



Asma y alergia: la epidemia del siglo XXI

Manuel Alcántara Villar (Coordinador)

un
Universidad
Internacional
de Andalucía
A

Asma y alergia: la epidemia del siglo XXI. Manuel Alcántara Villar (Coordinador).

Sevilla: Universidad Internacional de Andalucía, 2012. ISBN 978-84-7998-227-5. Enlace: <http://hdl.handle.net/10334/3590>



CAPÍTULO III

Inmunobiología y genética del asma: el modelo del polen de olivo

Joaquín Quiralte Enriquez

El polen de olivo es una de las causas más importantes de enfermedad alérgica respiratoria en el área Mediterránea. (1) Es frecuente encontrar en la literatura una mayor prevalencia de sintomatología nasal y conjuntival causada por el polen de *O. europaea*, aunque este polen puede inducir, en zonas alta exposición, exacerbaciones epidémicas de asma entre últimos de abril y primeros de junio coincidiendo con los niveles máximos de polinización. (2)

En zonas geográficas en donde el olivar es un monocultivo, como ocurre en ciertas zonas de Andalucía, la concentración de polen alcanza una cifra superior a 6000 granos/m³ hacia mitad de mayo, con un pico secundario en torno a 2000 granos/m³ en la primera semana de junio, y con niveles entre 500 y 1000 granos/m³ durante al menos la mitad del periodo de polinización (3) .

1. La inmunobiología de los alergenios de polen de *O europea*

En estos 20 últimos años, se han descrito y caracterizado 11 alergenios de polen de olivo (Tabla 1) (4)

1.1. Ole e 1

Ole e 1 fue la primera proteína aislada y purificada del polen de olivo. (5) Es una glicoproteína polimórfica de peso molecular 18.5 kDa, Posee una única cadena polipeptídica posee 145 residuos y muestra en SDS -PAGE un patrón complejo formado por dos bandas mayoritarias de 18.5 y 20 kDa.

Ole e 1 es uno de los alergenios mayoritarios del polen de olivo, con una prevalencia IgE estimada en un 70%, pudiendo diferir de un área geográfica a otra entre un 55% a un 90%. Recientemente se ha demostrado que los epítomos de Ole e 1 exclusivamente están presentes en los pólenes de Oleaceae (*Fraxinus*, *Ligustrum*, *Syringa*). (6)

1.2. Ole e 2

El alérgeno Ole e 2 pertenece al grupo de las profilinas. (7) Son proteínas fijadoras de actina, y constituyen una familia de proteínas que controlan ciertas funciones de las células eucariotas, entre

ellas una participación activa en los procesos de movimiento citoesquelético celular.

Las profilinas son una familia de proteínas consideradas como un importante panalergeno causante de reactividad cruzada. Por ello, la mayoría de los pacientes primariamente sensibilizados frente a una profilina de una fuente concreta, pueden ser potencialmente alérgicos a otras profilinas.

Ole e 2 ha sido purificada, aislada y secuenciada. Sus propiedades moleculares e inmunoquímicas no difieren de las de otras profilinas. Se ha detectado una prevalencia IgE del 24% (exclusivamente a través de inmunoblotting) y una importante reactividad cruzada con pólenes de Gramineae, *Betula verrucosa* y otras especies de la familia Oleaceae. (7)

1.3. Ole e 3 y Ole e 8

Estos dos alérgenos del olivo son proteínas ligantes de Ca^{2+} , y poseen un carácter funcional consistente en 12 residuos de aminoácidos consecutivos llamados EF-hand, que es capaz de enlazar iones de Ca^{2+} . Ole e 8 contiene 4 de esos caracteres, (8) mientras que Ole e 3 sólo contiene 2 de ellos. (9) La prevalencia IgE de Ole e 3 oscila entre un 20 un 30 % y la de Ole e 8 entorno a un 5 % en diferentes poblaciones de pacientes alérgicos a polen de olivo. Todos estos alergenos homólogos del polen se constituyen en una familia con una secuencia altamente conservada de proteínas ligantes de calcio, tipo EF-hand, para las cuales se ha propuesto el nombre de polcalcinas.

1.4. Ole e 4

Ole e 4 es un importante alergeno con elevada capacidad de unión a IgE (80%). Está constituido por una única cadena polipeptídica con peso molecular de 32 kDa (10) Su función es desconocida y su segmento N-terminal no tiene homología con otras proteínas conocidas. Algunos autores han puesto en duda la existencia de este alergeno, y sugieren que la proteína denominada Ole e 4 pudiera ser probablemente un subproducto de la degradación proteolítica de la 1, 3-betaglucanasa Ole e 9. (11).

1.5. Ole e 5

Ole e 5 es un alérgeno minoritario o secundario con una frecuencia de unión a IgE del 35% y un peso molecular de 16 kDa., Presenta un alto grado de homología con la enzima superóxido-dismutasa (SOD). (12) Debido a la ubicuidad de esta familia de enzimas, este alérgeno también podría jugar un papel relevante en los fenómenos de reactividad cruzada y la polisensibilización.

1.6. Ole e 6

Es el alérgeno más pequeño del polen del olivo. (13) Es una proteína muy ácida (pI 4.2), compuesta de una cadena polipeptídica de 50 aminoácidos, con 6 residuos de cisteína en su estructura. El peso molecular es de 5830 Da y presenta una frecuencia media de unión a la IgE del 15%. No tiene homología con otros polipéptidos conocidos.

1.7. Ole e 7

Ole e 7 es una proteína de transporte de lípidos. (14) Es una proteína muy soluble, un polipéptido polimorfo de 88 aminoácidos con un peso molecular de unos 10 kDa y exhibe un alto grado de polimorfismo. Los anticuerpos frente a Ole e 7 aparecen con una frecuencia media de un 47 % en pacientes con polinosis por olivo, pero este valor se incrementa en poblaciones que están expuestas a altos niveles de este polen.

1.8. Ole e 9

Ole e 9 es uno de los alérgenos mayores del polen de olivo, afectando a más del 65% de los pacientes alérgicos a este polen. (15) Está formado por una única cadena polipeptídica glicosilada (434 aminoácidos) con peso molecular de 46 kDa., Tiene actividad 1,3-β-glucanasa y se ha demostrado que posee dos dominios independientes.

El dominio N-terminal (NtD) de Ole e 9 comprende alrededor de 320-350 aminoácidos, posee la actividad 1,3-β-glucanasa y, por ello, puede estar involucrado en los procesos de reactividad cruzada entre polen, látex y alimentos de origen vegetal. El dominio C-terminal (CtD) de Ole e 9 está formado por 101 residuos aminoácidos, y una de sus funciones es la unión a 1, 3-betaglucanos.

1.9. Ole e 10

Ole e 10 es una proteína pequeña (10 kDa) que ha sido identificada como un alérgeno mayoritario del polen de olivo, con una prevalencia del 55% entre los pacientes alérgicos al polen de olivo, y que recientemente ha sido aislada y caracterizada. (16)

Ole e 10 muestra reactividad cruzada con Ole e 9, que podría estar explicada por la similitud de secuencia entre Ole e10 y el CtD Ole e 9. Ole e 10 es el primer miembro de una nueva familia de panalergenos, denominada *carbohydrate (betaglucan)-binding module*, que muestra importante reactividad cruzada intra- e interespecies de gran relevancia en los síndromes polen-polen, polen-látex, polen-frutas y polen-látex-frutas.

1.10. Ole e 11

Ole e 11 es un pectinmetilesterasa. (17) Esta proteína contiene 342 aminoácidos y tiene un peso molecular de 37.4 kDa. Tiene homología con otras proteínas presentes en otras fuente vegetales, entre la que destaca *Salsola kali*. La prevalencia de IgE anti- Ole e 11 fluctúa entre el 55.9% y el 75.6%.

2. Los Alergenos de polen de olivo y los itinerarios clínicos

Pues bien, existen algunas evidencias que sugieren que los fenómenos de alergodiversidad mediados por IgE que hemos descrito, podrían jugar un importante papel en el desarrollo de los diferentes itinerarios clínicos de los diferentes síndromes relacionados por la polinosis. (18)

2.1. La profilina del polen de olivo y el Ole e 10 son marcadores de asma

La existencia de IgE anti-Ole e 2 se asoció de forma significativa a asma bronquial ($p= 0.04$, OR 2.2, CI 0.9-5.1) y la reactividad frente a Ole e 10 exhibió una asociación todavía más intensa ($p=0.007$, OR 3,8, CI 1.3-6.1), mientras que esta asociación no pudo ser detectada en los otros 4 alérgenos de polen de olivo testados en la misma población de pacientes: Ole e 1, Ole e 6, Ole e7 y Ole e 3. (2) Por tanto, las sensibilizaciones frente a profilina de polen de

olivo y frente a Ole e 10 están asociadas significativamente y de forma independiente a asma bronquial. Sin embargo, nosotros hemos demostrado que la sensibilización a ambos alérgenos en un mismo individuo, tiene un efecto sinérgico y supone hasta un riesgo 4 veces mayor de desarrollar asma bronquial. (2) Además, los pacientes con IgE antiOle e 10 presentan un mayor número de días de asma que el resto de los pacientes, con una mayor frecuencia de síntomas nocturnos, (2) uno de los rasgos clínicos del asma moderado/grave.

2.1. El Ole e 9 y Ole e 10: el comienzo de tres itinerarios clínicos diferentes

Hay evidencias que sugieren que las respuestas específicas frente a cada uno de los dominios de Ole e 9 pueden ser marcadores útiles de ciertos itinerarios clínicos de la enfermedad en, al menos, 2 poblaciones diferenciadas de pacientes. El primer grupo de ellas, identifica a aquellos pacientes alérgicos a polen de olivo que están en riesgo de desarrollar alergia a alimentos de origen vegetal, debido a la existencia de sensibilización frente a rNtD Ole e 9, que es la parte de la molécula que presenta actividad 1, 3- betaglucanasa, y que muestra reactividad cruzada in vitro, por ejemplo, frente a tomate, patata, plátano y látex. (19)

La segunda subpoblación de pacientes, es aquella que presenta una IgE anti-rCtD Ole e 9. Debido a que este dominio presenta una importante homología estructural (hasta un 53 % de identidad) y una elevada reactividad cruzada con Ole e 10, la sensibilización a rCtD Ole e 9 puede permitir identificar, del mismo modo que lo hace Ole e 10, las formas clínicas más graves de enfermedad respiratoria. (2)

El descubrimiento del Ole e 10 en el año 2005 nos ha permitido definir una nueva familia de proteínas que presenta una elevada reactividad cruzada con otras especies vegetales. Ole e 10 podría estar involucrada como alérgeno candidato, junto con el NtD Ole e 9, en el desarrollo del síndrome polen-látex-frutas.

Este nuevo itinerario clínico dentro de la polinosis por *O. europaea*, que puede conducir al desarrollo de alergia al látex, se debe a que el Ole e 10 muestra tanto otros epítomos B frente a proteínas

presentes en otros pólenes de la familia *Oleaceae*, *Gramineae*, *Betulaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cupressaceae* and *Parietaria spp*, como también exhibe reactividad cruzada con el látex y ciertos alimentos de origen vegetal: kiwi, tomate, patata y melocotón.

3. El control genético en la polinosis por *Olea europea*

Los principales marcadores genéticos estudiados en los pacientes con polinosis por *O. europaea* se pueden agrupar en: i) los relacionados con el sistema mayor de histocompatibilidad y su relación con la restricción genética de la respuesta medida por IgE; y ii) aquellos otros relacionados con la susceptibilidad para el desarrollo de asma bronquial.

3.1. Restricción genética de la respuesta mediada por IgE

El análisis de los factores de restricción en la respuesta mediada por IgE frente a los alérgenos de polen de olivo, van paralelos al proceso de caracterización de cada uno de ellos y de la disponibilidad de uso en los sujetos clínicamente sensibles a *O europaea*. En este sentido, se ha demostrado una asociación positiva entre ciertos alelos HLA y la respuesta IgE frente a Ole e 1, Ole e 2 y Ole e 3 en 2 poblaciones no relacionadas: concretamente con el haplotipo HLA-DRB1*0701-HLA-DQB1*0201. (2,20).

En un estudio reciente, se realizó el tipaje genómico de los loci HLA-DRB1 y HLA-DQB1 en un grupo de 156 pacientes con alergia a polen de olivo que mostraban IgE frente a 8 alérgenos de polen de olivo detectados por ELISA y por prueba cutánea. (2) El HLA DR2(15) se asoció significativamente a la existencia de IgE anti-Ole e 10 positiva en esta población de pacientes. Estos datos son especialmente relevantes, si consideramos que unos de los fenotipos IgE analizados, la IgE anti-Ole e 10, se correlacionaba con asma de intensidad grave en este grupo de pacientes. (2)

Por lo que ambos hallazgos unidos, sugieren que el control genético de las respuestas IgE específica frente a alérgenos, en la alergia al polen de olivo, pueden jugar un papel fundamental en el desarrollo clínico de la enfermedad. (2).

3.2. Los genes de susceptibilidad para el desarrollo de asma

En el año 2009 analizamos la relación entre 7 polimorfismos genéticos de IL13, del receptor de la IL4 (IL4RA), IL5 y del receptor beta 2 (ARDB2) y la sensibilización a polen de olivo en una población mayoritariamente compuesta (> 70 %) de pacientes con asma inducido por polen de olivo. (21) Nosotros demostramos que dos polimorfismos del gen de la IL13 influenciaban el control genético en la alergia a polen de olivo. El genotipo TT homocigoto del polimorfismo IL13 C-1112T parece ser un factor protector para el desarrollo de alergia a polen de olivo. Por el contrario, el polimorfismo IL13R130Q. fue un importante factor de riesgo para el desarrollo de alergia a polen de olivo y, de forma más concreta, para la sensibilización a Ole e 3. Los niveles séricos de IL13 se estratificaron también según la existencia de cada uno de los polimorfismos, correspondiendo los niveles más bajos a los pacientes con IL13 C-1112T y los más altos al genotipo R130Q.

Con respecto al gen IL4RA observamos en el análisis de interacción genética, que la combinación alélica IL4RA I50V y Q551R determinaba una asociación significativa con el fenotipo asma dentro de la población de alérgicos a polen de olivo. Los polimorfismos de los genes ARDB2 e IL5 no mostraron ninguna asociación significativa con ningún rasgo fenotípico de la alergia a polen de olivo.

Estos resultados sugieren que las sustituciones de nucleótido único, multilocus, y en combinación, pueden influenciar la susceptibilidad de padecer alergia a polen de olivo y pueden ser un útil marcador genético para el diagnóstico y la prevención de esta enfermedad

Tabla 1. Los alérgenos del polen de olivo

	Prevalencia (en %)	Familia de proteínas
Ole e 1	55-90	
Ole e 2	24	Profilina
Ole e 3	20-30	Polcalcina
Ole e 4	80	#
Ole e 5	35	Cu/Zn superoxido dismutasa
Ole e 6	10-55	
Ole e 7	47	Proteína de transferencia de lípidos
Ole e 8	5	Polcalcina
Ole e 9	65	1,3 β -glucanasa
Ole e 10	55-69.2	CBM*
Ole e 11	55.8-75.6	Pectinmetilesterasa

Algunos autores sugieren que Ole e 4 es probable que sea un subproducto de la degradación proteolítica de Ole e 9

* CBM, *Carbohydrate-binding module family*,

Bibliografía

- 1) LICCARDI, G., D'AMATO, M., D'AMATO, G. (1996), «Oleaceae pollinosis: A review», *Int Arch Allergy Immunol* 111, pp. 210-217.
- 2) QUIRALTE, J., et al. (2005), «Ole e 2 and Ole e 10: new clinical aspects and genetic restrictions in olive pollen allergy», *Allergy* 60, pp. 360-5.
- 3) FLORIDO, J.F., et al. (1999), «High levels of olive pollen and clinical findings», *Int Arch Allergy Immunol* 119, pp. 133-7.
- 4) RODRÍGUEZ, R., et al. (2001), «The spectrum of olive pollen allergens», *Int Arch Allergy Immunol* 125, pp. 185-195.
- 5) VILLALBA, M., et al. (1993), «Amino acid sequence of Ole e 1, the major allergen from olive tree pollen (*Olea europaea*) », *Eur J Biochem* 216, pp.863-869.
- 6) PALOMARES, O., et al. (2006), «The major allergen of olive pollen Ole e 1 is a diagnostic marker for sensitization to Oleaceae», *Int Arch Allergy Immunol* 141(2), pp. 110-8.
- 7) LEDESMA, A., RODRÍGUEZ, R., VILLALBA, M. (1998), «Olive pollen profilin. Molecular and immunologic properties», *Allergy* 53, pp. 520-526.
- 8) BATANERO, E., et al. (1996), Ole e 3, an olive-tree allergen, belongs to a widespread family of pollen proteins», *Eur J Biochem* 241, pp.772-778.
- 9) LEDESMA, A., VILLALBA, M., RODRÍGUEZ, R. (2000), «Cloning, expression and characterization of a novel EF-hand Ca^{2+} -binding protein from olive pollen with allergenic activity», *FEBS Lett* 466, pp.192-196.
- 10) BOLUDA, L., ALONSO, C., FERNÁNDEZ-CALDAS, E. (1998), «Purification, characterization, and partial sequencing of two new allergens of *Olea europaea*», *J Allergy Clin Immunol* 101, pp.210-216.
- 11) RODRÍGUEZ, R., et al. (2007), «Olive pollen recombinant allergens: value in diagnosis and immunotherapy», *J Investig Allergol Clin Immunol* 17 (Suppl 1), pp. 4-10.
- 12) BUTTERONI, C., et al (2005), «Cloning and expression of the *Olea europaea* allergen Ole e 5, the pollen Cu/Zn superoxide-dismutase», *Int Arch Allergy Immunol*. 137, pp.9-17.
- 13) TREVIÑO, M.A., et al. (2004), «NMR solution structure of Ole e 6, a major allergen from olive tree pollen», *J Biol Chem* 279, pp. 39035-41.

- 14) TEJERA, M.L., et al. (1999), «Identification, isolation and characterization of Ole e 7, a new allergen of olive tree pollen», *J Allergy Clin Immunol* 104, pp.797-802.
- 15) HUECAS, S., VILLALBA, M., RODRÍGUEZ, R. (2001), «Ole e 9, a major olive pollen allergen is a 1,3- β -glucanase. Isolation, characterization, amino acid sequence, and tissue specificity», *J Biol Chem* 276, pp. 27959-27966.
- 16) BARRAL, P., et al. (2004), «A major allergen from pollen defines a novel family of plant proteins and show intra- and inter-specie cross-reactivity», *J Immunol* 172, pp. 3644-51.
- 17) SALAMANCA, G., et al. (2010), «Pectin methylesterases of pollen tissue, a major in olivo three», *FEBS J* 277, pp. 2729-39.
- 18) QUIRALTE, J., et al. (2007), «Modelling diseases: the allergens of *Olea europaea* pollen», *J Investig Allergol Clin Immunol* 17 Suppl 1, pp.24-30.
- 19) PALOMARES, O., et al. (2006), «Allergenic contribution of the IgE-reactive domains of the 1,3-beta-glucanase Ole e 9: diagnostic value in olive pollen allergy», *Ann Allergy Asthma Immunol* 97, pp. 61-5.
- 20) CÁRDABA, B., et al. (2000), «Genetic restrictions in olive pollen allergy», *J Allergy Clin Immunol* 105, pp.292-8.
- 21) LLANES, E., et al. (2009), «Analysis of polymorphisms in olive pollen allergy: IL13, IL4RA, IL5 and ADBR2 genes», *Int Arch Allergy Immunol* 148, pp.228-38.