XXI. La bioinformática ha sido ampliamente utilizada en

diversas áreas de investigación como genoma, inmunología y desarrollo de fármacos. Ha generado considerables beneficios económicos y sociales, y ha jugado un papel muy importante en la investigación de la alergia. Debido a que es rápida y eficiente, la bioinformática es necesaria en cualquier estudio de alergia en profundidad y ha desempeñado un papel importante en la evaluación de algunos alérgenos. Pero desde otra perspectiva, como una nueva disciplina, la bioinformática todavía tiene algunos problemas y deficiencias. La base de datos es la base necesaria para cualquier análisis bioinformático y una base de datos general no puede satisfacer las necesidades de los profesionales y sus disciplinas. Los investigadores deben recopilar y analizar la bibliografía relacionada con el fin de determinar la alergenicidad de las proteínas candidatas junto con la evaluación de la alergenicidad basada en secuencias. El uso de la bioinformática desempeña un papel importante en la investigación biomédica ya que promover el desarrollo de una serie de disciplinas relacionadas y las industrias que actualmente son de gran importancia práctica y estratégica.

Sin embargo, la bioinformática debe ser validada y relacionada con los pruebas tradicionales, métodos biológicos e inmunológicos ya que es necesario para aumentar los resultados significativos y contribuir con los avances en esta área inmunológica.^{72,73,75}

7.1 Software Bioinformáticos para alérgenos

Recientemente, con la rápida evolución de la bioinformática, la clasificación computacional de las proteínas ha revolucionado la investigación de los alérgenos al orientar el diseño experimental y, por lo tanto, los clasificadores bioinformáticos para la discriminación de la secuencia alergénica deben ser un foco de investigación de la alergia. En los últimos 12 años, varios métodos bioinformáticos sofisticados han registrado progresos sustanciales en la predicción de alérgenos. Entre los métodos de predicción de alérgenos, SORTALLER predice las propiedades alergénicas mediante el uso de un nuevo algoritmo sobre AFFP (Allergy Famine Featured Peptides).

Los AFFPs son péptidos específicos de alérgenos extraídos de alérgenos no redundantes y contienen información perfecta con fragmentos de ruido eliminados debido a su similitud con los no alérgenos. Los AFFPs se

optimizan sustancialmente en la mayoría de los parámetros clasificadores basados en SVM (máquinas de vector de soporte). Por lo tanto, SORTALLER es mejor significativamente que otros programas existentes y alcanza un equilibrio óptimo de alta especificidad (98,4%) y sensibilidad (98,6%) para discriminar las proteínas alergénicas de varios conjuntos de datos independientes de secuencias de proteínas de diversas fuentes.

7.2 Los perfiles alergénicos disponibles de fuentes alergénicas alimentarias

La descripción del perfil alergénico de un alimento implica la identificación de todas las moléculas potencialmente alergénicas que contiene. Esta afirmación da por supuesto el concepto de que las posibles moléculas alergénicas representan un número finito de proteínas, y los componentes restantes del proteoma de la fuente alergénica carecen de las características que causan la activación del sistema inmune que conduce a la reacción alérgica.

Dado que la fuente alergénica puede contener más de un alérgeno, se requiere una caracterización en profundidad para describir el alérgeno completo clasificando como "alergénico" o "no alergénico" los componentes del proteoma. Sin embargo, el conocimiento disponible no proporciona suficientes datos para clasificar cualquier proteína alimenticia como "definitivamente no alergénico" (Figura 2.4). De hecho, algunas proteínas que parecen no ser alergénicas cuando se analizaron algunos sujetos, fueron reconocidas como alérgenos cuando se investigó una población mayor o una población seleccionada sobre la base de diferentes criterios. A este respecto, se puede considerar como ejemplo la Ley d 11 de alérgenos de kiwi. De hecho, inicialmente no parecía alergénico cuando se probó en una población de sujetos que mostraban reacciones graves después de la ingestión de kiwis. Sin embargo, esta proteína fue identificada como un alérgeno cuando se probó en una población de sujetos que reaccionan al alérgeno de polen de abedul Bet v 1, revelando así su correlación inmunológica con los alérgenos parecidos a Bet v 1. De hecho, la necesidad de datos de una población muy grande, y posiblemente aleatoria, surge de la observación de que sujetos alérgicos individuales muestran patrones individuales de sensibilidad a

moléculas alergénicas.^{74,75}

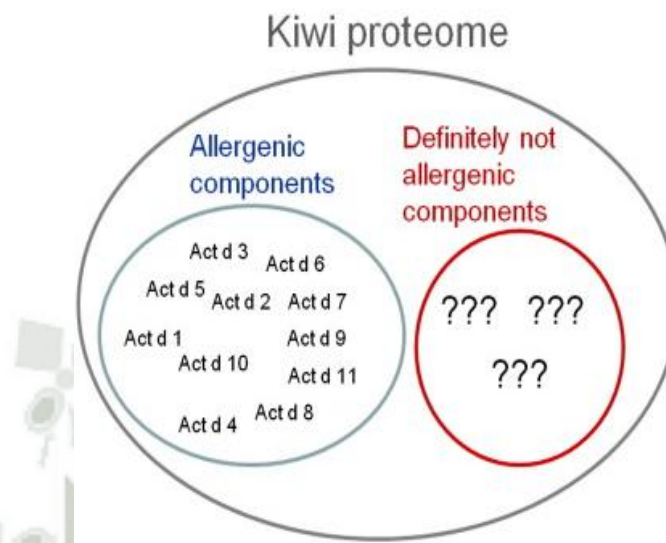


Figura 2.4: Representación esquemática donde se muestra 11 componentes del kiwi. Se hace una clasificación de alérgenos y otro proteoma caracterizados por componentes no alergénicos.⁷⁵

En la actualidad, se han investigado algunas fuentes alergénicas, pero ninguna ha recibido una caracterización profunda y específica que permita clasificar al menos la mayoría de los componentes proteómicos como "alergénicos" o "no alergénicos". Idealmente, la disponibilidad de un panel de componentes individuales de un proteoma de fuente alergénica permitiría la identificación del patrón completo de moléculas alergénicas probándolas con sueros individuales de una población muy grande de sujetos alérgicos. De hecho, los conocimientos y las tecnologías ahora disponibles no permiten todavía el logro de este objetivo.⁷⁶

i. OBJETIVO GENERAL

Determinar mediante homología las estructuras primarias de las profilinas vegetales con mayor frecuencia de reactividad cruzada, así como la similaridad de sus formas terciarias como una forma de explicar la reactividad cruzada.

ii. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtención de las secuencias
- Alinear las múltiples secuencias
- Reducir las muestras por homología
- Predecir las muestras por homología
- Modelar las estructuras y optimización
- Analizar y validar las estructuras obtenidas

iii. HIPÓTESIS

Es factible poder explicar de una forma más sistemática la reactividad cruzada a través del uso de métodos computacionales en profilinas vegetales.

CAPÍTULO III

Metodología

1. Obtención de las secuencias.

Se obtendrán las secuencias de profilinas vegetales de la base de datos ALLERGEN (<http://www.allergen.org>), esta base de datos es un sitio web oficial de la nomenclatura sistemática de alérgenos aprobada por el Subcomité de Nomenclatura de Alérgenos de la Organización Mundial de la Salud y la Unión Internacional de Sociedades Inmunológicas (OMS/IUIS).

2 Alineamiento de múltiples secuencias.

Se realizará un análisis de agrupamiento de secuencias de cada profilina con archivos bajo la extensión *.fasta*, para el alineamiento se usará el programa CLUSTAL OMEGA (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) que es un programa de alineación de múltiples secuencias, Clustal usa el método progresivo para la alinear tres o más secuencias

3 reducción por homología.

Se realizará la construcción de un modelo por homología el cual consta de cuatro pasos principales: identificación de la plantilla estructural; alineación de la secuencia y estructura de la plantilla; construcción del modelo y evaluación de la calidad del modelo. Estos pasos pueden repetirse hasta que se consiga un resultado satisfactorio de modelado. Para este punto se contará con la ayuda del servidor en línea SWISS MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>).

4 Predicción por homología.

Se realizará un modelo comparativo por homología en el cual se hará la predicción de la estructura tridimensional de una determinada secuencia de proteínas basada principalmente en su alineación con una o más proteínas de estructura conocida (plantillas determinadas por procesos experimentales de difracción de rayos X). Esta unidad describirá cómo calcular modelos comparativos con el programa MODELLER versión 9.17

5 Modelamiento estructural y optimización.

La optimización estructural se hará mediante teorías de la mecánica clásica que es la ciencia que estudia los movimientos de partículas y moléculas de forma infinitesimal.

Usando el campo de fuerza OPLSAA el cual contiene parámetros de campo de fuerza para simulaciones de dinámica molecular

La minimización de las energías de cada sistema será determinado mediante el integrador *steep descent*, la simulación de la dinámica molecular se realizará considerando condiciones periódicas de contorno, una caja cúbica, en el colectivo canónico NVT (Número de Moléculas y Volumen y Temperatura constante), con una trayectoria de 100 ns, mediante el programa GROMACS 2016

Finalmente los cálculos serán visualizados en VMD (Visual Molecular Dynamic) y CHIMERA.

6 Análisis y validación de las estructuras: RMSD; APBS; Ramachandran y RMSF.

Se comparará los modelos computacionales a través de las respuestas de evaluaciones de modelado, se utilizará RMSD (Desviación cuadrática media), que nos ayudará a visualizar y medir cuanto es que cambia la estructura de la proteína a lo largo de la simulación. Luego se procederá a usar el RMSF (Fluctuación cuadrática media), este paso nos indicará que aminoácidos son los que fluctúan en la dinámica. Posteriormente se hará un análisis de APBS (Superficie de área de Poisson-Boltzmann) el cual nos servirá para estimar las energías libres de interacción molecular, como el potencial electrostático. Y finalmente se procederá al ploteo por diagramas de Ramachandran que nos indicarán los valores y conformaciones de los ángulos ψ y ϕ que son posibles identificar para un residuo de aminoácido en una proteína, también este diagrama nos indicará la validación de las estructuras analizadas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

El presente proyecto abarca el análisis de 59 profilinas por lo que se decidió mostrar para este capítulo sólo los resultados obtenidos para la familia más representativa (*F. Rosaceae*), además de la identificación de las profilinas más estables e inestables. El análisis se realizó bajo los mismos estándares para todas las muestras y pueden ser consultadas en el anexo 2-3.

1. FAMILIA ROSACEAE

A. Modelamiento por homología mediante el programa MODELLER en la familia *Rosaceae*. En la figura 4.1, se pueden observar las cinco estructuras de profilinas vegetales de la familia *Rosaceae*. Estas estructuras presentan 5 láminas

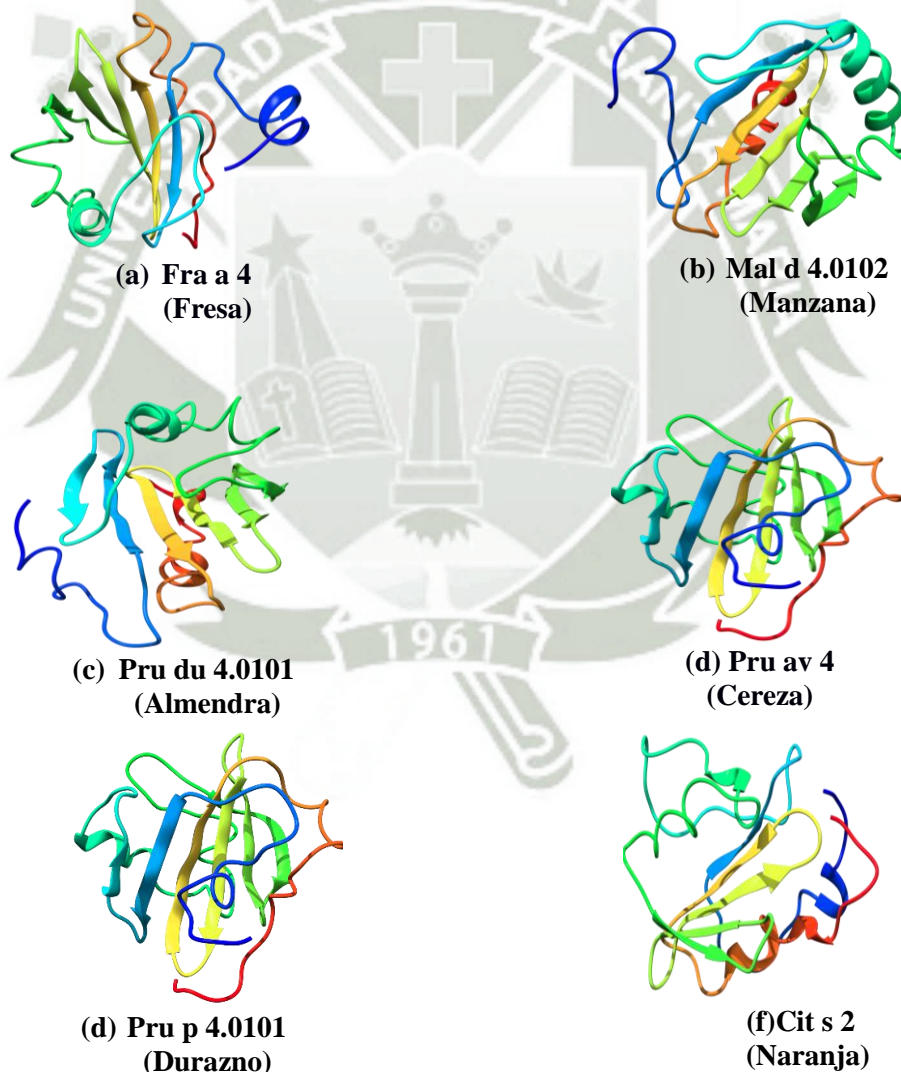
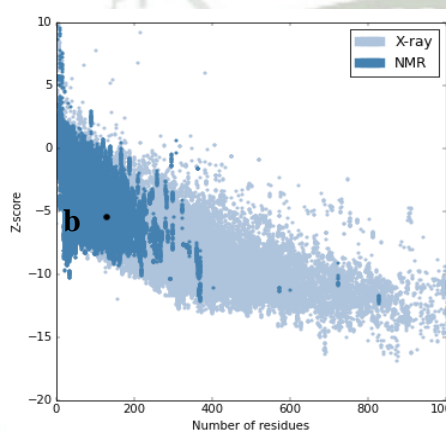


Figura 4.1: Estructura de las profilinas vegetales de la familia *Rosaceae* obtenidas con el programa MODELLER. (a) fresa, (b) manzana, (c) almendra, (d) cereza, (e)

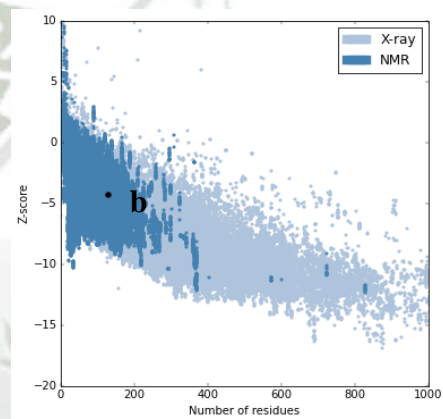
durazno y (f) naranja, todas con cinco láminas beta y de dos a tres alfa hélices.

beta antiparalelas que están conectadas por un bucle pequeño que, de acuerdo a la bibliografía consultada, al presentarse esta característica estructural se puede hablar de una proteína estable. También se observan entre 2 y 3 alfa hélices que se forman debido a las cadenas laterales de aminoácidos que se proyectan hacia fuera y debajo de la hélice por lo que se evita la interferencia estérica del esqueleto de polipéptidos entre sí.

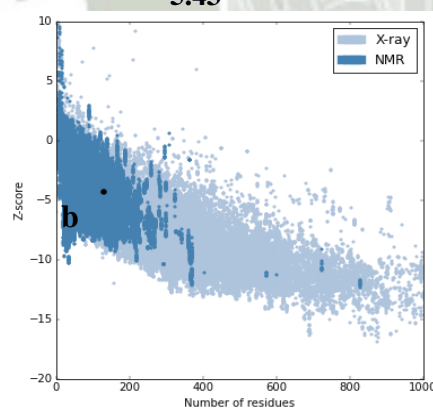
B. Validación de las estructuras modeladas de la familia *Rosaceae* con el servidor ProSa



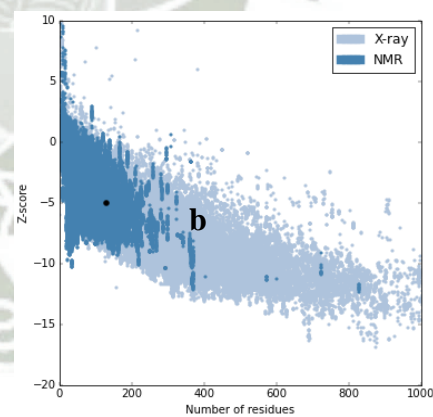
(a) Fra a 4 (Fresa)
-5.43



(b) Mal d 4.0102 (Manzana)
-4.01



(c) Pru du 4.0101 (Almendra)
-5.03



(d) Pru av 4 (Cereza)
-4.25

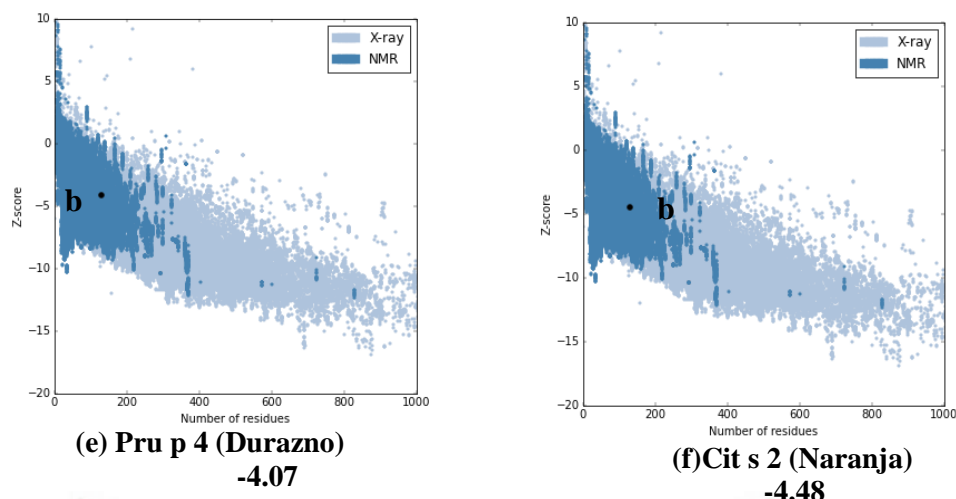


Figura 4.2. Validación de las estructuras modeladas de la familia *Rosaceae* por el servidor ProSa: (a) fresa, (b) manzana, (c) almendra, (d) cereza, (e) durazno y (f) naranja.

La figura 4.2 muestra la validación realizada con el servidor web ProSA. En esta, se evaluaron los posibles errores estructurales de las profilinas vegetales de la familia *Rosaceae* después del modelamiento y dinámica molecular. Se puede ver que todas las proteínas mostraron un puntaje de calidad óptimo. Para esta familia de profilinas se perfiló con el score más bajo se obtuvo para la fresa, -5.43, y el más alto score fue el de la manzana con -4.01.

C. Validación de las estructuras modeladas de la familia *Rosaceae* por los gráficos de Ramachandran

Las validaciones de las profilinas modeladas con el diagrama de Ramachandran fueron sumamente útiles para el análisis estructural de las conformaciones permitidas de las proteínas las cuales presentaron valores permitidos de los ángulos de rotación de ϕ y ψ . A continuación, se muestran las seis gráficas de las proteínas analizadas para la familia *Rosaceae*.

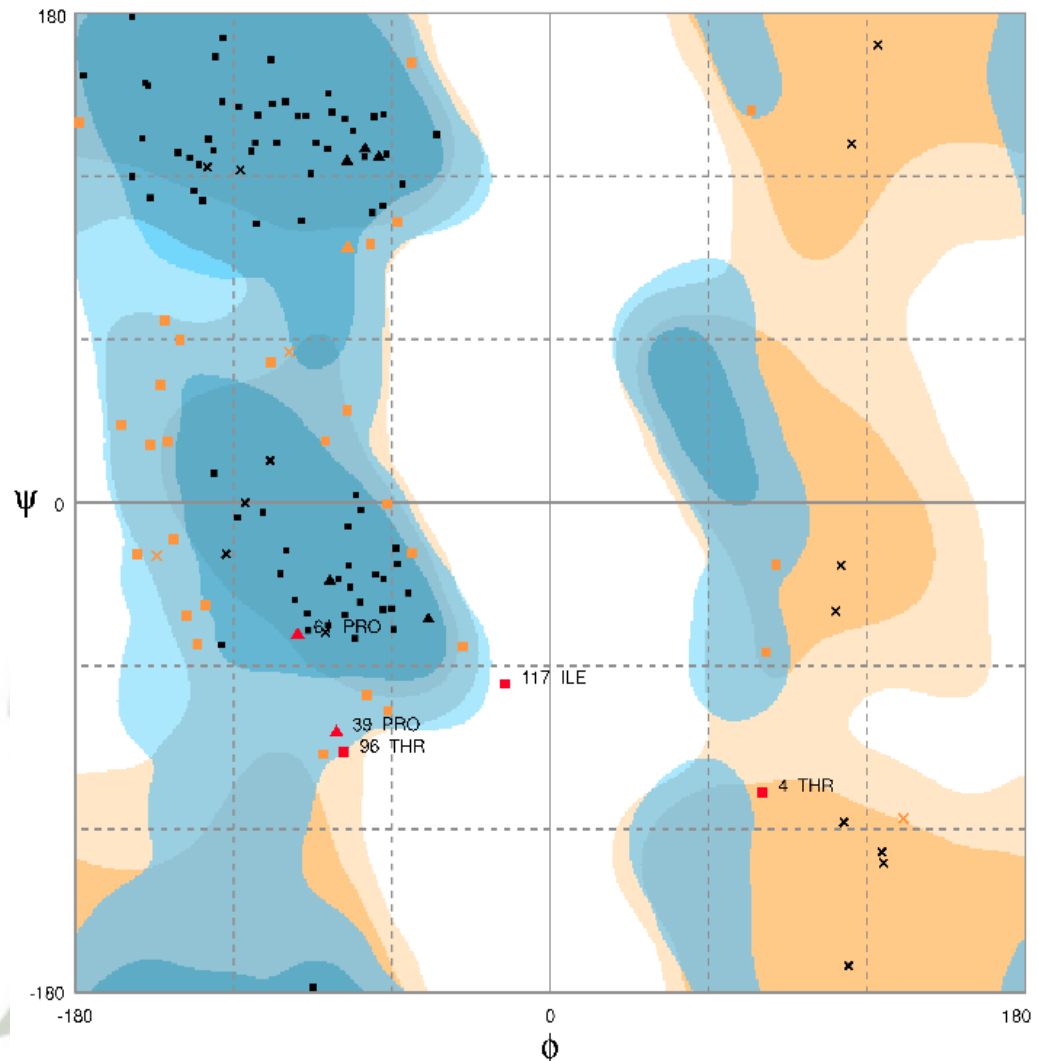


Figura 4.3: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Fra a 4 (Fresa)

En la figura 4.3 se puede apreciar el análisis estructural de la profilina de fresa. Esta presenta 5 residuos fuera de las regiones permitidas, es decir, solo el 3.9%. Sin embargo, que estos tres aminoácidos (isoleucina 117, treonina 4 y treonina 96), se encuentren fuera de la región podría deberse a los efectos estéricos propios de estos aminoácidos. Es importante mencionar que los porcentajes de aminoácidos fuera de las regiones permitidas se ven afectados al considerar tanto a la Glicina como a la Prolina. Estos aminoácidos presentan ángulos conformacionales que por su naturaleza no poseen estructuras prohibidas por lo cual pueden encontrarse en cualquier parte de los gráficos de Ramachandran.

El porcentaje de las regiones favorables es del 71.7%, el cual se encuentra dentro del límite permitido que es por arriba del 70%. Esta validación muestra que la estructura obtenida en nuestro estudio se encuentra dentro de las conformaciones

estéricas permitidas para proteínas.

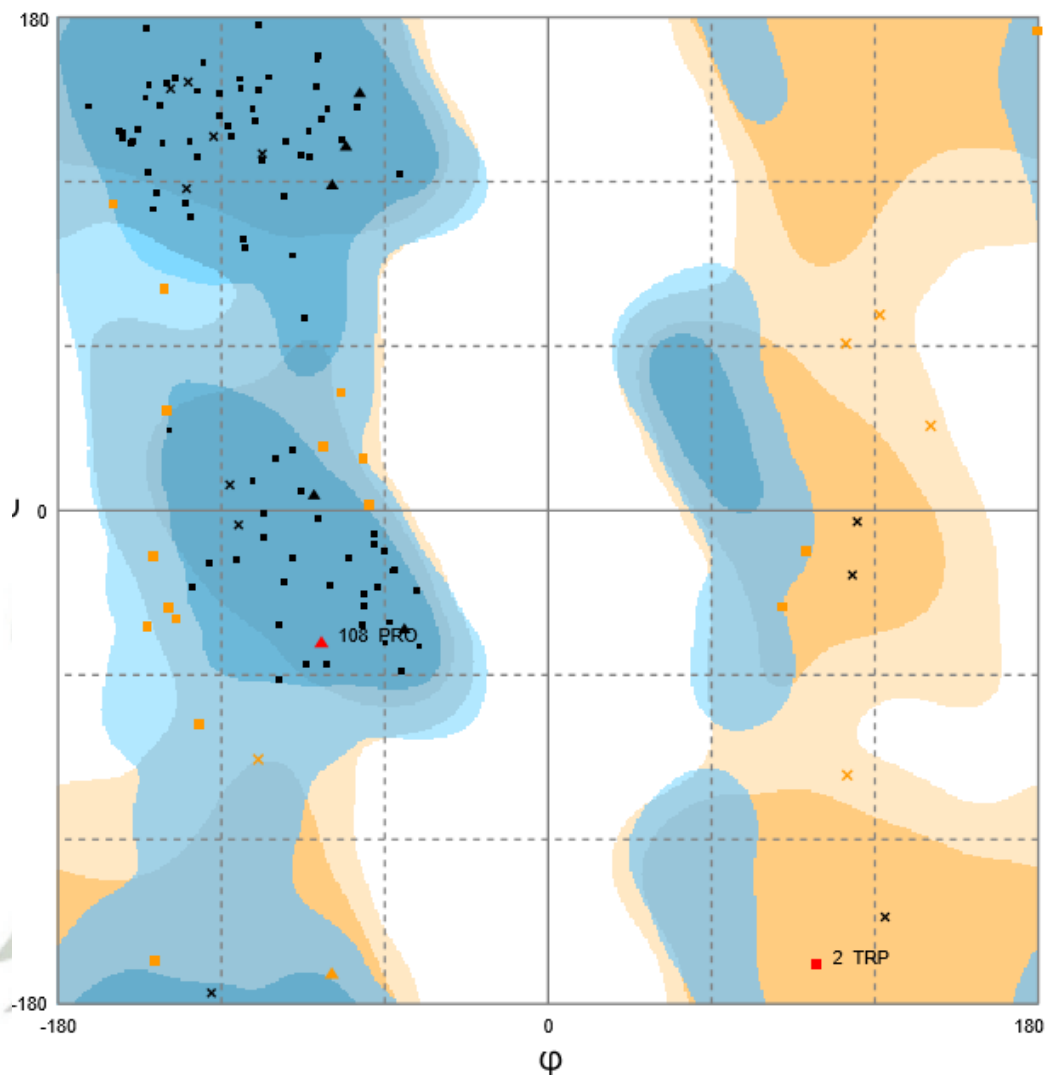


Figura 4.4: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Mal d 4.0102 (Manzana).

En la figura 4.4 se muestra el análisis estructural de la profilina de manzana. Ésta presenta 2 residuos fuera de las regiones permitidas dando un porcentaje de 1.6%. No obstante, solo el aminoácido triptófano 2 no se encuentra dentro las zonas permitidas debido, probablemente, a los efectos estéricos propios del aminoácido. El porcentaje de las regiones favorables es de 81.1%, estando dentro del valor permitido para la validación estructural en el gráfico de Ramachandran.

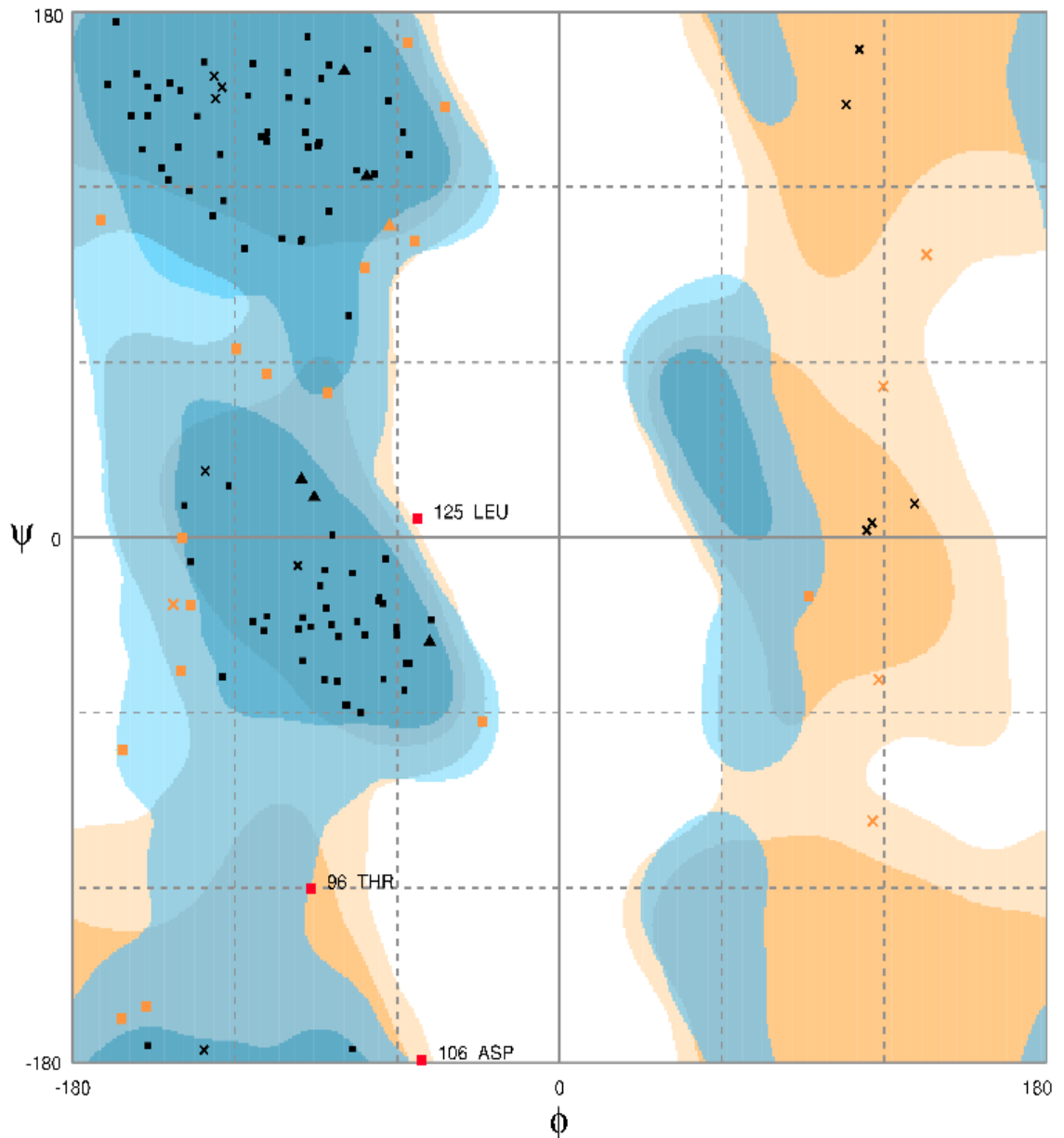


Figura 4.5: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Pru du 4.0101 (Almendra).

En la figura 4.5 se muestra el análisis estructural de la profilina de almendra. Ésta presenta tres residuos fuera de las regiones permitidas siendo su porcentaje de 2.4% correspondiente a toda la estructura analizada. Los tres aminoácidos, leucina 125, treonina 96 y aspartato 106, podrían no encontrarse dentro del gráfico debido a los efectos estéricos propios del aminoácido. El porcentaje de las regiones favorables es de 80.3%, estando dentro del porcentaje permitido para la validación estructural en el gráfico de Ramachandran.

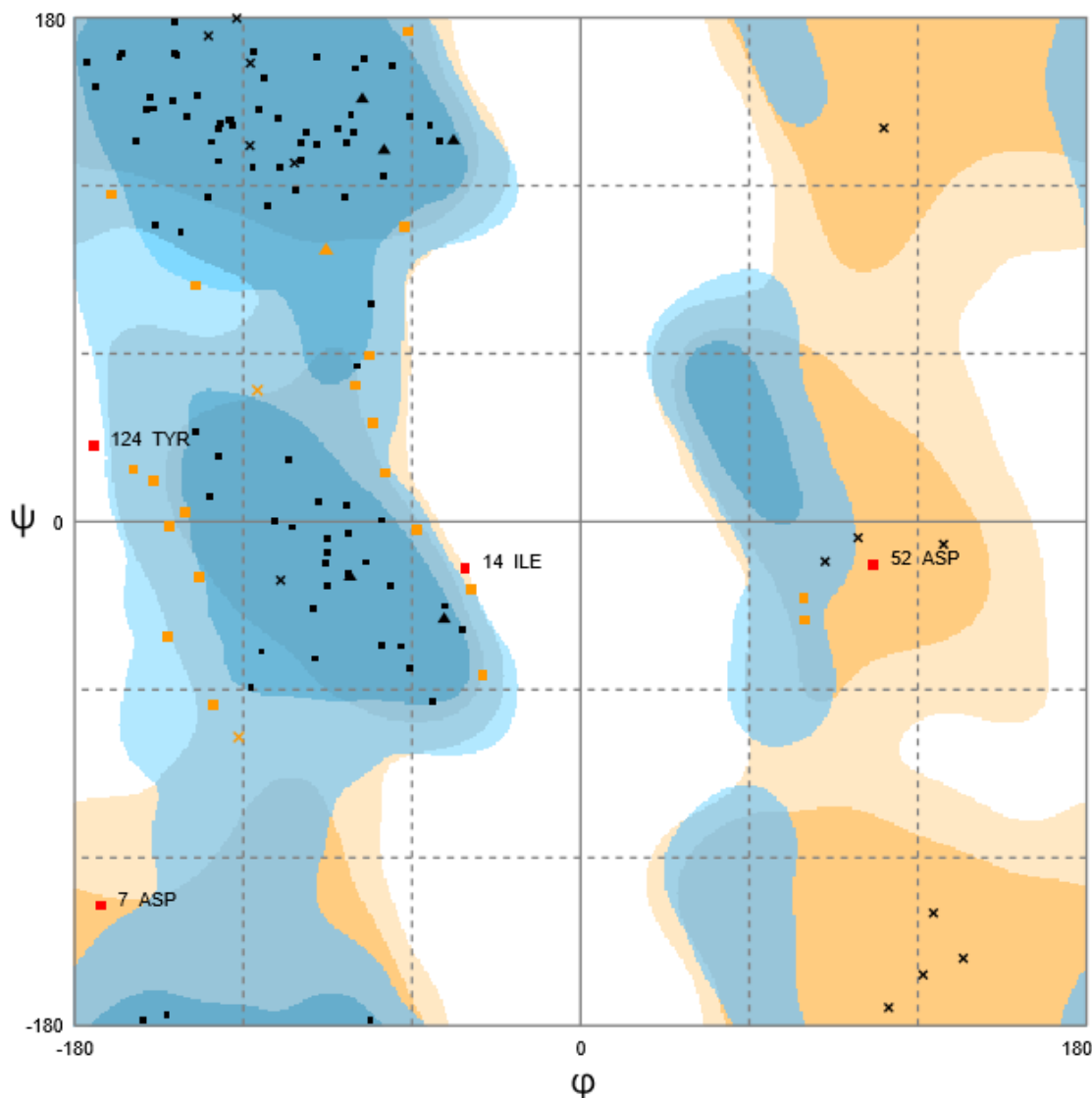


Figura 4.6: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Prup 4.0101 (Durazno)

En la figura 4.6 se presenta el análisis estructural de la profilina de durazno. En ésta se observan 4 residuos (aspartato 7, isoleucina 14, aspartato 52 y tirosina 124) fuera de las regiones permitidas siendo su porcentaje de 3.1% correspondiente a toda la estructura analizada. El porcentaje de las regiones favorables es de 78.7%, estando dentro del permitido para la validación estructural en el gráfico de Ramachandran.

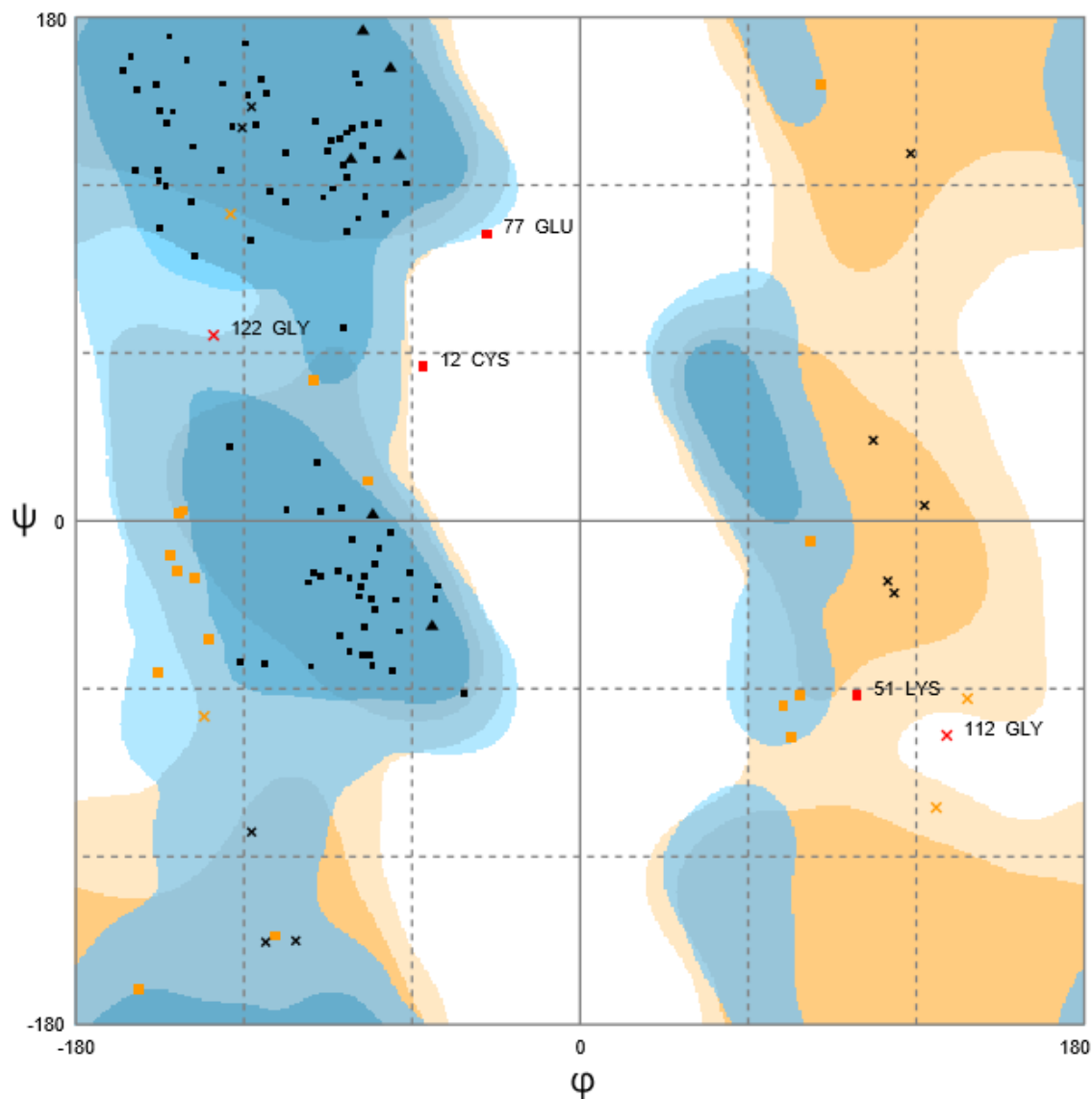


Figura 4.7: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Pru av 4 (Cereza)

En la figura 7 se puede apreciar el análisis estructural de la profilina de cereza la cual presenta 5 residuos (ácido glutámico 77, glicina 112, glicina 122, cisteína 12 y lisina 51). En el caso de la glicina se debe a que es único aminoácido que no presenta cadena lateral. El porcentaje de las regiones favorables es de 80.3%, el cual se mantiene dentro del permitido para la validación estructural en el gráfico de Ramachandran.

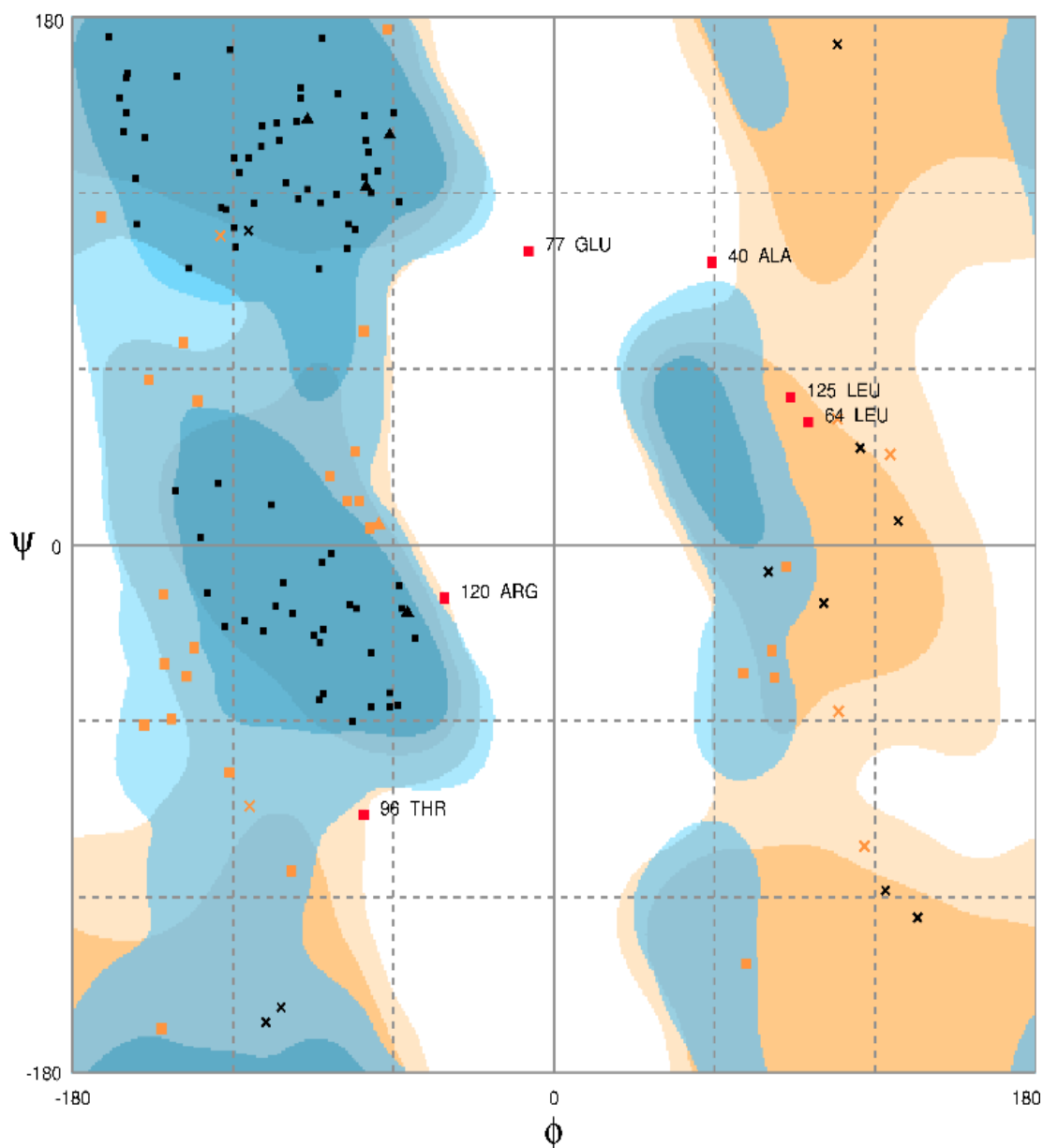


Figura 4.8: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Cit s 2 (Naranja)

La figura 4.8 muestra el análisis estructural de la profilina de naranja. Este análisis arrojó que 6 residuos (ácido glutámico 77, alanina 40, leucina 125, leucina 64, arginina 120 y treonina 96) se encuentran fuera de las regiones permitidas dando un porcentaje de 4.7% correspondiente a toda la estructura analizada. El porcentaje de las regiones favorables es de 70.1%, estando dentro del porcentaje permitido para la validación estructural en el gráfico de Ramachandran.

D. Validación de las estructuras proteicas de la familia *Rosaceae* por RMSD

Una herramienta muy práctica en bioinformática para analizar y validar la estabilidad estructural proteica es el RMSD. Con esta herramienta se puede evaluar la variación geométrica de la estructura proteica en el modelado y en la dinámica molecular.

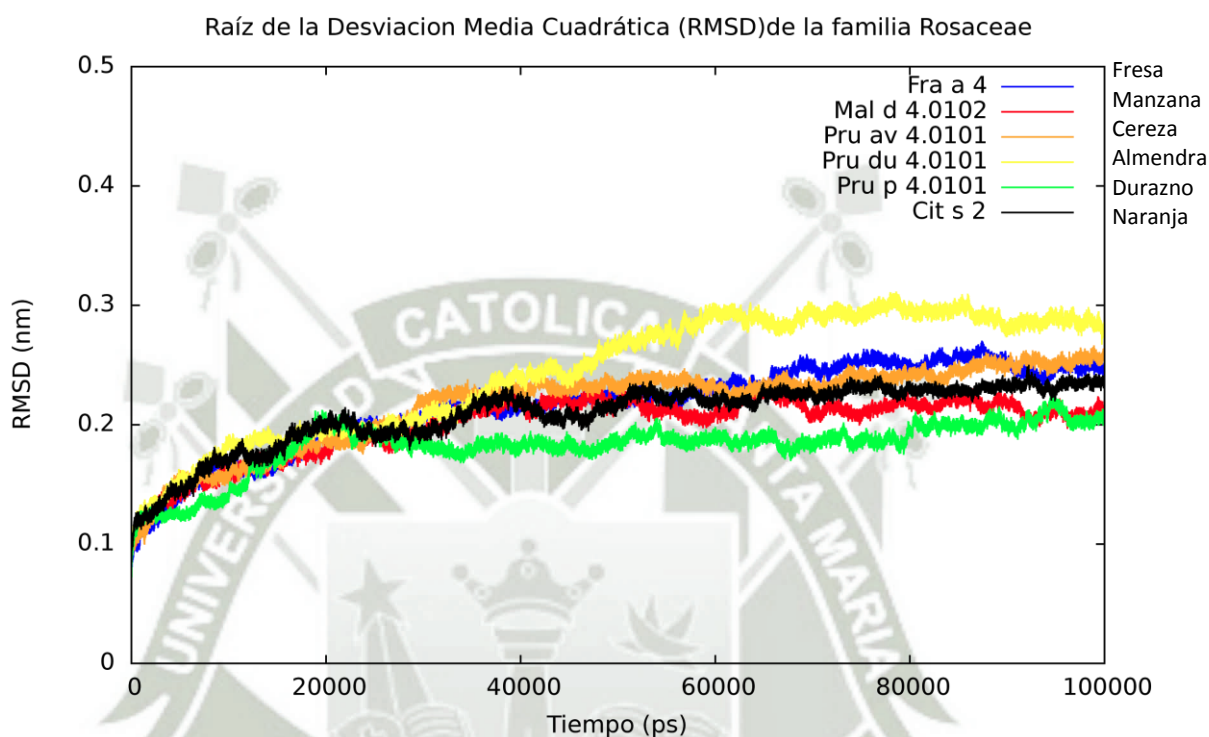


Figura 4.9. Gráfica del RMSD de la familia *Rosaceae*. Donde fresa (azul), manzana (rojo), cereza (naranja), almendra (amarillo), durazno (verde) y naranja (negro).

Los resultados analizados son muy variados debido a que los modelos evaluados no poseen un alineamiento uniforme de las estructuras, es decir, ni el número de aminoácidos es el mismo ni su distribución en la cadena polipeptídica. Sin embargo, es posible apreciar que para esta familia todas presentan el mismo comportamiento al estabilizar su estructura, la cual ocurre en promedio a los 40 nanosegundos en un rango entre los 0.15 a 0.3 nm. Esta gráfica nos demuestra que la estabilidad de las proteínas en esta familia *Rosaceae* converge rápidamente bajo todas las condiciones dadas en la simulación hecha por dinámica molecular.

Un dato a resaltar en la figura 4.9 es que la profilina del durazno (verde) estabiliza con más rapidez y con menos variación estructural (0.15 nm) que las otras profilinas. Además, la profilina que presentó una convergencia más tardía en la estabilidad estructural fue la de la almendra (amarillo) a los 60 ns. Dado que el análisis de las RMSD mostró estructuras estables dentro de la dinámica molecular es posible asegurar que estas estructuras son probables de existir naturalmente.

E. Validación de las estructuras proteicas de la familia *Rosaceae* por RMSF.

El análisis del RMSF nos ayudará a determinar las fluctuaciones de los aminoácidos presentes en la estructura de cada profilina contra la distancia medida en nm.

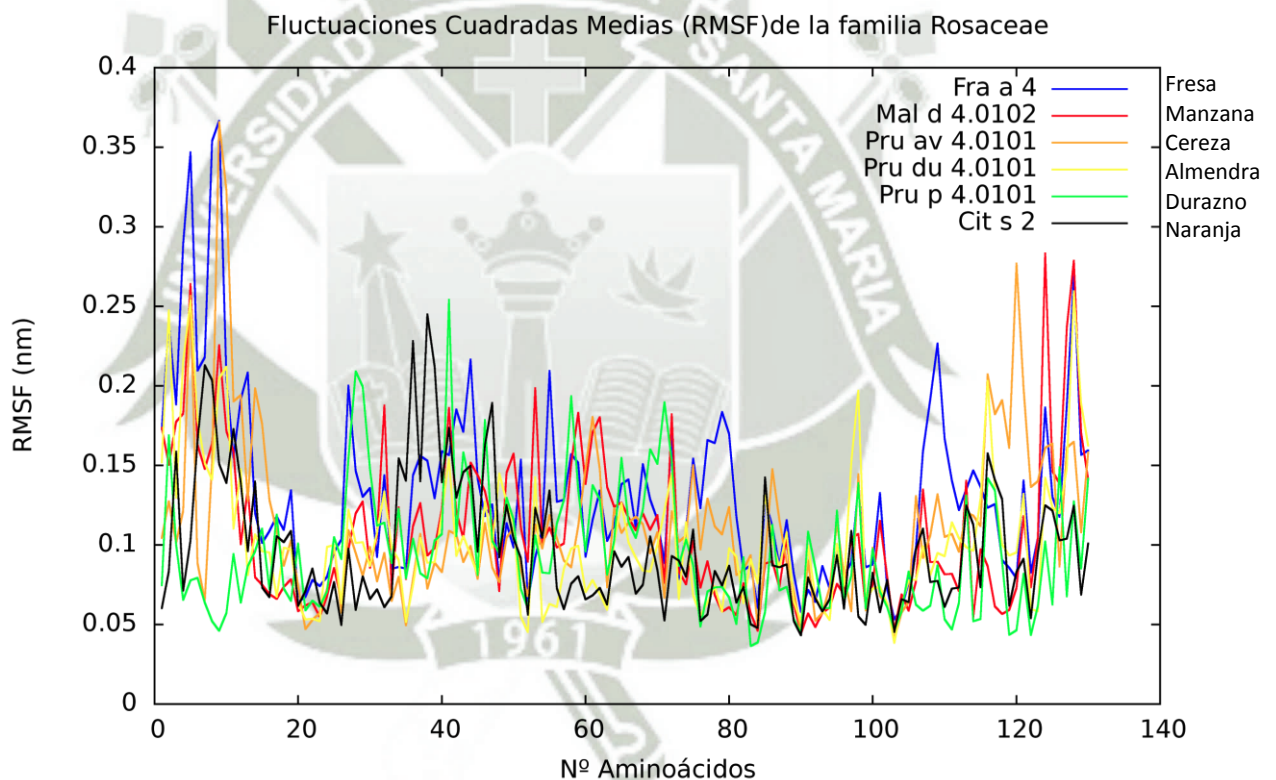


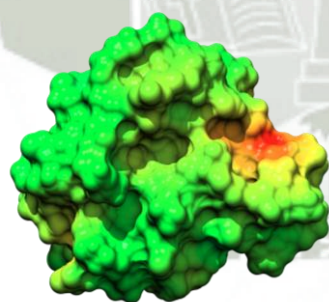
Figura 4.10. Gráfica del RMSF de la familia *Rosaceae*. fresa (azul), manzana (rojo), cereza (naranja), almendra (amarillo), durazno (verde) y naranja (negro).

Como se puede apreciar en la figura 4.10 en la familia *Rosaceae*, existe una estabilidad en las fluctuaciones de todos los aminoácidos presentes en cada profilina, y solo se muestran picos altos en las colas, lo cual nos indica que los aminoácidos en estas zonas están en movimiento constante debido a que las

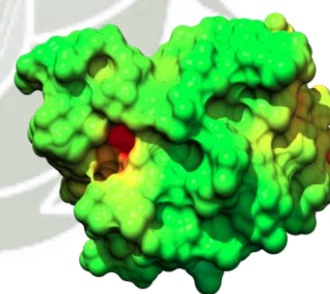
proteínas con el tiempo tienden a estabilizarse. Se examinaron las colas de las profilinas que mostraron altas fluctuaciones en las colas y se observó que la profilina de la fresa, (treonina 4), presenta un pico de 0.2892 nm, la tirosina 5 con 0.3468 nm y glutamina 128 con 0.2692 nm. La profilina de la manzana presentó picos para la tirosina 5 con 0.2640 nm y para la glutamina 128 con 0.2692 nm y para la prolina de la almendra; tirosina 5 con 0.2536 nm y glutamina 128 con 0.2594 nm. Todos estos aminoácidos son hidrofílicos sin carga, al tener estas propiedades puede ser que los aminoácidos sean más estables dentro de las condiciones de la dinámica. Para la profilina de la cereza se presentó la histidina 9 con 0.3658 nm y la arginina 120 con 0.2770, ambos aminoácidos son hidrofílicos con carga positiva. Para el caso del durazno y naranja al poseer fluctuaciones bajas dentro de toda la familia fueron despreciadas para este análisis.

F. Potencial Electroestático de profilinas modeladas de la familia *Rosaceae*

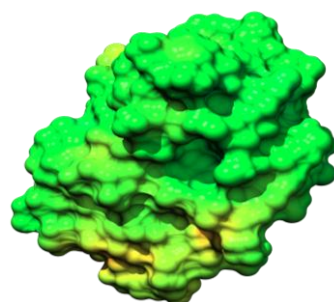
Se determinó el APBS o potencial electrostático para describir algunas interacciones electrostáticas de las profilinas estudiadas en medio acuoso, estos resultados hallados son un precedente para futuros estudios en el diseño de fármacos



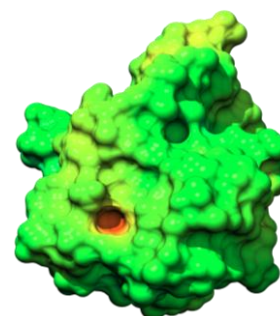
(a) Fra a 4
(Fresa)



(b) Mal d 4.0102
(Manzana)



(c) Pru du 4.0101
(Almendra)



(d) Pru av 4

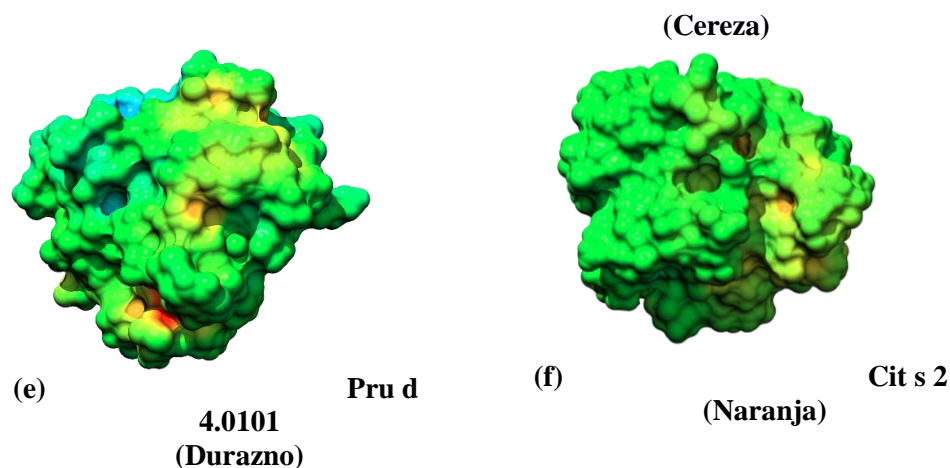


Figura 4.11. Potencial Electrostático de profilinas de la familia *Rosaceae* por el software donde se muestra a la (a) fresa, (b) manzana, (c) almendra, (d) cereza, (e) durazno y (f) naranja con potenciales electrostáticos entre -10 y 6, siendo más electronegativos que electropositivos

Como se puede apreciar en la figura 4.11 con respecto al potencial electrostático de la familia *Rosaceae*, para el caso de la profilina de fresa se muestra que la proteína tiene pocillos electronegativos de -4 a -3, y una pequeña región de carga -9, siendo la parte más electronegativa de la profilina. Para la profilina de manzana se puede observar un pocillo electronegativo de -9, este pocillo aparentemente tiene bastante potencial para ser un blanco perfecto para un docking.

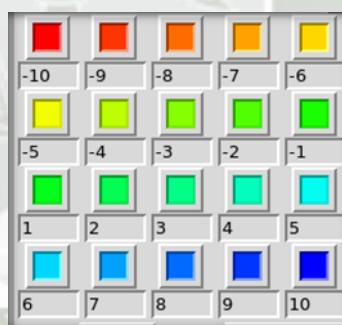


Figura 4.12 Escala de colores para el APBS. El cuadro está relacionado con la escala analizada del potencial electrostático, que va desde -10 al 10.

Para la profilina de la almendra toda la proteína se encuentra en un rango de -4 a -1 de electronegatividad. Para la profilina de la cereza se puede observar un pocket de -8 a -10 considerando ser un blanco perfecto para un docking. La profilina del durazno es la única proteína que muestra zonas positivas en su estructura con un potencial electrostática de 5 a 6, haciendo que la proteína sea ideal para blancos electronegativos ya que esta contiene pocket electropositivos. Por último, tenemos a la profilina de la naranja que presenta en su estructura pocillos electronegativos con un perfil de -3 a -2. Todas estas profilinas en su mayoría presentan cargas

electronegativas medias y algunos pocillos ideales para estudios de docking molecular para el diseño de fármacos.

2. PROFILINAS ESTABLES

A. Modelamiento por homología mediante el programa MODELLER en las profilinas que presentaron mayor estabilidad

Como se puede apreciar en la figura 4.13, la profilina de la ambrosia presenta 8 láminas beta con una alfa hélice. La profilina de la cebada presenta 5 láminas beta con dos alfa hélices mientras que la profilina del trigo del isoalérgeno 4 presenta 6 láminas beta con dos alfa hélices. Se sabe por antecedentes bibliográficos que una proteína que presente en su estructura 5 láminas beta es estable, y como se puede apreciar en la figura anterior dos de estas profilinas presentan en su estructura más de 5 láminas beta, haciéndolas más estables en la simulación de la dinámica molecular.

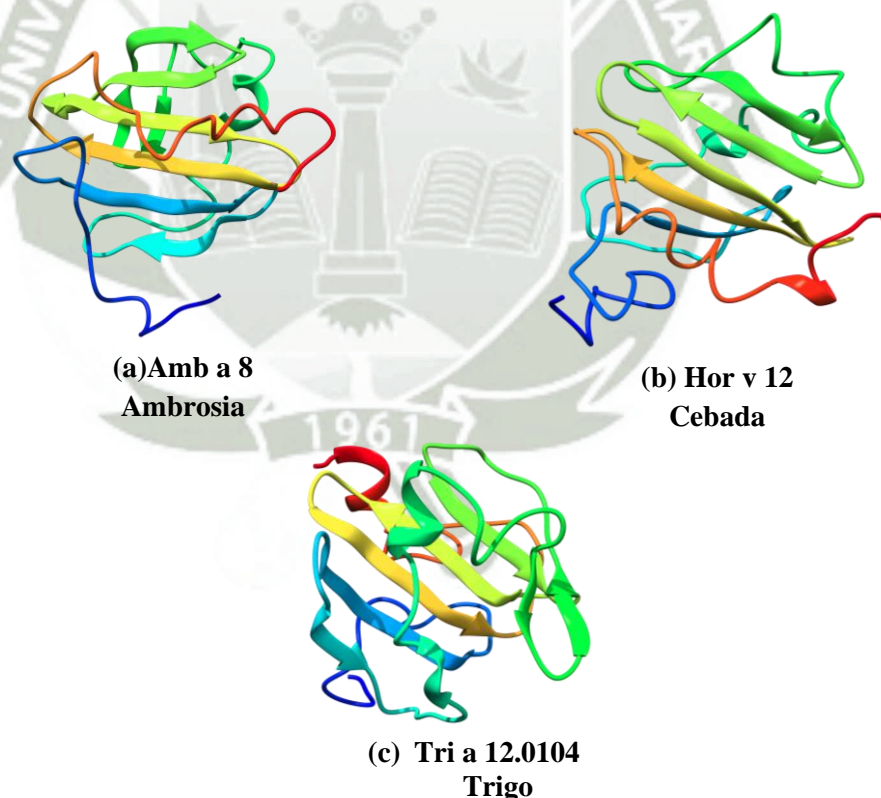


Figura 4.13. Estructura de las profilinas vegetales más estables entre las 59 estructuras evaluadas por el programa MODELLER. Donde se muestra a la (a) ambrosia, (b) cebada (c) trigo.

B. Validación de las estructuras modeladas que presentaron mayor estabilidad con el servidor ProSa

La figura 4.14 muestra la evaluación de las conformaciones estructurales de las profilinas vegetales que presentaron mayor estabilidad después del modelamiento y dinámica molecular, esto se realizó usando el servidor web ProSA. Observando la figura se ve que todas las proteínas mostraron un puntaje de calidad óptimo con un score entre -4.06 y -4.78, demostrando que la proteína modeladas no presentaban errores estructurales

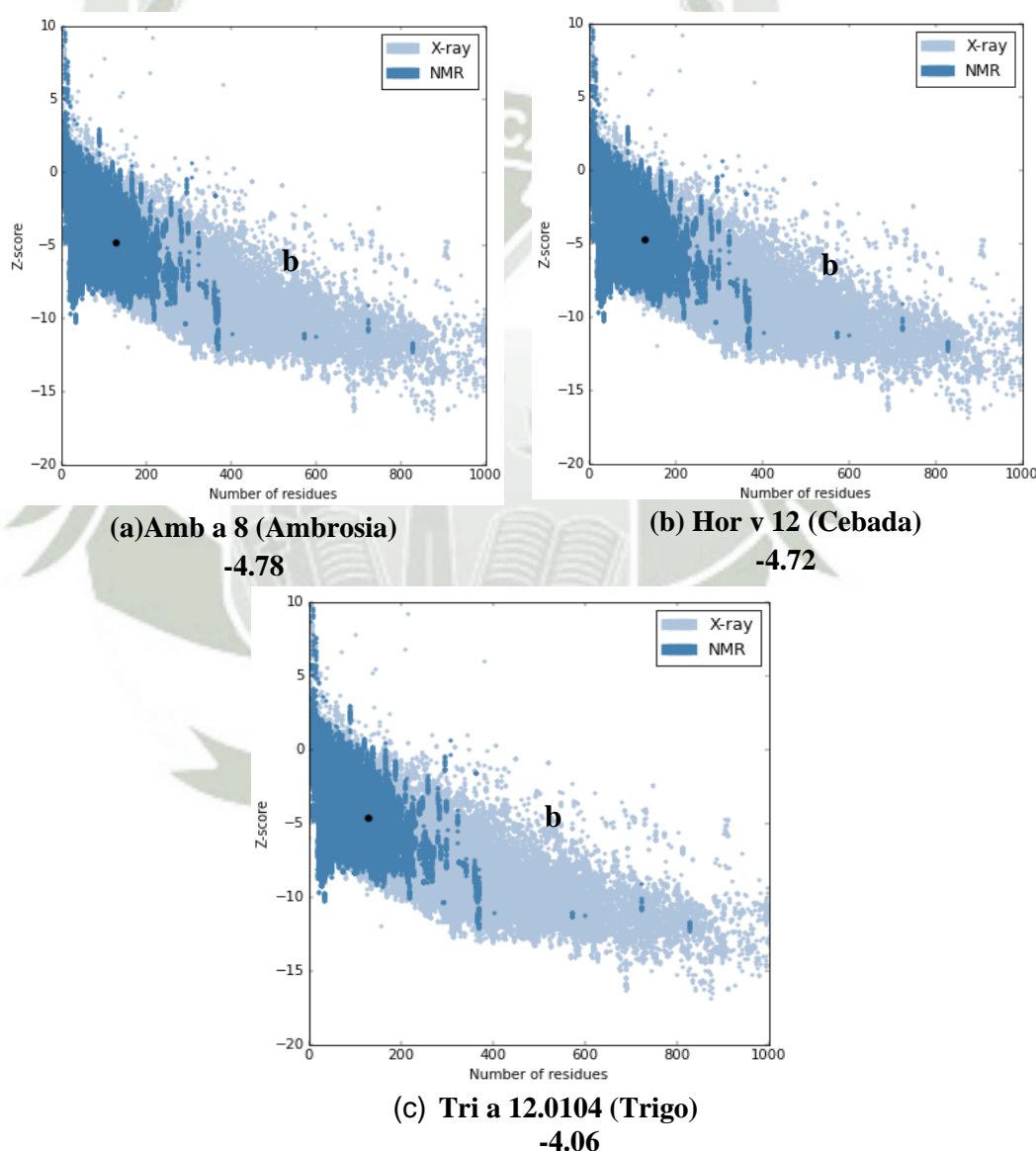


Figura 4.14. Validación de las estructuras modeladas que presentaron mayor estabilidad entre las 59 estructuras analizadas por el servidor ProSa: Donde se encuentran tres profilinas vegetales (a) ambrosia, (b) cebada y (c) trigo.

C. Validación de las estructuras modeladas que presentaron mayor estabilidad por los gráficos de Ramachandran

A continuación, se muestran los tres diagramas de Ramachandran para las perfilinas estudiadas con mayor estabilidad.

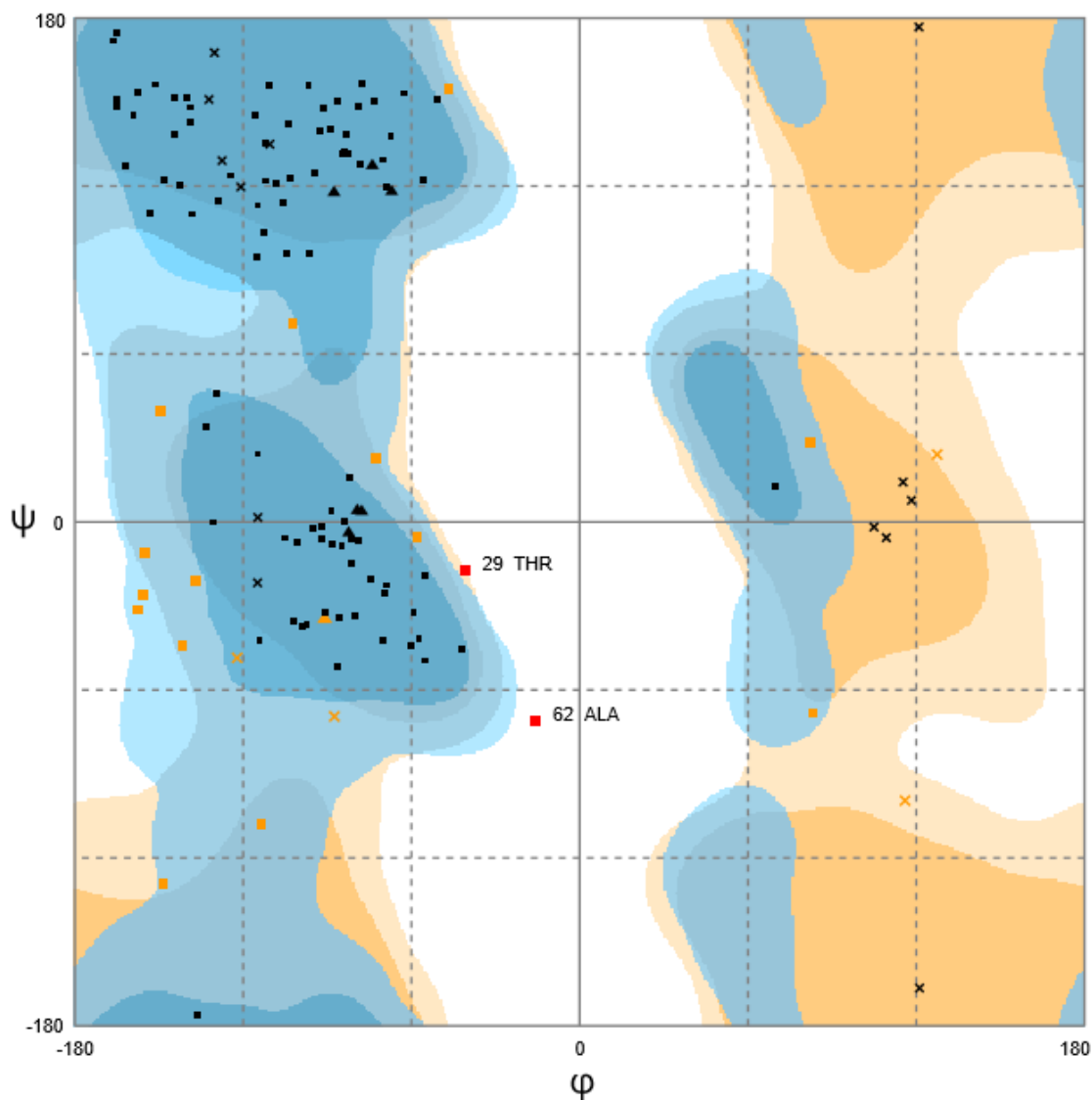


Figura 4.15. Diagrama de Ramachandran para la perfilina Amb a 8 (Ambrosia)

En la figura 4.15 se observa que la perfilina de la ambrosia presentó 2 residuos fuera de las regiones permitidas (treonina 29 y alanina 62) con un porcentaje de 1.6%, el porcentaje total de número de residuos en las zonas favorecidas fue de 83.7%, estando dentro de los ángulos de rotación de ϕ y ψ permitidos

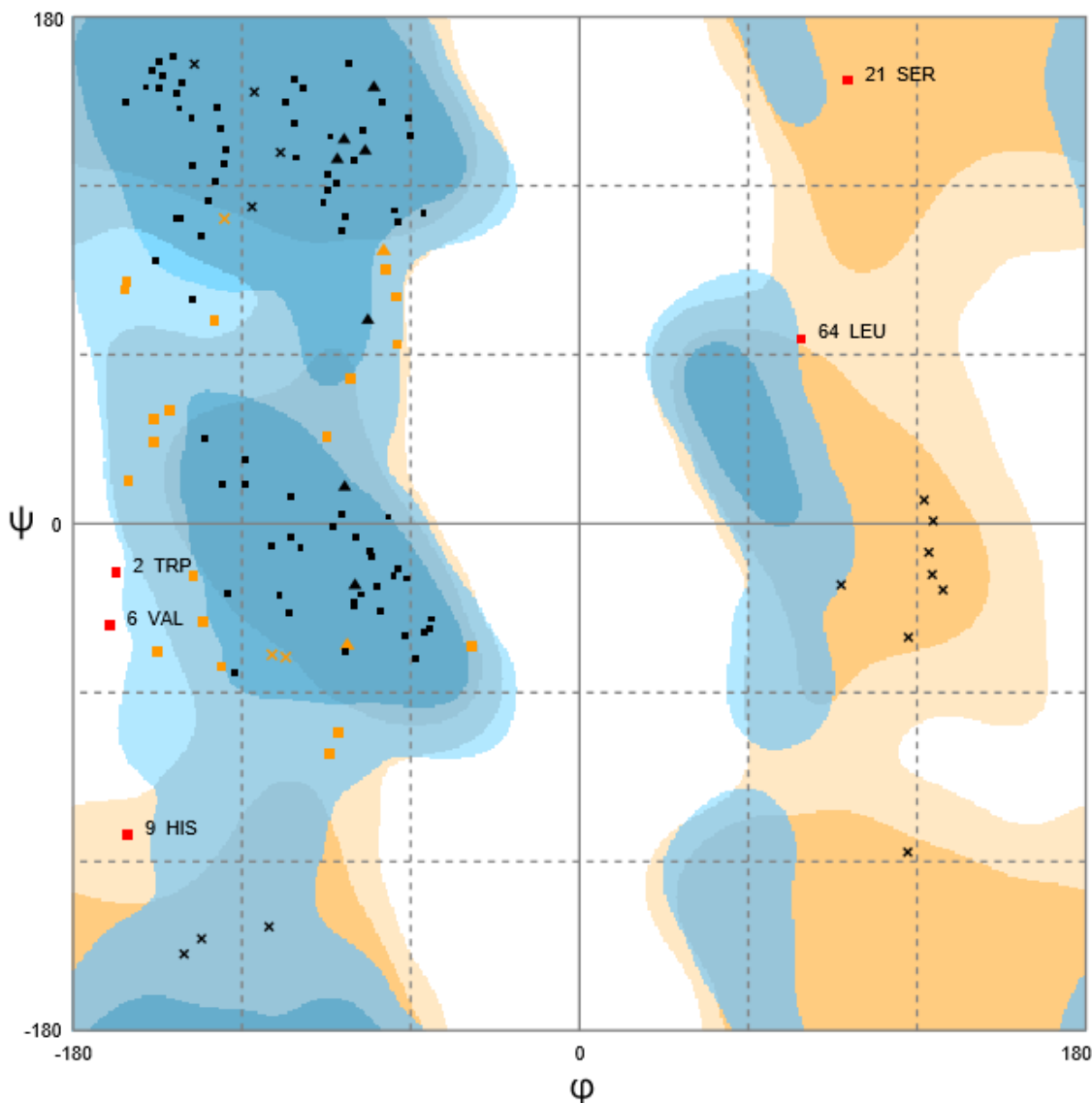


Figura 4.16. Diagrama de Ramachandran para la profilina Hor v 12 (Cebada)

En la figura 4.16 se observa que la profilina presente en la cebada mostró 5 residuos fuera de las regiones permitidas (triptófano 2, valina 6, histidina 9, serina 21 y leucina 64) con un porcentaje de 3.9%, la zona favorecida mostró 77.2%, estando dentro de los ángulos de rotación de ϕ y ψ permitidos

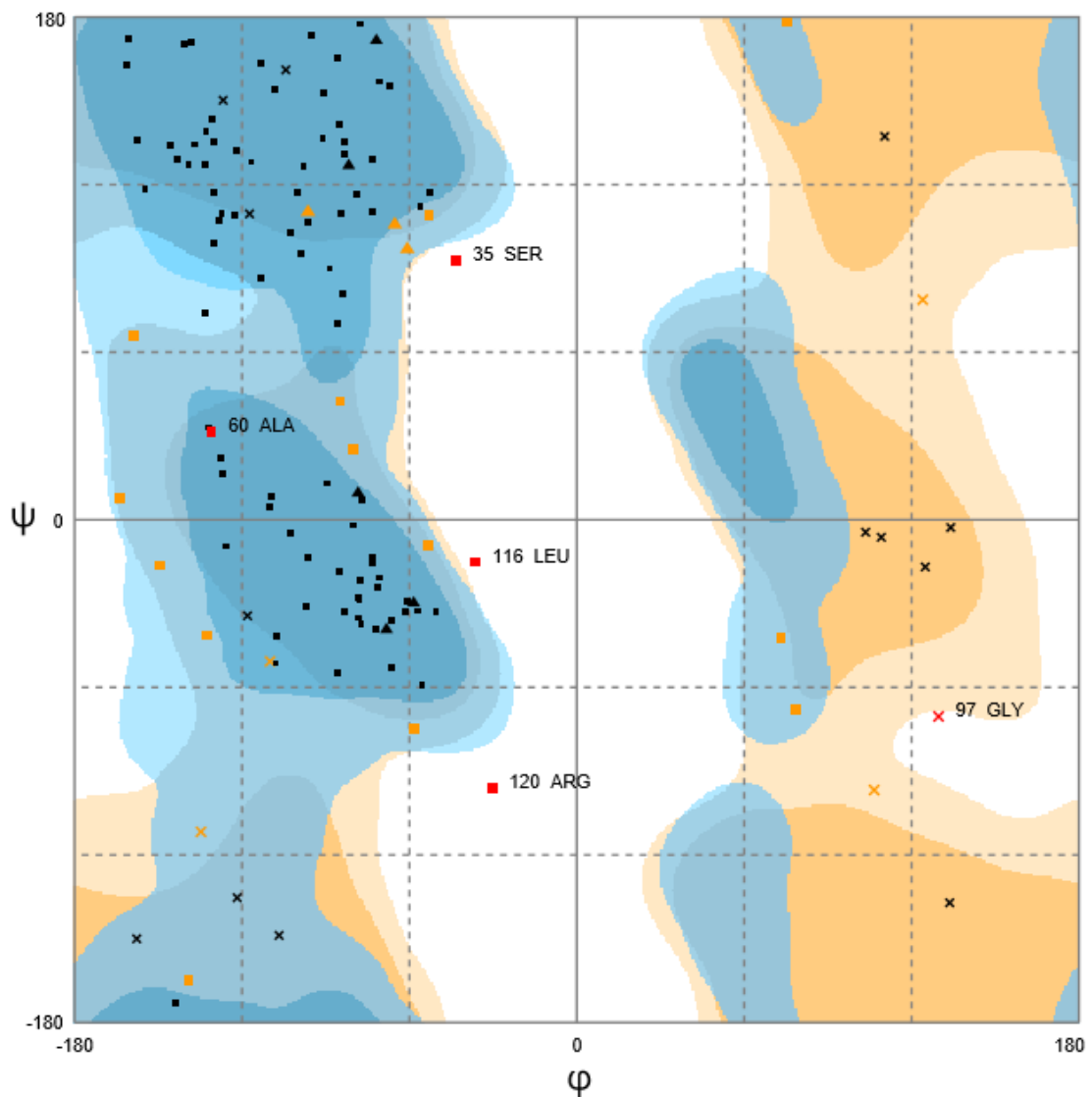


Figura 4.17. Diagrama de Ramachandran para la profilina Tri a 12.0104 (Trigo)

En la figura 4.17 se observa que la profilina presente en el trigo, mostró 5 residuos fuera de las regiones permitidas, estos fueron: serina 35, alanina 60, glicina 97, leucina 116 y arginina 120 con un porcentaje de 3.9%, el porcentaje total de número de residuos en las zonas favorecidas fue de 80.3%, estando dentro de los ángulos de rotación de ϕ y ψ permitidos

D. Validación de las estructuras proteicas que presentaron mayor estabilidad por RMSD

La validación de las estructuras proteicas que presentaron mayor estabilidad frente a las 59 profilinas estudiadas en total, se muestra a continuación en el diagrama del RMSD.

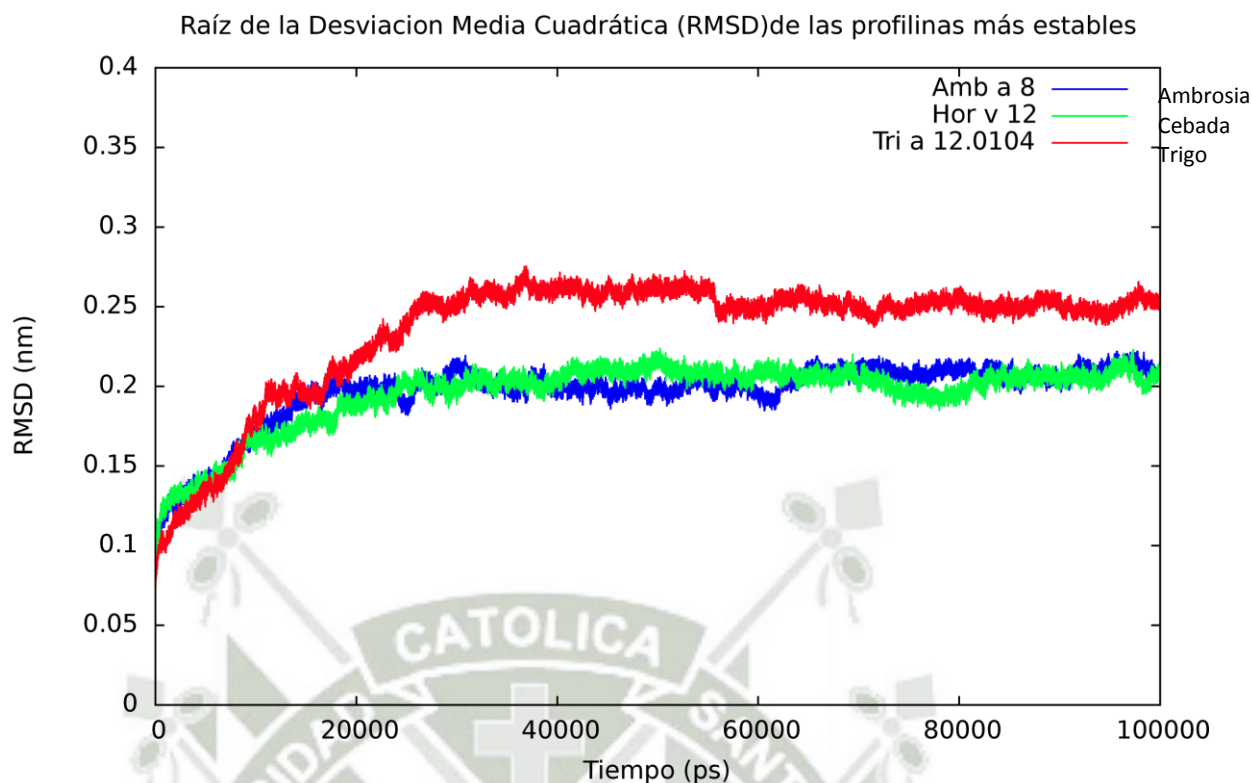


Figura 4.18. Gráfica del RMSD de las estructuras modeladas que presentaron mayor estabilidad entre las 59 estructuras analizadas Donde ambrosia (azul), cebada (verde) y trigo (rojo).

Se puede apreciar en la figura 4.18 que las profilinas en mención inician su estabilización en promedio a los 30 ns en rango promedio de 0.15 a 0.3 nm. Esta gráfica nos demuestra que la estabilidad de las proteínas es óptima y se mantiene a lo largo del tiempo.

E. Validación de las estructuras proteicas de que presentaron mayor estabilidad por RMSF.

Para la validación de las proteínas más estables se puede apreciar en la figura 19. Las pocas fluctuaciones que tuvieron las profilinas al largo de la dinámica molecular, por lo que el gráfico del RMSD y el RMSF guardan relación.

La figura 4.19 nos muestra una estabilidad en las fluctuaciones de todos los aminoácidos presentes en cada profilina, y solo se puede observar un pico alto en la parte final de la cola de la profilina del trigo que es la tirosina 130 (0.3522 nm). Se ve que respecto las fluctuaciones del sistema son leves y bajas debido a que las proteínas se empiezan a estabilizar en un tiempo menor como el de 30 ns, y no se muestran saltos repentinos respecto al tiempo siguiente.

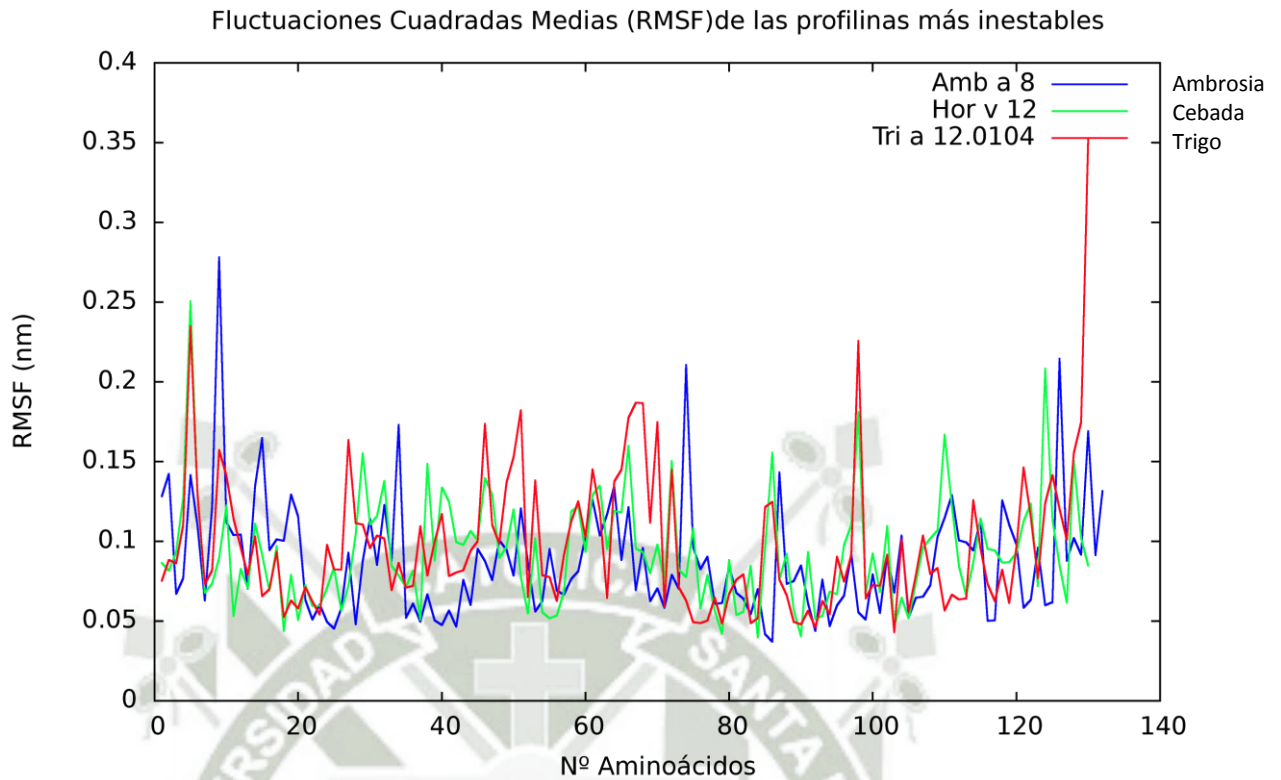


Figura 4.19. Gráfica del RMSF de las estructuras modeladas que presentaron mayor estabilidad entre las 59 estructuras analizadas Donde ambrosia (azul), cebada (verde) y trigo (rojo).

F. Potencial Electrostático de profilinas modeladas que presentaron mayor estabilidad

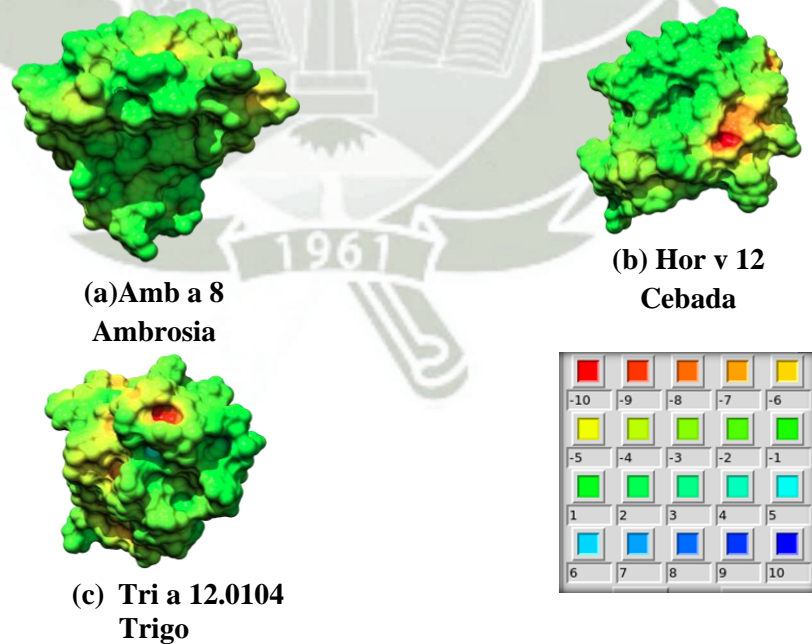


Figura 4.20. Potencial Electrostático de las profilinas vegetales que mostraron mayor estabilidad, donde se muestra (a) ambrosia, (b) cebado y (c) trigo.

Tal como se ve en la figura 4. 20, para la profilina presente en ambrosia se observa

una carga electronegativa que va desde el -5 al -1. Para el caso de la profilina de la cebada la profilina muestra un rango de electronegatividad de -10 y para el caso de la profilina del trigo esta una electronegatividad de -10 a -2 a la vez también presenta un pocillo bastante profundo de color rojo y este podría ser un buen candidato para un docking molecular en el área de diseño de fármacos.

3. PROFILINAS INESTABLES

A. Modelamiento por homología mediante el programa MODELLER en las profilinas que presentaron mayor inestabilidad

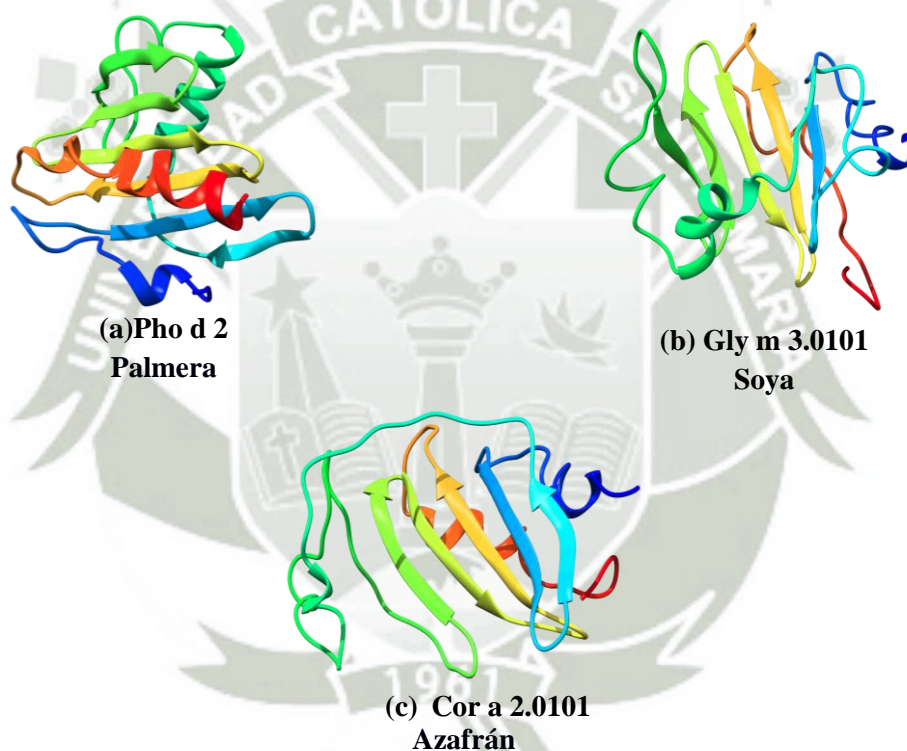


Figura 4.21. Estructura de las profilinas vegetales más inestables entre las 59 estructuras evaluadas por el programa MODELLER. Donde se muestra a la (a) palmera, (b) soya y (c) azafrán.

Como se puede apreciar en la figura 4.21, podemos notar que la profilina de la palmera presenta 6 láminas beta y con 4 alfa hélice, también se puede observar en la figura (a) que la profilina está alargada en una de sus alfa hélices; la profilina de la soya presenta 5 láminas beta con dos alfa hélices y la profilina del azafrán 5 láminas beta con 3 alfa hélice, al igual que la profilina de la palmera, está también muestra una forma más alargada.

B. Validación de las estructuras modeladas que presentaron mayor inestabilidad con el servidor ProSa

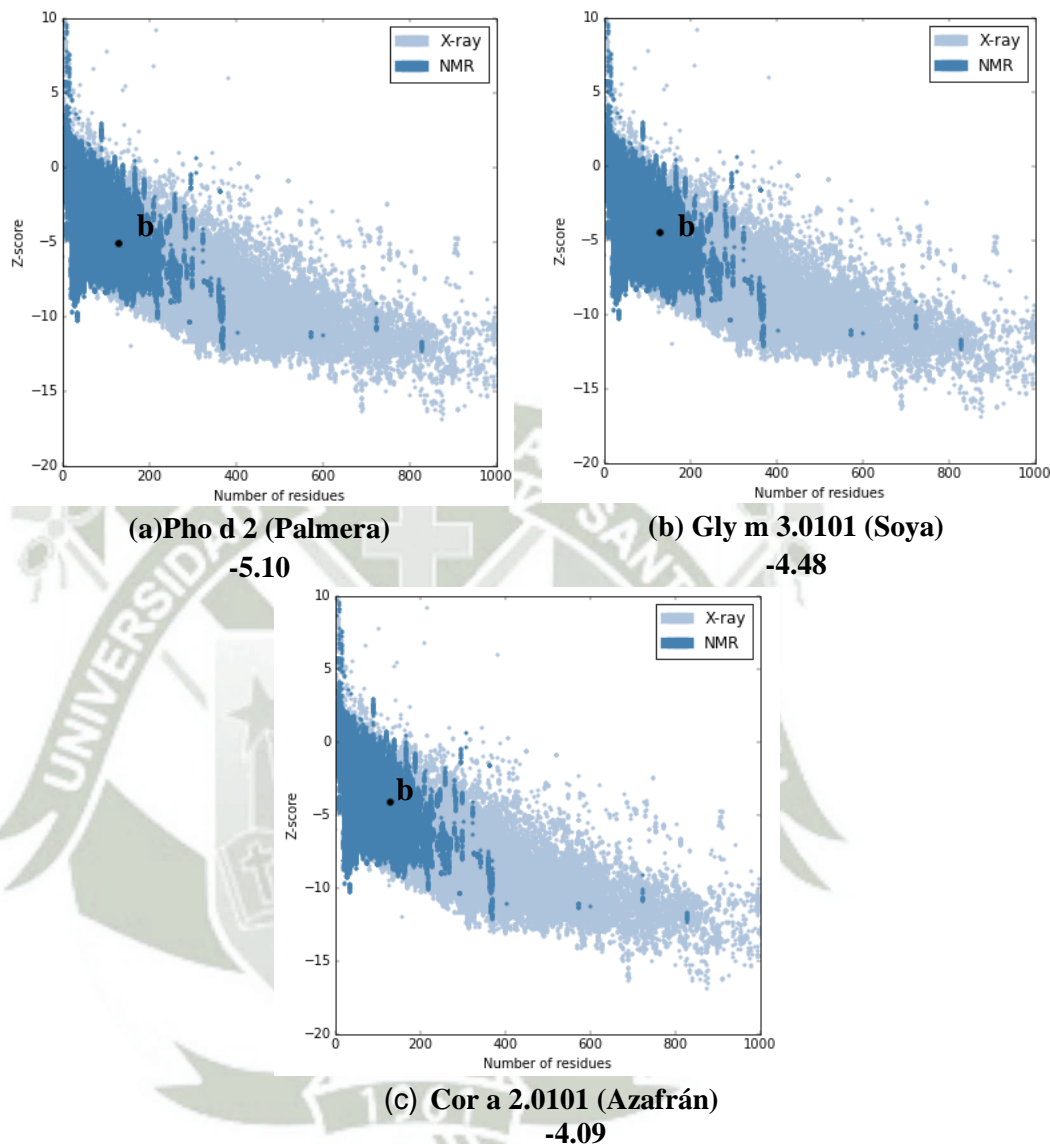


Figura 4.22 Validación de las estructuras modeladas que presentaron mayor inestabilidad entre las 59 estructuras analizadas por el servidor ProSa: Donde se encuentran tres profilinas vegetales (a) palmera, (b) soya y (c) azafrán.

En la figura 4.22 se evaluaron las conformaciones estructurales de las profilinas vegetales que presentaron mayor inestabilidad después del modelamiento y dinámica molecular con el servidor web ProSA. Observando esta figura se ve que todas las proteínas mostraron un puntaje de calidad óptimo con un score entre -4.09 a -5.10, demostrando así que la proteína modeladas no presentaban errores estructurales.

C. Validación de las estructuras modeladas que presentaron mayor inestabilidad por los gráficos de Ramachandran

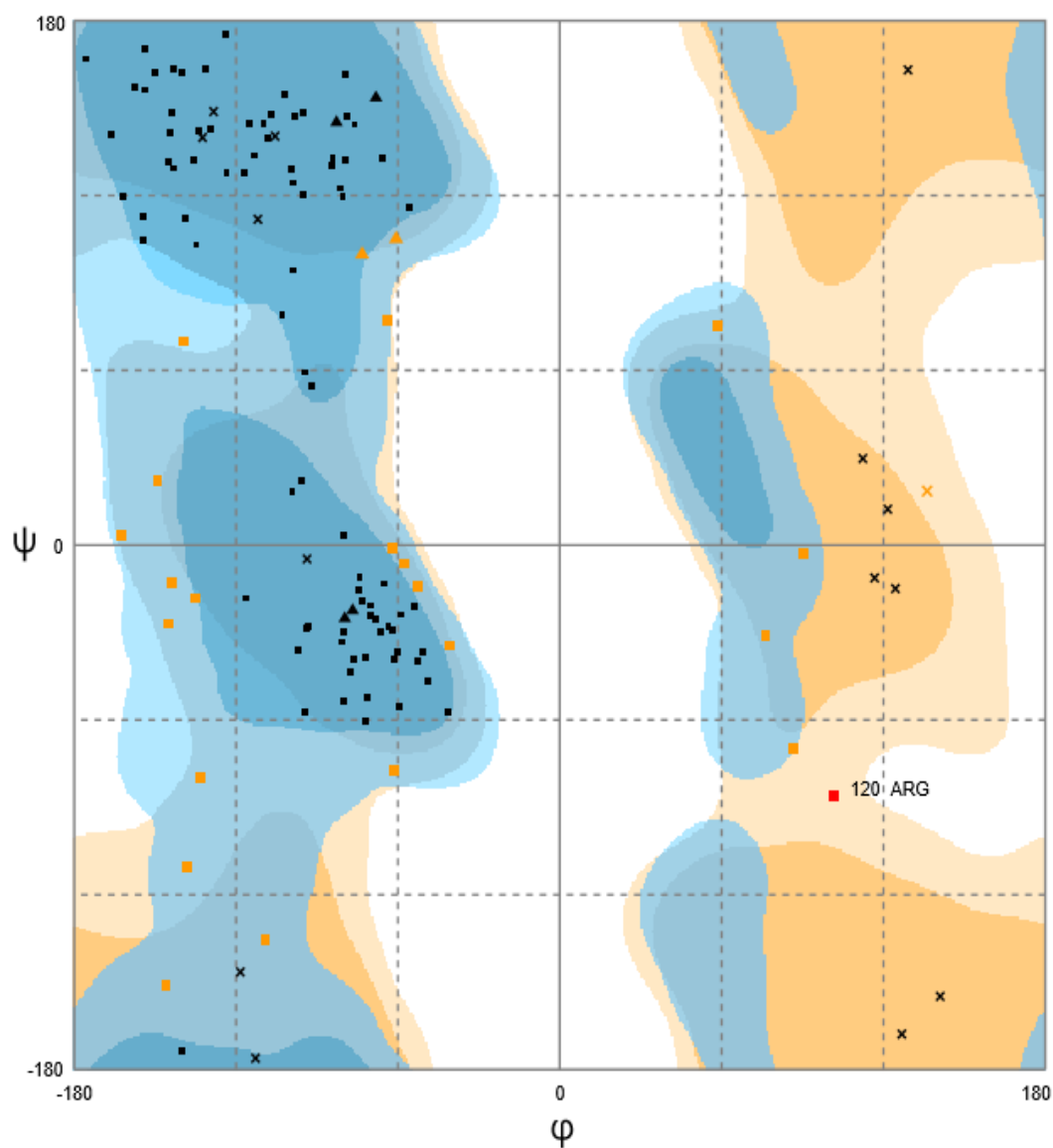


Figura 4.23: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Pho d 2 (Palmera)

En la figura 4.23 se observa que la profilina presente en la palmera mostró como único residuo a la arginina 120 fuera de la región permitida, con un porcentaje de 0.8%, el porcentaje total de número de residuos en las zonas favorecidas fue de 81.1%, estando dentro de los ángulos de rotación de ϕ y ψ permitidos

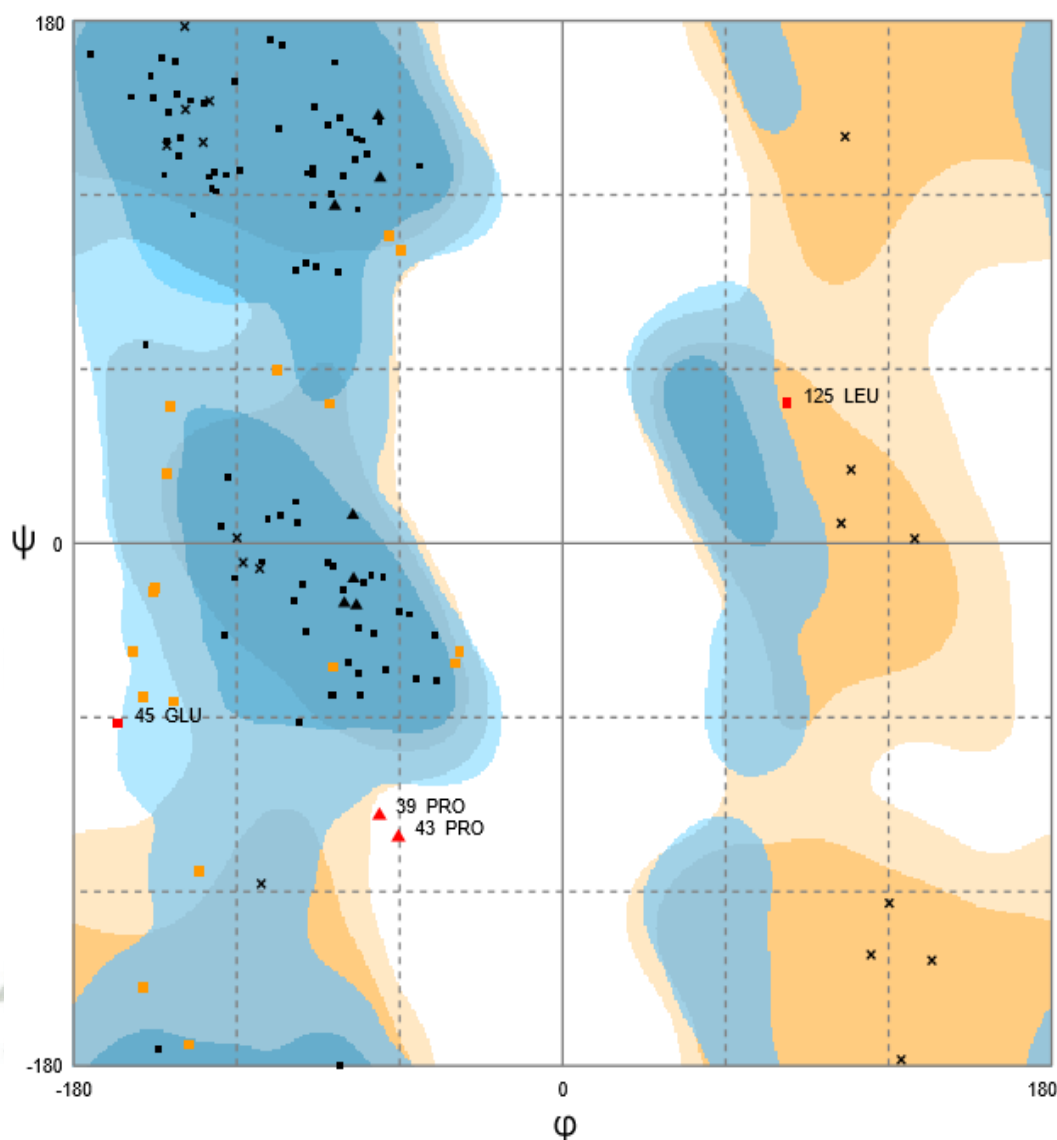


Figura 4.24: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Gly m 3.0101 (Soya)

En la figura 4.24 se observa que la profilina presente en la soya, mostró 4 residuos fuera de la región permitida, y estos fueron: prolina 39, prolina 43, glutamato 45 y leucina 125, con un porcentaje de 3.1%, el porcentaje total de número de residuos en las zonas favorecidas fue de 83.5%, estando dentro de los ángulos de rotación de ϕ y ψ permitidos

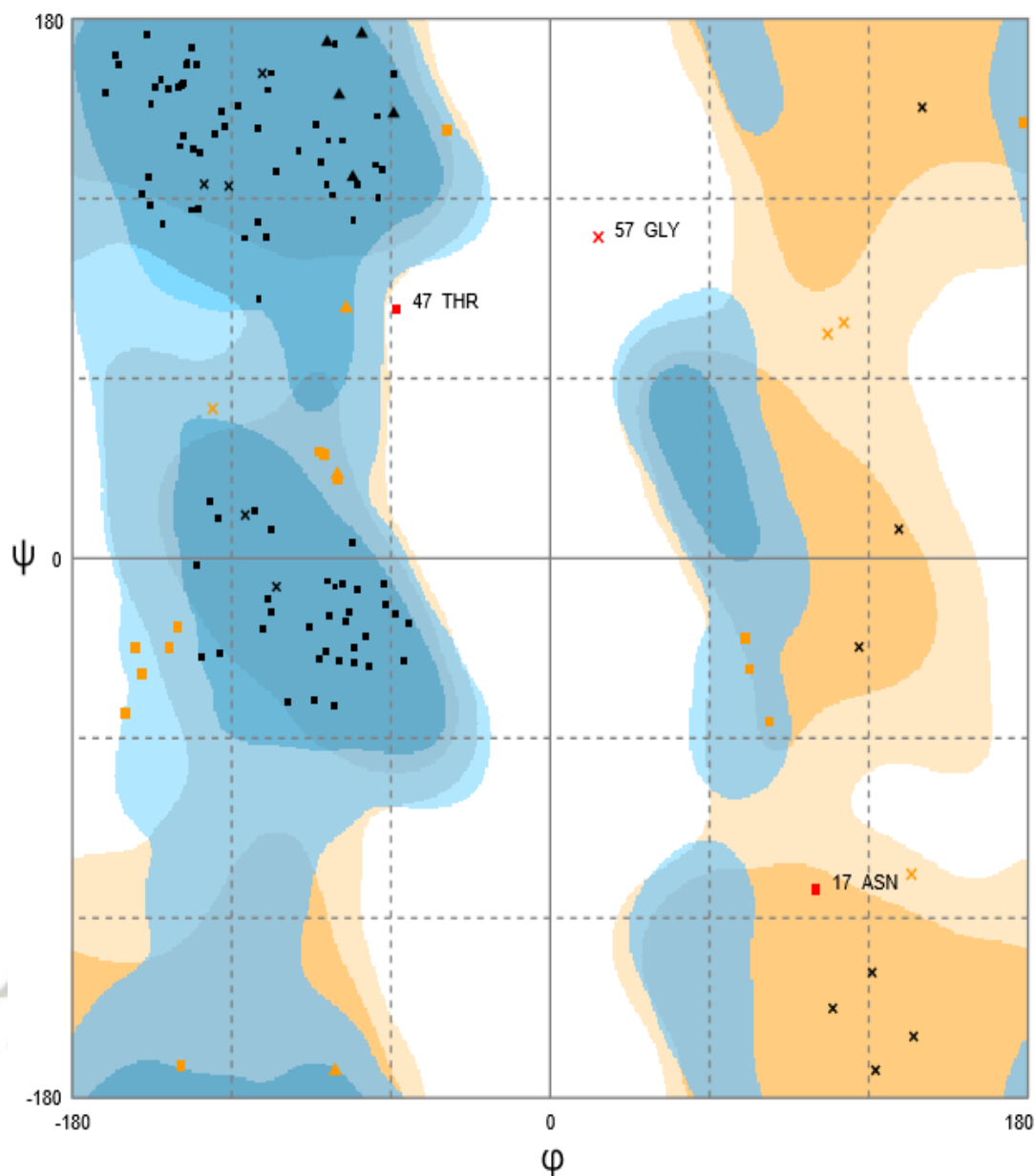


Figura 4.25: Diagrama Ramachandran de la estructura proteica Cor a 2.0101 (Azafrán)

En la figura 4.25 se observa que la profilina presente en la soya, mostró 3 residuos fuera de la región permitida, y estos fueron: asparagina 17, treonina 47 y glicina 57 con un porcentaje de 2.4%, el porcentaje total de número de residuos en las zonas favorecidas fue de 81.1%, estando dentro de los ángulos de rotación de ϕ y ψ permitidos

Con estos datos en cuanto a la validación de las estructuras modeladas de estas 03 profilinas, se encuentran en óptimas condiciones de modelados, a continuación,

veremos el comportamiento de las proteínas modeladas en las condiciones dadas para la dinámica molecular.

D. Validación de las estructuras proteicas que presentaron mayor inestabilidad por RMSD

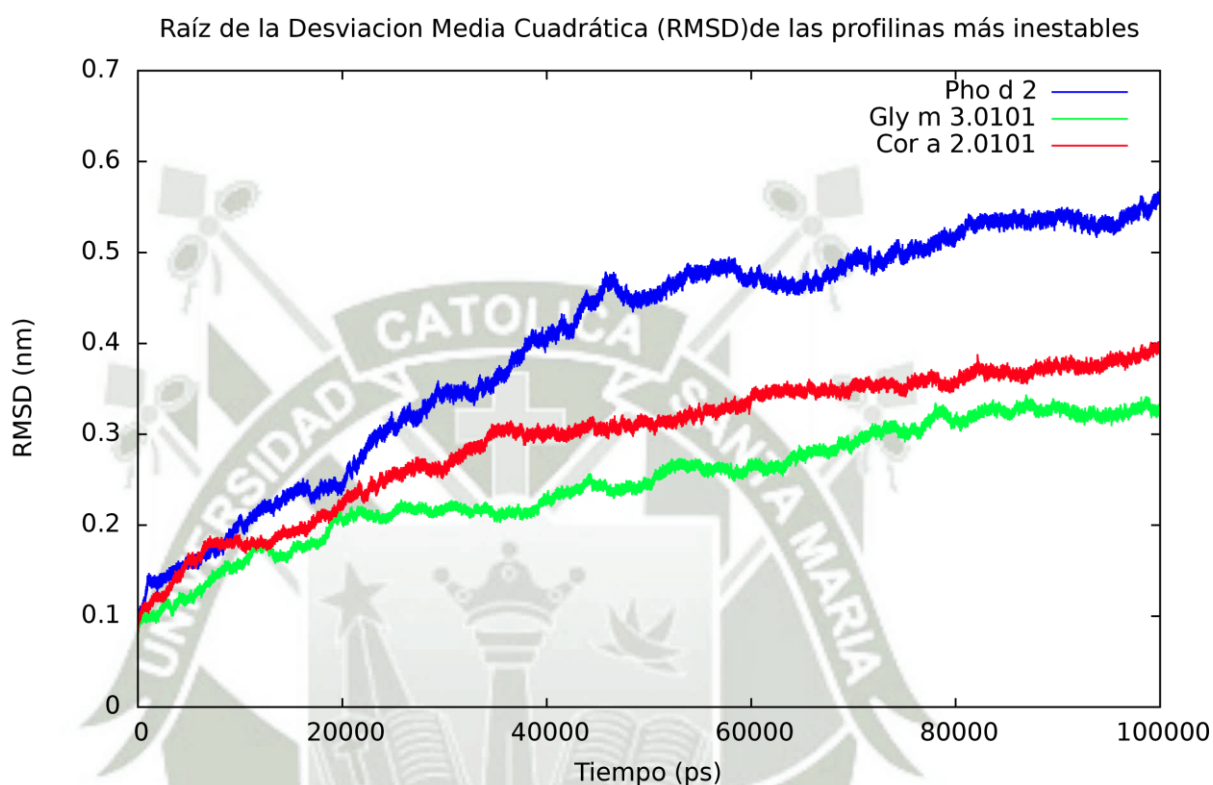


Figura 4.26. Gráfica del RMSD de las estructuras modeladas que presentaron mayor inestabilidad entre las 59 estructuras analizadas. Donde palmera (azul), soya (verde) y azafrán (rojo).

Se puede apreciar en la figura 4.26 que las profilinas en mención tratan de estabilizarse durante los 100 ns, dispuestas como trayectoria en la dinámica. Sin embargo, en todo ese tiempo, las proteínas no se estabilizan, puede ser que le falto más tiempo a la dinámica o quizás algunas de las condiciones dadas durante la simulación no fueron las adecuadas para este tipo de profilinas.

E. Validación de las estructuras proteicas de que presentaron mayor inestabilidad por RMSF.

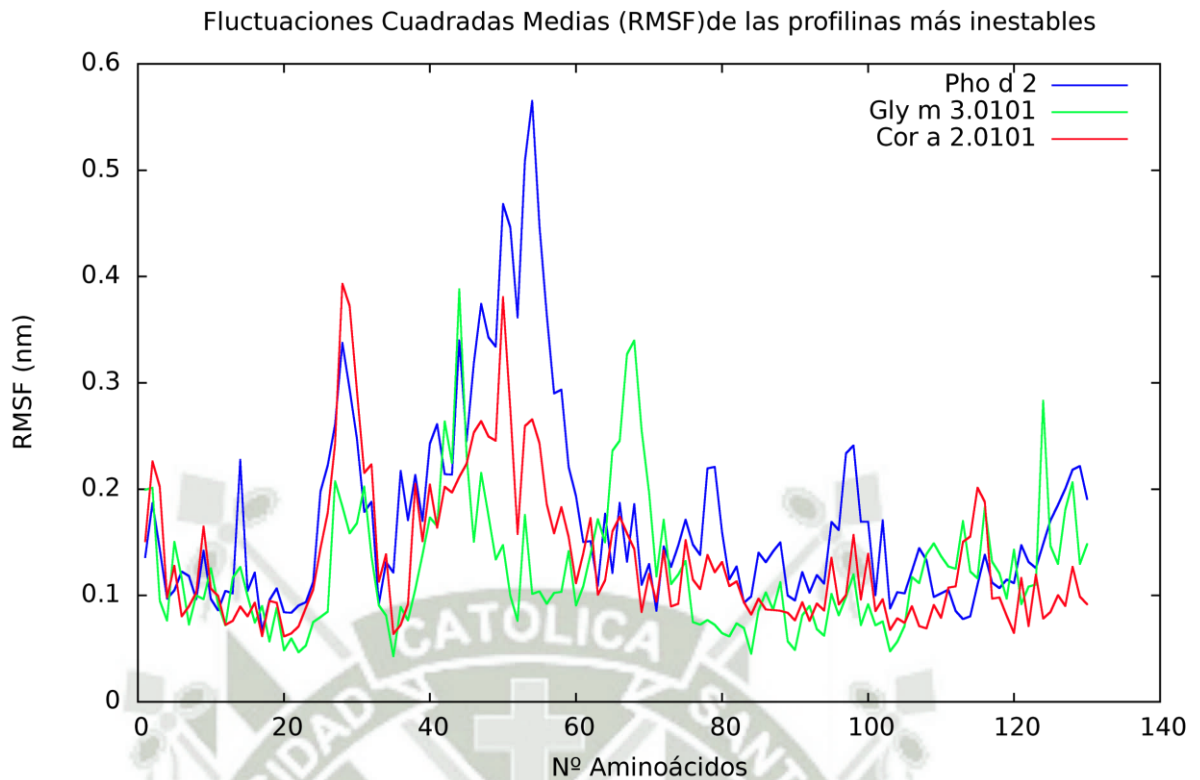


Figura 4.27. Gráfica del RMSF de las estructuras modeladas que presentaron mayor inestabilidad entre las 59 estructuras analizadas. Donde palmera (azul), soja (verde) y azafrán (rojo).

La figura 4.27 nos muestra una inestabilidad en las fluctuaciones de todos los aminoácidos presentes en cada profilina. Se puede observar que para el caso de la profilina de la palmera se observa como picos más altos en el medio a la asparagina 50 (0.4683nm), fenilalanina 53 (0.5085nm) y asparagina 54 (0.5653). Para el caso de la soja se observó como picos más altos al glutamato 44 (0.3880nm), glicina 67 (0.3270 nm) y glicina 68 (0.3398nm). Por último, observamos al azafrán con aspartato 28 (0.3931nm) y la metionina 50 (0.3806nm).

Todas estas fluctuaciones dadas en las profilinas más inestables son probablemente debidas a que las condiciones de las dinámicas no fueron las adecuadas para estas profilinas o quizás necesitaron más tiempo para estabilizarse en el tiempo

F. Potencial Electrostático de profilinas modeladas que presentaron mayor inestabilidad

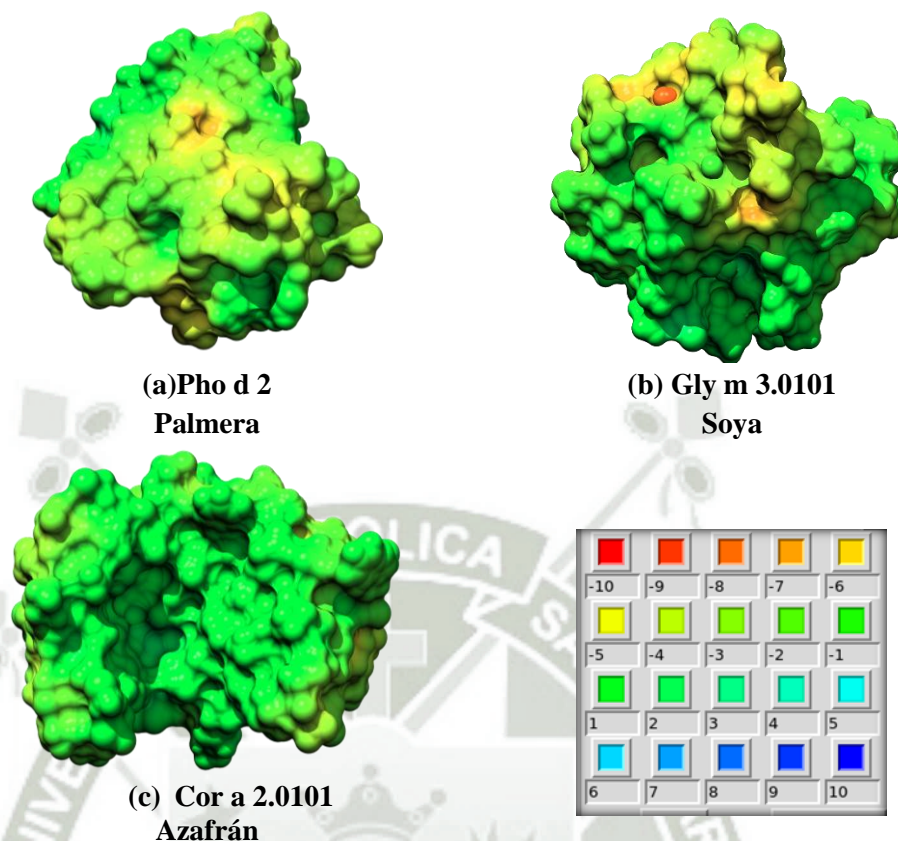


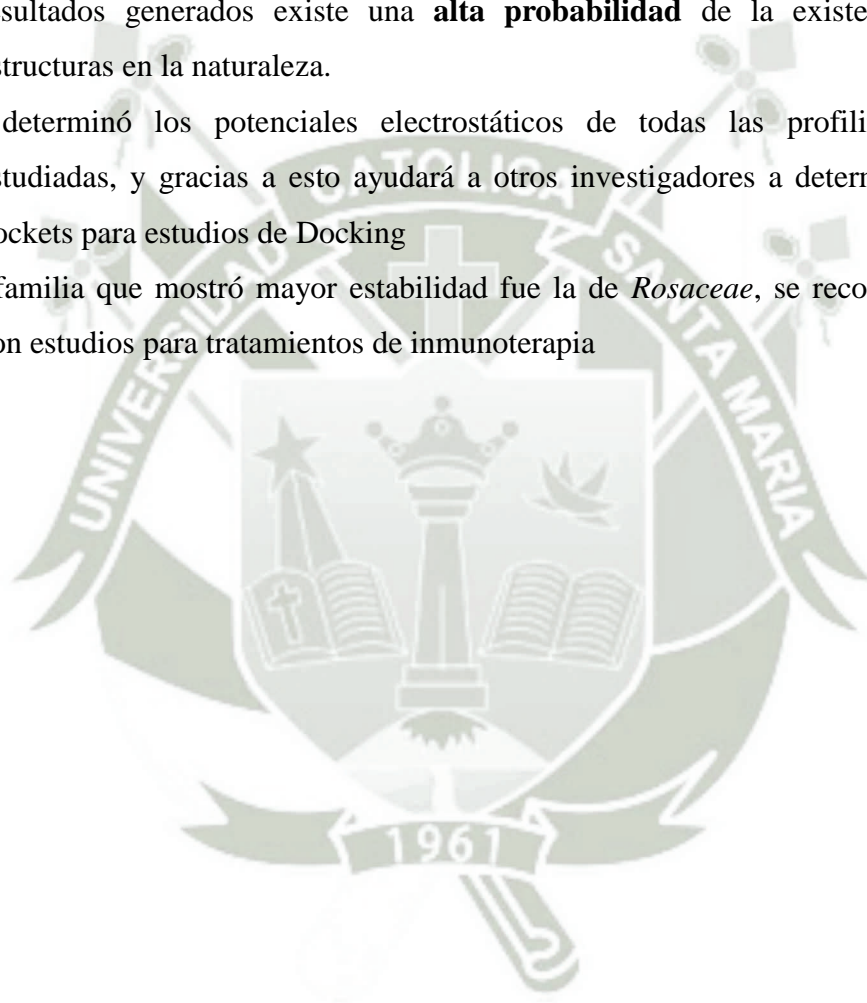
Figura 4.28. Potencial Electrostático de las profilinas vegetales que mostraron mayor estabilidad, donde se muestra (a)palmera, (b)soya y (c)azafrán.

Tal como se ve en la figura 4.28 para la profilina presente en palmera se observa una carga electronegativa que va desde el -5 al -1, para el caso de la profilina de la soya, la profilina muestra un rango de electronegatividad de -8 a -2 y para el caso de la profilina del trigo esta una electronegatividad de -4 a 2.

CAPÍTULO V

Conclusiones y Recomendaciones

- Se modeló 59 estructuras proteicas de profilinas vegetales
- Se simuló por medio de una dinámica molecular las 59 estructuras proteicas obtenidas del modelamiento
- Se analizó y validaron las estructuras obtenidas, donde se concluye que con todos los resultados generados existe una **alta probabilidad** de la existencia de estas estructuras en la naturaleza.
- Se determinó los potenciales electrostáticos de todas las profilinas vegetales estudiadas, y gracias a esto ayudará a otros investigadores a determinar posibles pockets para estudios de Docking
- La familia que mostró mayor estabilidad fue la de *Rosaceae*, se recomienda seguir con estudios para tratamientos de inmunoterapia



CAPÍTULO V BIBLIOGRAFÍA

1. Simons, F. Estelle R., and World Allergy Organization. "World Allergy Organization survey on global availability of essentials for the assessment and management of anaphylaxis by allergy-immunology specialists in health care settings." *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2010: 405-412.
2. Johansson, S. G. O., et al. "Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003." *Journal of allergy and clinical immunology*. 2004: 832-836.
3. Matricardi, P. M., et al. "EAACI molecular allergology User's guide." *Pediatric Allergy and Immunology*. 2016: 1-250.
4. Ruffoni, Silvano, et al. "Anaphylaxis in pediatric population: A 1-year survey on the Medical Emergency Service in Liguria, Italy." *International journal of immunopathology and pharmacology*. 2015: 590-594.
5. Bublin, Merima, et al. "Component-resolved diagnosis of kiwifruit allergy with purified natural and recombinant kiwifruit allergens." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010: 687-694.
6. Möbs, Christian, et al. "Birch pollen immunotherapy leads to differential induction of regulatory T cells and delayed helper T cell immune deviation." *The journal of immunology*. 2010: 2194-2203.
7. Burks, A. Wesley, et al. "ICON: food allergy." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2012: 906-920.
8. Ciardello, Maria Antonietta, et al. "Food allergen profiling: a big challenge." *Food research international*. 2013: 1033-1041
9. Radauer, Christian, et al. "Allergens are distributed into few protein families and possess a restricted number of biochemical functions." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2008: 847-852.
10. Adkinson Jr, N. Franklin, et al. *Middleton's allergy: principles and practice*. Elsevier Health Sciences, 2013.
11. Martorell, Antonio, et al. "Position document: IgE-mediated allergy to egg protein." *Allergologia et immunopathologia*. 2013: 320-336.
12. Muraro, Antonella, et al. "EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy." *Allergy*. 2014: 1008-1025.
13. Renz, H., et al. "Allergic diseases, gene–environment interactions." *Allergy66*". 2011:

- 10-12.
14. Koppelman, Gerard H. "Gene by environment interaction in asthma." *Current allergy and asthma reports*. 2006: 103-111.
 15. Ebo, D. G., and W. J. Stevens. "IgE-mediated food allergy—extensive review of the literature." *Acta Clinica Belgica*. 2014.
 16. Morita, Hideaki, et al. "An interleukin-33-mast cell-interleukin-2 axis suppresses papain-induced allergic inflammation by promoting regulatory T cell numbers." *Immunity*. 2015: 175-186.
 17. Kim, Hui-Hun, Yunju Bae, and Sang-Hyun Kim. "Galangin attenuates mast cell-mediated allergic inflammation." *Food and chemical toxicology*. 2013: 209-216
 18. Nomura, Ichiro, et al. "Non-IgE-Mediated gastrointestinal food allergies: distinct differences in clinical phenotype between western countries and Japan." *Current allergy and asthma reports*. 2012: 297-303.
 19. Siracusa, Andrea, Ilenia Folletti, and Gianna Moscato. "Non-IgE-mediated and irritant-induced work-related rhinitis." *Current opinion in allergy and clinical immunology*. 2013: 159-166.
 20. Siracusa, Andrea, Ilenia Folletti, and Gianna Moscato. "Non-IgE-mediated and irritant-induced work-related rhinitis." *Current opinion in allergy and clinical immunology*. 2013: 159-166.
 21. Lieberman, Jay A., et al. "The utility of peanut components in the diagnosis of IgE-mediated peanut allergy among distinct populations." *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2013: 75-82.
 22. Guhsl, E. E., et al. "IgE, IgG4 and IgA specific to Bet v 1-related food allergens do not predict oral allergy syndrome." *Allergy*. (2015): 59-66.
 23. Odongo, Leo, et al. "Bet v 1-and Bet v 2-Associated Plant Food Sensitization in Uganda and Germany: Differences and Similarities." *International archives of allergy and immunology*. 2015: 264-269.
 24. Gilles, Stefanie, et al. "Non-allergenic factors from pollen modulate T helper cell instructing notch ligands on dendritic cells." *World Allergy Organization Journal* 8. 2015: 1.
 25. Commins, Scott P., and Thomas AE Platts-Mills. "Delayed anaphylaxis to red meat in patients with IgE specific for galactose alpha-1, 3-galactose (alpha-gal)." *Current allergy and asthma reports*. 2013: 72-77.
 26. Thalavasingam, M., et al. "Clinical and immunochemical profiles of food challenge proven or anaphylactic shrimp allergy in tropical Singapore." *Clinical & Experimental*

- Allergy*. 2015: 687-697.
27. Gasilova, Natalia, and Hubert H. Girault. "Bioanalytical methods for food allergy diagnosis, allergen detection and new allergen discovery." *Bioanalysis*. 2015: 1175-1190.
 28. Radauer, C., et al. "Update of the WHO/IUIS Allergen Nomenclature Database based on analysis of allergen sequences." *Allergy*. 2014: 413-419.
 29. Ahsan, Nagib, et al. "Targeted proteomics: Current status and future perspectives for quantification of food allergens." *Journal of proteomics*. 2016.
 30. Reid, Colleen E., and Janet L. Gamble. "Aeroallergens, allergic disease, and climate change: impacts and adaptation." *Ecohealth*. 2009: 458-470.
 31. Página web: <http://contactallergy.com/>
 32. Mazurek, Jacek M., and David N. Weissman. "Occupational Respiratory Allergic Diseases in Healthcare Workers." *Current allergy and asthma reports*. 2016: 77.
 33. Guhs, E. E., et al. "IgE, IgG4 and IgA specific to Bet v 1-related food allergens do not predict oral allergy syndrome." *Allergy*. 2015: 59-66.
 34. Renz, H., et al. "Allergic diseases, gene–environment interactions." *Allergy*. 2011: 10-12.
 35. He, Ying, et al. "Reduction of the number of major representative allergens: from clinical testing to 3-dimensional structures." *Mediators of inflammation* 2014.
 36. Radauer, Christian, and Heimo Breiteneder. "Pollen allergens are restricted to few protein families and show distinct patterns of species distribution." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2006: 141-147.
 37. Radauer, Christian, et al. "Allergens are distributed into few protein families and possess a restricted number of biochemical functions." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2008: 847-852.
 37. Radauer, Christian, et al. "Allergens are distributed into few protein families and possess a restricted number of biochemical functions." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2008: 847-852.
 38. Hauser, M., Roulias, A., Ferreira, F., & Egger, M. Panallergens and their impact on the allergic patient. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*. 2010. 1.
 39. Jenkins, John A., et al. "Structural relatedness of plant food allergens with specific reference to cross-reactive allergens: an *in silico* analysis." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2005: 163-170.
 40. Valenta, Rudolf, et al. "Profilins constitute a novel family of functional plant pan-allergens." *The Journal of experimental medicine*. 1992: 377-385.
 41. Mari, Adriano. "Multiple pollen sensitization: a molecular approach to the diagnosis." *International archives of allergy and immunology*. 2001: 57-65. Salcedo, G., et al. "Plant non-specific lipid transfer proteins as food and pollen

- allergens." *Clinical & Experimental Allergy*. 2004: 1336-1341.
42. Lauer, I., et al. "The non-specific lipid transfer protein, Ara h 9, is an important allergen in peanut." *Clinical & Experimental Allergy*. 2009: 1427-1437.
43. Breiteneder, Heimo, and Christof Ebner. "Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2000: 27-36
44. Salcedo, G., et al. "Plant non-specific lipid transfer proteins: an interface between plant defence and human allergy." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2007: 781-791.
45. Salcedo, G., et al. "Plant non-specific lipid transfer proteins as food and pollen allergens." *Clinical & Experimental Allergy*. 2004: 1336-1341.
46. Valenta, Rudolf, et al. "Profilins constitute a novel family of functional plant pan-allergens." *The Journal of experimental medicine*. 1992: 377-385.
47. Núñez, R., et al. "Profilin as an aeroallergen by means of conjunctival allergen challenge with purified date palm profilin." *International archives of allergy and immunology*. 2012: 115-119.
48. Asero, R., and D. Villalta. "Profilin may be a primary airborne sensitizer: a case report." *Journal of investigational allergology & clinical immunology*. 2013: 134.
49. Wensing, Marjolein, et al. "IgE to Bet v 1 and profilin: cross-reactivity patterns and clinical relevance." *Journal of allergy and clinical immunology*. 2002: 435-442.
50. Alvarado, M. I., et al. "Profilin as a severe food allergen in allergic patients overexposed to grass pollen." *Allergy*. 2014: 1610-1616.
51. Quercia, O., et al. "Patients monosensitized to Hey b 8 (*Hevea brasiliensis* latex profilin) may safely undergo major surgery in a normal (non-latex safe) environment." *European annals of allergy and clinical immunology*. 2009: 112.
52. **Página web:** www.alergia.bielsko.pl, **CCD:** Cross-reactive Carbohydrate Determinants – alergia.bielsko.pl. 2009
53. Douladiris, Nikolaos, et al. "A molecular diagnostic algorithm to guide pollen immunotherapy in southern Europe: towards component-resolved management of allergic diseases." *International archives of allergy and immunology*. 2013: 163-172.
54. Burks, A. Wesley, et al. "ICON: food allergy." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2012: 906-920
55. Allmers, Henning, et al. "Reduction of latex aeroallergens and latex-specific IgE antibodies in sensitized workers after removal of powdered natural rubber latex gloves in a hospital." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1998: 841-846

56. Demoly, Pascal, et al. "International Consensus on drug allergy." *Allergy*. 2014: 420-437.
57. Ezike, Dimphna Nneka, et al. "Airborne pollen and fungal spores in Garki, Abuja (North-Central Nigeria)." *Aerobiologia*: 1-11.
58. Khwarahm, Nabaz R., et al. "Mapping the birch and grass pollen seasons in the UK using satellite sensor time-series." *Science of The Total Environment*. 2016.
59. Focke-Tejkl, Margarete, et al. "Development and characterization of a recombinant, hypoallergenic, peptide-based vaccine for grass pollen allergy." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2015: 1207-1217.
60. Heinzerling, L. M., Burbach, G. J., Edenharter, G., Bachert, C., Bindslev-Jensen, C., Bonini, S., ... & Bruno, A. (2009). GA2LEN skin test study I: GA²LEN harmonization of skin prick testing: novel sensitization patterns for inhalant allergens in Europe. *Allergy*. 10: 1498-1506.
61. Bjerg, Anders, et al. "A population-based study of animal component sensitization, asthma, and rhinitis in schoolchildren." *Pediatric Allergy and Immunology*. 2015: 557-563.
62. Ukleja-Sokołowska, Natalia, et al. "Analysis of feline and canine allergen components in patients sensitized to pets." *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*. 2016: 61.
63. Ishibashi, O., et al. "Lip b 1 is a novel allergenic protein isolated from the booklouse, *Liposcelis bostrychophila*." *Allergy*. 2016.
64. Lee, Hobart, Sara Halverson, and Regina Mackey. "Insect Allergy." *Primary Care: Clinics in Office Practice*. 2016: 417-431.
65. 4f Resch, Yvonne, et al. "Molecular, structural and immunological characterization of
66. Zock, Jan-Paul, et al. "The use of household cleaning sprays and adult asthma: an international longitudinal study." *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2007: 735-741.
67. Dave, Ninabahen D., et al. "Stress and allergic diseases." *Immunology and allergy clinics of North America*. 2011: 55-68.
68. Beggs, Paul J. "Impacts of climate change on aeroallergens: past and future." *Clinical & Experimental Allergy*. 2004: 1507-1513.
69. Ruzsna, Csaba, and Robert J. Davies. "ABC of allergies: Diagnosing allergy." *BMJ: British Medical Journal*. 1998: 686-689.
70. Fall, Barbara I., et al. "Microarrays for the screening of allergen-specific IgE in human serum." *Analytical chemistry*. 2003: 556-562.

71. Larsen, Jørgen Nedergaard, Louise Broge, and Henrik Jacobi. "Allergy immunotherapy: the future of allergy treatment." *Drug discovery today*. 2016: 26-37.
72. Sicherer, Scott H., and Donald YM Leung. "Advances in allergic skin disease, anaphylaxis, and hypersensitivity reactions to foods, drugs, and insects in 2014." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2015: 357-367.
73. Huang, Yuvi, and Ailin Tao. "Allergen Database." *Allergy Bioinformatics*. Springer Netherlands. 2015. 239-251.
74. Huang, Yuvi, and Ailin Tao. "Bioinformatic Classifiers for Allergen Sequence Discrimination." *Allergy Bioinformatics*. Springer Netherlands. 2015. 187-194.
75. Tao, Ailin, and Eval Raz, eds. *Allergy Bioinformatics*. Vol. 8. Springer, 2015.
76. Ciardiello, Maria Antonietta, et al. "Food allergen profiling: a big challenge." *Food research international*. 2013: 1033-1041.
77. Adkinson Jr, N. Franklin, et al. *Middleton's Allergy E-Book: Principles and Practice*. Elsevier Health Sciences, 2013.
78. Ebisawa, Motohiro, et al. "Pediatric allergy and immunology in Japan." *Pediatric Allergy and Immunology* 24.7 (2013): 704-714.



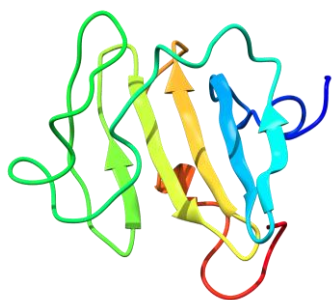
ANEXOS

Anexo 1: Cuadro resumen de las profilinas vegetales

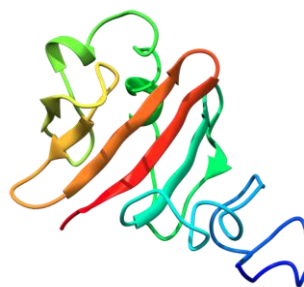
	Profilinas	Nombre científico	Nombre vulgar	Estructura PDB	homología Art v4	Familia
1	Aca f 2	<i>Acacia farnesiana</i>	Acacia	No	si	Fabaceae
2	Act d 9	<i>Actinidina deliciosa</i>	Kiwi	No	si	Actinidiaceae
3	Ama r 2	<i>Amaranthus retroflexus</i>	Amaranto o yuyo	No	si	Amaranthaceae
4	Amb a 8	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	Artemisa corta	5EM1	si	Asteraceae
5	Ana c 1	<i>Ananas comosus</i>	Piña	No	si	Bromoliaceae
6	Api g 4	<i>Apium graveolens</i>	Apio	No	si	Apiaceae
7	Ara h 5	<i>Arachis hypogaea</i>	Maní	4ESP	si	Fabaceae
8	Art v 4	<i>Artemisia vulgaris</i>	Hierba de San Juan	5EM0	si	Asteraceae
9	Bet v 2	<i>Betula verrucosa</i>	Abedúl blanco o betúla pendula	1CQA	si	Betulaceae
10	Cap a 2	<i>Capsicum annuum</i>	Pimiento	No	si	Solanoideae
11	Che a 2	<i>Chenopodium album</i>	Cuartos de cordero	No	si	Chenopodiaceae
12	Citr l 2	<i>Citrullus lanatus</i>	Sandía	No	si	Cucurbitaceae
13	Cit s 2	<i>Citrus sinensis</i>	Naranja dulce	No	si	Rutaceae
14	Cor a 2.0101	<i>Corylus avellana</i>	Avellana	No	si	Betulaceae
15	Cor a 2.0102	<i>Corylus avellana</i>	Avellana	No	si	Betulaceae
16	Cro s 2	<i>Crocus sativus</i>	Azafrán	No	si	Iridaceae
17	Cuc m 2	<i>Cucumis melo</i>	Melón	No	si	Cucurbitaceae
18	Cyn d 12	<i>Cynodon dactylon</i>	Bermuda grass	No	si	Poaceae
19	Dau c 4	<i>Daucus carota</i>	Zanahoria	No	si	Apiaceae
20	Fra a 4	<i>Fragaria ananassa</i>	Fresa	No	si	Rosaceae
21	Gly m 3.0101	<i>Glycine max</i>	Soya	No	si	Fabaceae
22	Gly m 3.0102	<i>Glycine max</i>	Soya	No	si	Fabaceae
23	Hel a 2	<i>Helianthus annuus</i>	Girasol	No	si	Asteraceae
24	Hev b 8	<i>Hevea brasiliensis</i>	Árbol de caucho o látex	1G5U	si	Euphorbiaceae
25	Hor v 12	<i>Hordeum vulgare</i>	Cebada	No	si	Poaceae
26	Koc s 2	<i>Kochia scoparia</i>	Zarza ardiente	No	si	Amaranthaceae
27	Lit c 1	<i>Litchi chinensis</i>	Lychee	No	si	Sapindaceae
28	Mal d 4.0101	<i>Malus domestica</i>	Manzana	No	si	Rosaceae

29	Mal d 4.0201	<i>Malus domestica</i>	Manzana	No	si	Rosaceae
30	Mal d 4.0302	<i>Malus domestica</i>	Manzana	No	si	Rosaceae
31	Mal d 4.0102	<i>Malus domestica</i>	Manzana	No	si	Rosaceae
32	Mal d 4.0301	<i>Malus domestica</i>	Manzana	No	si	Rosaceae
33	Mer a 1	<i>Mercurialis annua</i>	Mercurio anual	No	si	Euphorbiaceae
34	Mus a 1	<i>Musa acuminata</i>	Plátano	No	si	Musaceae
35	Ole e 2	<i>Olea europaea</i>	Aceituna	No	si	Oleaceae
36	Ory s 12	<i>Oryza sativa</i>	Arroz	No	si	Poaceae
37	Par j 3.0101	<i>Parietaria judaica</i>	Ortiguilla muerta	No	si	Urticaceae
38	Par j 3.0102	<i>Parietaria judaica</i>	Ortiguilla muerta	No	si	Urticaceae
39	Par j 3.0201	<i>Parietaria judaica</i>	Ortiguilla muerta	No	si	Urticaceae
40	Phl p 12.0101	<i>Pheleum pratense</i>	Timothy	No	si	Poaceae
41	Phl p 12.0102	<i>Pheleum pratense</i>	Timothy	No	si	Poaceae
42	Phl p 12.0103	<i>Pheleum pratense</i>	Timothy	No	si	Poaceae
43	Pho d 2	<i>Phoenix dactylifera</i>	Palmera datilera	No	si	Arecaceae
44	Pro j 2	<i>Prosopis juliflora</i>	Cuji o algarrobo cholito	No	si	Fabaceae
45	Pru av 4	<i>Prunus avium</i>	Cereza dulce	No	si	Rosaceae
46	Pru du 4.0101	<i>Prunus dulcis</i>	Almendra	No	si	Rosaceae
47	Pru du 4.0102	<i>Prunus dulcis</i>	Almendra	No	si	Rosaceae
48	Pru p 4.0101	<i>Prunus persica</i>	Durazno	No	si	Rosaceae
49	Pru p 4.0201	<i>Prunus persica</i>	Durazno	No	si	Rosaceae
50	Pyr c 4	<i>Pyrus communis</i>	Pera	No	si	Rosaceae
51	Sal k 4.0101	<i>Salsola kali</i>	Cardo ruso	No	si	Amaranthaceae
52	Sal k 4.0201	<i>Salsola kali</i>	Cardo ruso	No	si	Amaranthaceae
53	Sin a 4	<i>Sinapsis alba</i>	Mostaza amarilla	No	si	Brassicaceae
54	Sola l 1	<i>Solanum lycopersicum</i>	Tomate	No	si	Solanoideae
55	Tri a 12.0104	<i>Triticum aestivum</i>	Trigo	No	si	Poaceae
56	Tri a 12.0102	<i>Triticum aestivum</i>	Trigo	No	si	Poaceae
57	Tri a 12.0103	<i>Triticum aestivum</i>	Trigo	No	si	Poaceae
58	Tri a 12.0101	<i>Triticum aestivum</i>	Trigo	No	si	Poaceae
59	Zea m 12	<i>Zea mays</i>	Maíz	5FEF	si	Poaceae

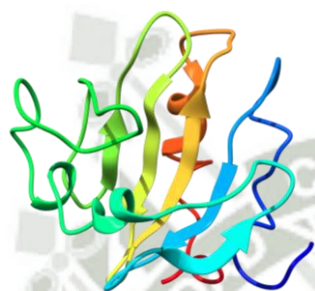
Anexo 2: Estructuras de las profilinas vegetales



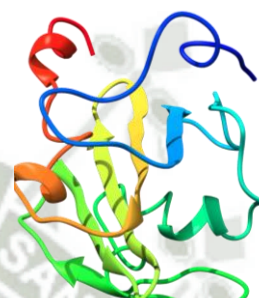
Aca f 2



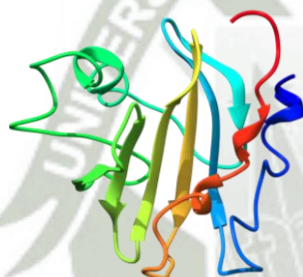
Act d 9



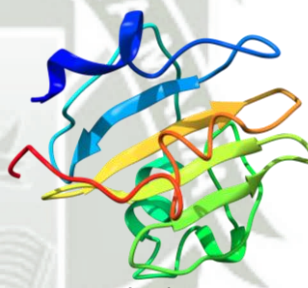
Ama r 2



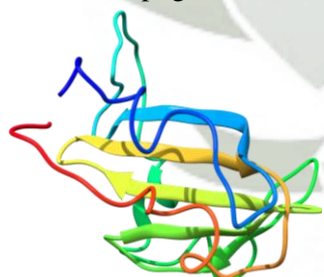
Ana c 1



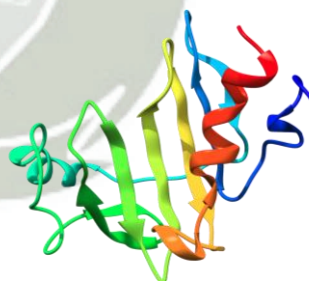
Api g 4



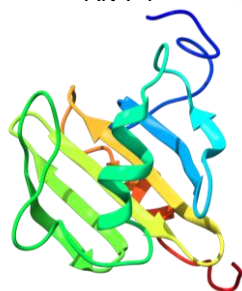
Ara h 5



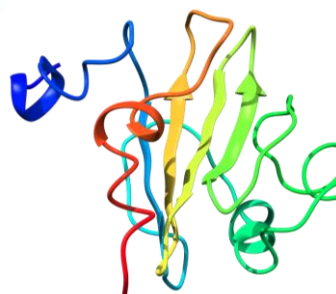
Art v 4



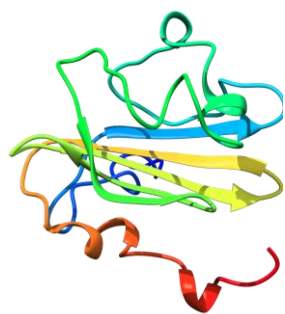
Bet v 2



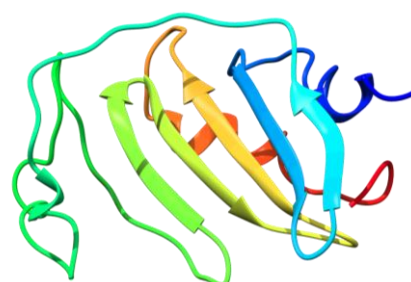
Cap a 2



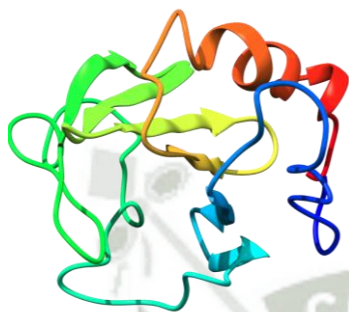
Che a 2



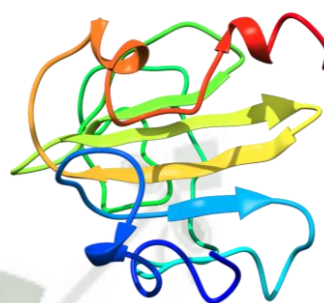
Citr l 2



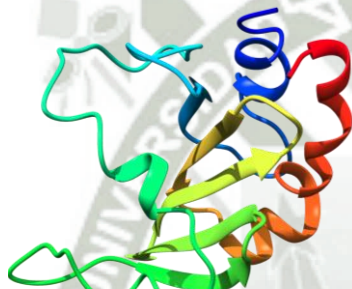
Cor a 2.0101



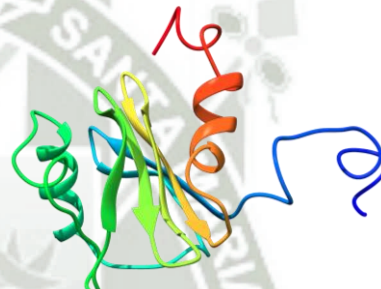
Cor a 2.0202



Cro s 2



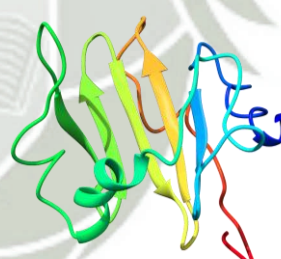
Cuc m 2



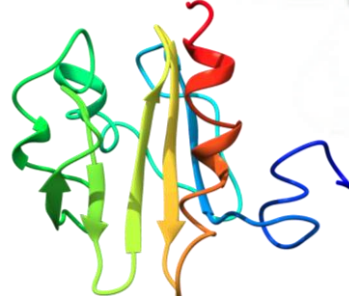
Cyn d 12



Dau c 4



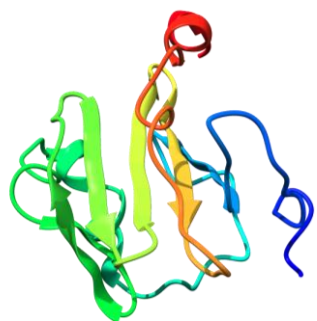
Gly m 3.0101



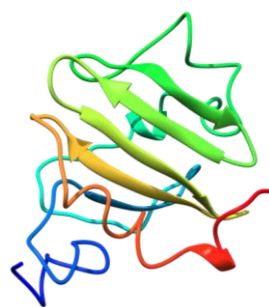
Gly m 3.0102



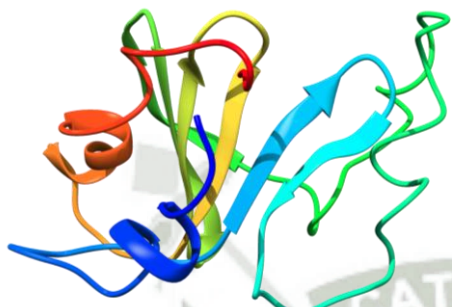
Hel a 2



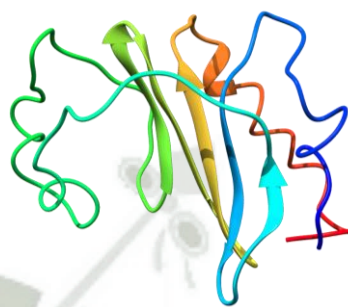
Hev b 8



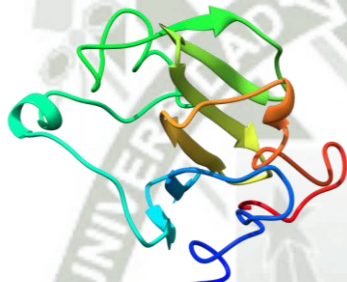
Hor v 12



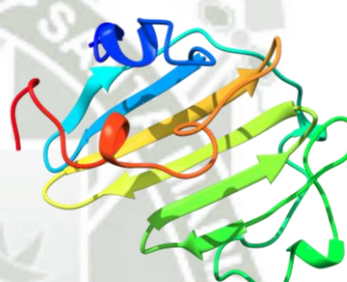
Koc s 2



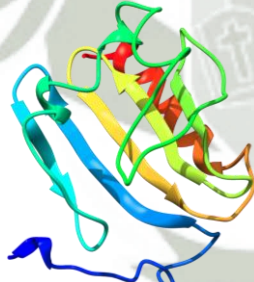
Lit c 1



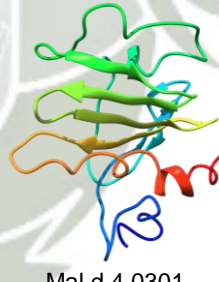
Mal d 4.0101



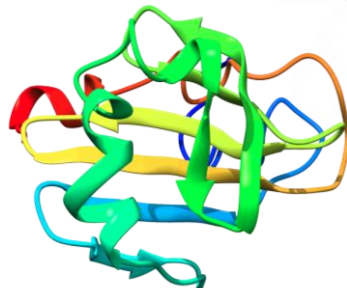
Mal d 4.0102



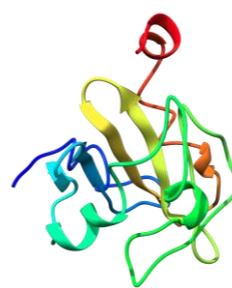
Mal d 4.0302



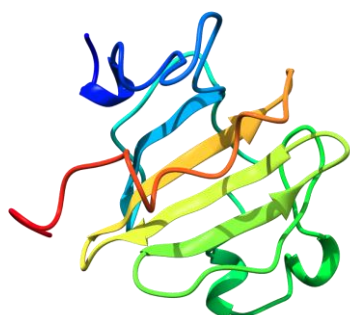
Mal d 4.0301



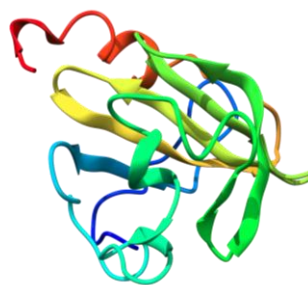
Mer a 1



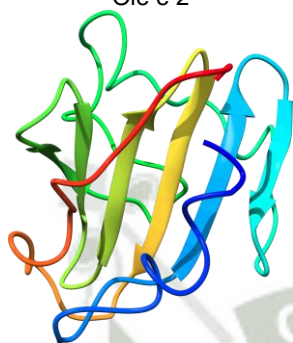
Mus a 1



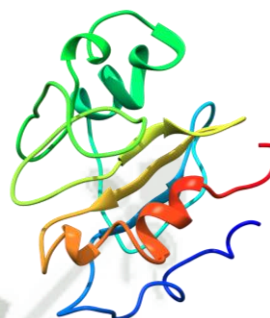
Ole e 2



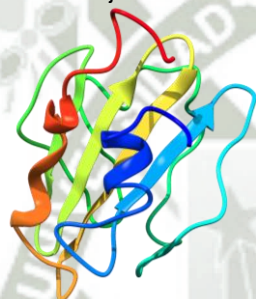
Ory s 12



Par j 3.0101



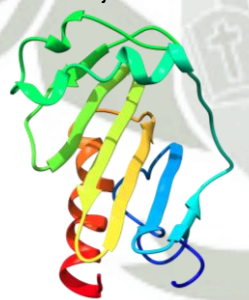
Par j 3.0102



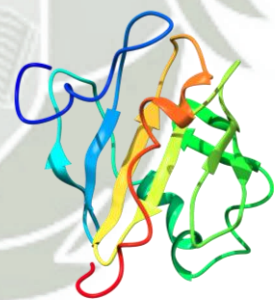
Par j 3.0201



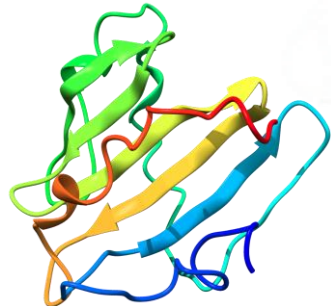
Phl p 12.0101



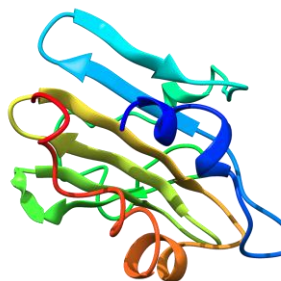
Phl p 12.0102



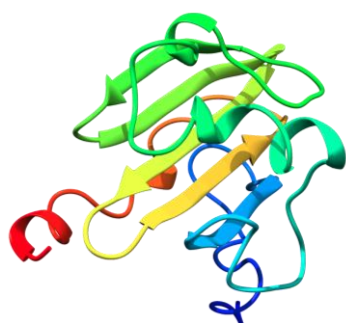
Phl p 12.0103



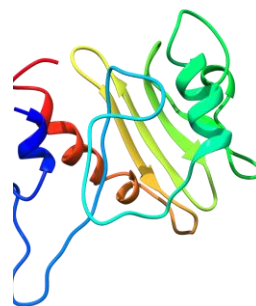
Pro j 2



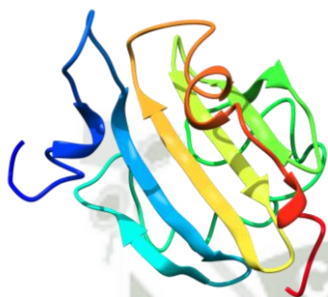
Pru du 4.0102



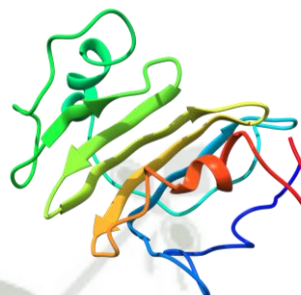
Pru p 4.2



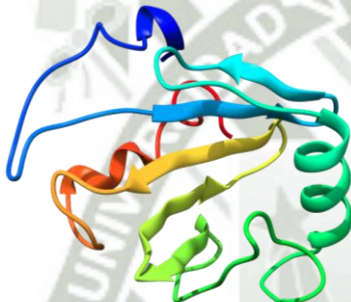
Pry c 4



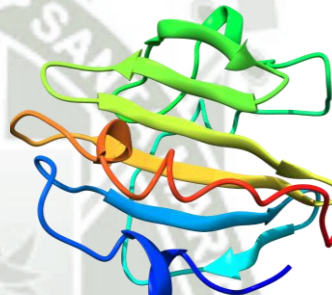
Sal k 4.0101



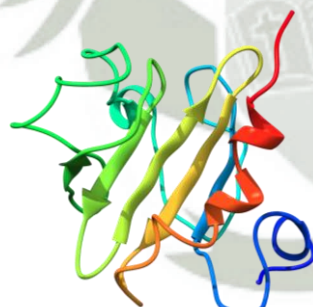
Sal k 4.0102



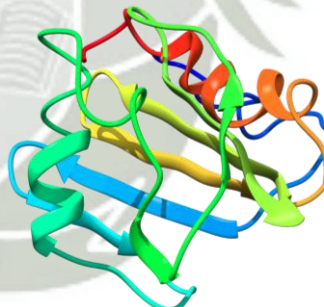
Sin a 4



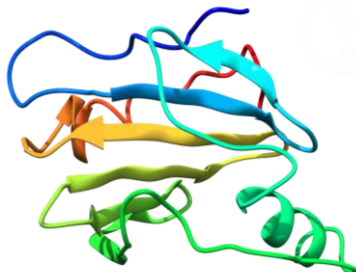
Sola l 1



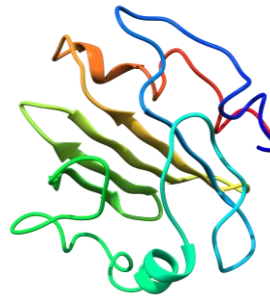
Tri a 12.0102



Tri a 12.0103



Tri a 12.0101



Zea m 12

Anexo 3: RMSD y RMSF de las estructuras evaluadas

