



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



Universitat Autònoma de Barcelona

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina

TESIS DOCTORAL

**ALERGIA A CUPRESÁCEAS EN LA
POBLACIÓN DEL VALLÉS OCCIDENTAL**

Maria José Castillo Marchuet

Programa doctorado 1244

2016

Directoras: Victoria Cardona Dahl

Olga Luengo Sánchez

Tutor: Albert Selva O'Callaghan

A mis padres
A mi marido e hija

**“Solo cuando tenemos el valor de enfrentarnos a las cosas tal como son,
sin autoengaños o ilusiones, emana una luz de los acontecimientos, que
nos desvela el camino del éxito”**

I.CHING

AGRADECIMIENTOS

Es la hora de los agradecimientos y no tengo suficientes palabras para expresar lo que ha supuesto la realización de este trabajo. Representa la culminación de una ilusión, me llena de satisfacción el trabajo realizado y lo mucho que he aprendido por el camino.

Mi agradecimiento al Dr. Marcel Ibero y a todo el equipo de la Unidad de Alergia del Hospital de Terrassa: Dra. Viñas, Dra. Hernández, Antonia Alegre, Marta Armengol y Maria José Domingo. Me he sentido apoyada cuando lo he necesitado. De vosotros aprendo cada día.

A Laboratorios Stallergenes S. A. por facilitar los extractos de pólenes de Cupresáceas utilizados durante la tesis doctoral. En concreto agradecer el cariño y el apoyo de Eduard García y Ana María Quintana. Os lo agradezco y no lo olvido.

Este trabajo ha sido posible gracias a una BECA de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Especial agradecimiento al Dr. José María Zubeldia por su gran entusiasmo con mi trabajo.

A la bibliotecaria del Hospital de Terrassa Carmen Venera por su inestimable ayuda con Mendeley.

A mis amigos, que han apreciado el esfuerzo del trabajo y me han dado ánimos: Yolanda Becerra, Oriol Brutau, Pedro Martínez, Ernest Artiaga, Sonia Martínez, Jordi Muñoz, Laia Morell, Robert Biel y Belén Latorre.

A mis suegros, Maite y Jaume, un ejemplo de intelectualidad y curiosidad infinita.

A mi madre que me ha transmitido tanto amor y generosidad. A mi hermana que me ha transmitido fortaleza y coraje. Y a mi marido Uri que me apoya incondicionalmente. Sin ellos no hubiera sido posible. Os quiero.

ABREVIATURAS

Alergológica: Estudio de factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España

CBA: Calidad biológica del aire

CCD : Determinantes carbohidratados con reactividad cruzada

CCD bearing proteins: Proteínas portadoras de determinantes carbohidratados de reactividad cruzada.

CD4: Molécula de superficie del linfocito T cooperador

CMB: Carbohydrate-binding module

CMH: Complejo Mayor de Histocompatibilidad

CPA: Célula Presentadora de Antígeno

CREATE: Proyecto para la estandarización internacional de extractos alérgicos

CST: Consorci Sanitari de Terrassa

EAACI: Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica

EAN: European Aeroallergen Network

ELISA: Enzima inmuno ensayo en fase sólida

IEFE: Inmunoensayo fluoroenzimático

IgE: Inmunoglobulina E

IHRS: In-house reference extract

IL: Interleucina

ISAC:	Chip inmunológico de alérgenos en fase sólida
ISAAC:	International Study of Asthma and Allergies in Childhood; Estudio internacional sobre asma y alergias en población infantil
ISU-E:	Unidades estandarizadas ISAC para IgE específica
FcεRI:	Receptor específico de alta afinidad de la IgE
HMW:	High molecular weight; peso molecular alto
kDa:	Kilodalton
LTP:	Proteína transferidora de lípidos
MAS:	Estudio de alergia multicéntrico realizado en Alemania
MIA:	Software de lectura de la micromatriz ISAC®112
m ³ :	Metro cúbico
μm:	Micrómetro
PBS:	Tampón fosfato salino
PHD:	Patient's Hay Fever Diary
pg:	Picogramo
PNE:	Prueba nasal específica
PR:	Pathogenesis-related; Proteína relacionada con procesos de patógenesis
RA:	Rinometría acústica
RANTES:	Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted; citocina expresada y secretada por el linfocito T normal en función de su grado de activación

REA:	Red Española de Aerobiología
Rc:	Reactividad cruzada
RN:	Rinomanometría anterior
ROS:	Especies reactivas de oxígeno
rpm:	Revoluciones por minuto
SAO:	Síndrome de alergia oral
SCAIC:	Sociedad Catalana de Alergia e Inmunología Clínica
SEAIC:	Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica
SILAM:	System for Integrated modeling of Atmospheric composition
TCR:	Receptor de célula T
TNSS:	Total Nasal Score Symptoms
WAO:	Organización Mundial de la Alergia

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.....	12
INTRODUCCIÓN.....	18
1. LA ALERGIA A PÓLENES	19
1.1 Definición.....	19
1.2 Prevalencia de la alergia a pólenes	22
1.3 Diagnóstico de la alergia a pólenes	24
1.3.1 Extractos estandarizados.....	29
1.3.2 Prueba de provocación nasal.....	30
1.4 Reactividad cruzada, co-reconocimiento y co-sensibilización.....	34
1.5 Recuentos polínicos: utilidades y limitaciones.....	35
2. LAS CUPRESÁCEAS O CUPRESSACEAE	40
2.1 Taxonomía de <i>Cupressaceae</i>	40
2.2 Distribución de <i>Cupressaceae</i> en España y Cataluña.....	41
2.3 Características botánicas de la familia <i>Cupressaceae</i>	43
2.3.1 Características morfológicas y funcionales del polen de <i>Cupressaceae</i> ...45	
3. AEROBIOLOGÍA DEL POLEN DE CUPRESSACEAE	49
3.1 Calendario polínico de <i>Cupressaceae</i> en el área del Vallés occidental.....	51
4. ALERGIA A POLEN DE CUPRESSACEAE	53
4.1 Prevalencia de la polinosis por <i>Cupressaceae</i>	55
4.2 Características de la polinosis por <i>Cupressaceae</i>	57
5. ALÉRGENOS DEL POLEN DE CUPRESSACEAE	60
5.1 Reactividad cruzada del polen de <i>Cupressaceae</i>	63
5.2 Reactividad cruzada del polen de <i>Cupressaceae</i> con alimentos.....	67
6. AREA DEL ESTUDIO	69

JUSTIFICACIÓN	71
OBJETIVOS	73
MÉTODOS	74
7. DISEÑO DEL ESTUDIO.....	75
8. SELECCIÓN DE PACIENTES	76
9. PRUEBAS CUTÁNEAS.....	78
10. EXTRACTOS DE POLEN DE <i>CUPRESSACEAE</i>	81
11. CUANTIFICACIÓN DE IgE TOTAL E IgE ESPECÍFICA.....	82
11.1 Determinación de IgE total e IgE específica a los pólenes de <i>Cupressaceae</i>	82
11.2 Determinación de la IgE específica a un panel de alérgenos purificados por microarray.....	82
12. DEFINICIÓN DE ALERGIA A POLEN DE <i>CUPRESSACEAE</i>	84
13. PROVOCACIÓN NASAL ESPECÍFICA CON POLEN DE <i>JUNIPERUS ASHEI</i> .85	
14. CALENDARIO DE SÍNTOMAS.....	89
15. RECUENTOS POLÍNICOS DE <i>CUPRESSACEAE</i>	90
16. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	91
RESULTADOS	92
17. INCIDENCIA DE LA SENSIBILIZACIÓN A POLEN DE <i>CUPRESSACEAE</i>	93
18. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES.....	95
18.1 Características demográficas.....	95
18.2 Antecedentes familiares de atopia	96
18.3 Edad de inicio de la sintomatología alérgica.....	97
18.4 Sintomatología presentada en el momento de inclusión en el estudio	97
18.5 Tiempo de evolución de la sintomatología alérgica.....	98

18.6 Área de la vivienda.....	99
18.7 Tiempo de residencia en el área de estudio.....	100
18.8 Sensibilización a alimentos.....	100
18.9 Influencia de las variables demográficas sobre la positividad de las pruebas cutáneas a polen de <i>Cupressaceae</i>	101
19. PRUEBAS CUTÁNEAS.....	103
19.1 Pruebas cutáneas a pólenes de <i>Cupressaceae</i>	103
19.2 Pacientes monosensibles.....	106
19.3 Pruebas cutáneas a otros alérgenos.....	106
19.4 Asociación ente pruebas cutáneas positivas a pólenes.....	109
20. DETERMINACIÓN DE IgE TOTAL.....	111
21. DETERMINACIÓN DE IgE ESPECÍFICA A EXTRACTOS COMPLETOS DE <i>CUPRESSACEAE</i>	112
21.1 IgE específica a pólenes de <i>Cupressaceae</i>	112
21.2 Relación entre los niveles de IgE específica y la presencia de alergia a polen de <i>Cupressaceae</i>	114
21.3 Sensibilidad y Especificidad de las IgE específicas a pólenes de <i>Cupressaceae</i>	116
22.DETERMINACIÓN DE IgEs ESPECÍFICA A ALÉRGENOS INDIVIDUALES DE <i>CUPRESSACEAE</i>	118
22.1 IgE específica a Cup a 1 y Cry j 1.....	118
22.2 Sensibilidad y Especificidad de Cup a 1 y Cry j 1.....	119
23. PERFILES MOLECULARES DE LA MUESTRA EN ESTUDIO.....	120
23.1 Sensibilización a componentes especie-específicos.....	120
23.1.1 Sensibilización a alérgenos ambientales.....	120
23.1.2 Sensibilización a alérgenos de alimentos.....	122
23.2 Sensibilización a componentes panalérgenos.....	122

24. PRUEBA NASAL ESPECÍFICA CON POLEN DE <i>JUNIPERUS ASHEI</i>	127
25. RECuentOS POLÍNICOS DE <i>CUPRESSACEAE</i>	129
26. CALENDARIO DE SÍNTOMAS.....	130
DISCUSION	133
CONCLUSIONES	156
ANEXOS	158
REFERENCIAS BIBLIOGÁFICAS	175

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Figura 1: Gráfica y parámetros de valoración de la rinometría acústica.....	31
Tabla 1: Indicaciones de la Prueba Nasal Específica con Alérgeno.....	33
Tabla 2: Categorías polínicas según la REA.....	39
Figura 2: Taxonomía de <i>Cupressaceae</i>	41
Figura 3: Grano de polen de <i>Cupressus arizonica</i> con la protuberancia apertural y numerosos orbículos.....	46
Figura 4: Estructura de la exina a nivel de la apertura en el polen de <i>Cupressaceae</i> ...	46
Figura 5: Secuencia del proceso de hidratación del polen de <i>Cupressaceae</i>	47
Figuras 6: Concentraciones medias de los pólenes de <i>Cupressaceae</i>	51
Figura 7: Concentraciones medias de los pólenes de <i>Platanus</i>	52
Figura 8: Concentraciones medias de los pólenes de <i>Fraxinus</i>	52
Figura 9: Calendario polínico de Bellaterra.....	53
Tabla 3: Prevalencia de sensibilización a <i>Cupressaceae</i> en pacientes con polinosis, en los años 2002-2003 en varias ciudades españolas.....	56
Tabla 4: Alérgenos de la familia <i>Cupressaceae</i>	61
Figura 10: Mapa del Vallés Occidental.....	70
Tabla 5: Centros y Población de referencia del CST.....	76

Tabla 6: Criterios ARIA para la clasificación de la gravedad de la rinitis alérgica.....	77
Anexo 1: Consetimiento informado para pacientes.....	159
Tabla 7: Clasificación de la gravedad del asma en adultos y niños según la Guía GEMA 2009.....	78
Tabla 8: Batería de alérgenos para pruebas cutáneas.....	79
Anexo 2: Componentes alérgenicicos en el ImmunoCAP ISAC112.....	161
Anexo 3: Consentimiento informado para pacientes controles.....	164
Figura 11: Prueba de Provocación Nasal Específica con la Escala Visual Analógica y la Espirometría.....	88
Figura 12: Calendario de síntomas.....	89
Figura 13: Pacientes visitados en el estudio. Relación de pruebas cutáneas positivas y negativas a neumoaérgenos entre los pacientes con síntomas respiratorios sugestivos de alergia.....	93
Figura 14: Distribución de pacientes según el género y la positividad a polen de <i>Cupressaceae</i>	95
Figura 15: Distribución de pacientes según la edad y la historia familiar de atopía...	96
Figura 16: Distribución de pacientes según la edad y la historia familiar de atopía en los pacientes con pruebas cutáneas negativas a polen de <i>Cupressaceae</i>	97
Figura 17: Síntomas referidos por los pacientes en el momento de la inclusión en el estudio.....	98

Tabla 9: Análisis estadístico del tiempo de evolución de alergia respiratoria según grupo de edad	99
Tabla 10: Análisis estadístico del tiempo de evolución de alergia respiratoria entre pacientes con síntomas por polen de <i>Cupressaceae</i> y pacientes del grupo control.....	99
Tabla 11: Modelo de regresión logística de la influencia de las diferentes variables demográficas sobre la posibilidad de tener una prueba cutánea positiva a polen de <i>Cupressaceae</i>	101
Tabla 12: Cálculo del Odds-Ratio para la interacción entre Tiempo de evolución (años) y Edad (adultos, niños) sobre la probabilidad de presentar síntomas de alergia respiratoria.....	102
Figura 18: Positividad de las pruebas cutáneas a pólenes de <i>Cupressaceae</i>	103
Tabla 13: Desglose de las pruebas cutáneas a los diferentes extractos de polen de <i>Cupressaceae</i> probados en niños y adultos	104
Tabla 14: Tamaño de la pápula para los diferentes extractos de polen de <i>Cupressaceae</i>	104
Figura 19: Comparativa del tamaño de las pápulas (en milímetros) inducidas por los extractos de polen de <i>C. arizonica</i> , <i>J. ashei</i> y <i>C. sempervirens</i>	105
Figura 20: Pacientes oligosensibilizados.....	107
Figura 21: Distribución de las sensibilizaciones concomitantes en los pacientes con pruebas cutáneas positivas a polen de <i>Cupressaceae</i>	107
Figura 22: Comparativa entre los positivos en prueba cutánea a los diferentes alérgenos sensibilizados concomitantemente entre los adultos y niños con pruebas cutáneas positivas a polen de <i>Cupressaceae</i>	108

Figura 23: Comparativa entre los positivos en prueba cutánea a los diferentes alérgenos entre los adultos y niños del grupo control.....	109
Tabla 15: Asociación entre pruebas cutáneas a pólenes (niños)	110
Tabla 16: Asociación entre pruebas cutáneas a pólenes (adultos).....	110
Figura 24: Resultado expresado en medias de IgE total en el total de pacientes.....	111
Tabla 17: Resultado de los valores de las IgE específicas séricas para los diferentes extractos de polen de <i>Cupressaceae</i>	112
Tabla 18: Comparativa de las medias de IgE específica sérica para cada uno de los extractos de <i>Cupressaceae</i> . Estadístico en todos los pacientes (a), adultos (b) y niños (c).....	113
Figura 25: Diferencias entre las IgEs específicas para los diferentes extractos de <i>Cupressaceae</i>	114
Tabla 19: Comparativa entre los niveles de IgE específica sérica a los diferentes extractos de <i>Cupressaceae</i> y la presencia de síntomas.....	115
Figura 26: Curva ROC para la IgE específica de <i>Juniperus ashei</i>	116
Figura 27: Curva ROC para la IgE específica de <i>Cupressus arizonica</i>	117
Figura 28: Curva ROC para la IgE específica de <i>Cupressus sempervirens</i>	117
Tabla 20: Resultado de las positividades a Cup a 1 y Cry j 1.....	118
Tabla 21: Relación entre los valores medios de IgE específica a los diferentes extractos completos de polen de <i>Cupressaceae</i> y Cry j 1.....	119

Anexo 4: Relación de los valores de IgE específica a extractos completos de <i>Cupressaceae</i> y los valores de IgE a Cry j 1 y Cup a 1.....	166
Figura 29: Curva ROC para la IgE específica de Cup a 1.....	120
Figura 30: Curva ROC para la IgE específica de Cry j 1.....	120
Figura 31: Distribución de las co-sensibilizaciones más frecuentes a nivel molecular en la población estudiada.....	121
Figura 32: Relación de positivities a panalérgenos en niños y adultos.....	122
Tabla 22: Porcentaje de positividad a <i>CCD bearing proteins</i> en la muestra del estudio.....	123
Tabla 23: Valores medios de IgE específica para los alérgenos con CCD.....	124
Tabla 24: Características moleculares de los pacientes monosensibilizados en prueba cutánea a polen de <i>Cupressaceae</i>	125
Tabla 25: Pacientes con positividad a <i>CCD bearing proteins</i> y presencia de síntomas por polen de <i>Cupressaceae</i>	126
Figura 33: Resultados de la PNE con polen de <i>Juniperus ashei</i>	127
Anexo 5: Tabla de los resultados de las pruebas de provocación nasal específica con polen de <i>Juniperus ashei</i> y la presencia de síntomas o no durante la estación polínica de 2011.....	169
Tabla 26: Cocientes de verosimilitud de las PNE positivas y negativas realizadas.....	128
Figura 34: Calendario de polinización de <i>Cupressaceae</i> en 2011.....	129

Anexo 6: Tabla de los resultados de las pruebas de provocación nasal específica con polen de <i>Juniperus ashei</i> y la presencia de síntomas o no durante la estación polínica de 2011.....	171
Figura 35: Concentraciones medias diarias de los pólenes en la estación de Bellaterra durante los meses de febrero y marzo de 2011.	130
Figura 36: Distribución de la sintomatología objetivada mediante calendario de síntomas durante la polinización de <i>Cupressaceae</i> en 2011.....	131
Figura 37: Intensidad de los síntomas de rinoconjuntivitis y/ asma de acuerdo con las clasificaciones ARIA y GEMA	132
Anexo 7: Sintomatología de los pacientes durante la polinización del polen de <i>Cupressaceae</i> en 2011.....	172

INTRODUCCIÓN

1. LA ALERGIA A PÓLENES

1.1 Definición

Hace más de 100 años que von Pirquet propuso el término “alergia” para explicar los fenómenos contradictorios observados en individuos sometidos a agentes externos, como la vacunación o la sueroterapia repetida.

Estas extrañas reacciones debidas a los tratamientos con antitoxinas o vacunas habían sido observadas anteriormente por Magendie en 1839, quien advirtió que los conejos inyectados con albúmina de huevo morían después de repetir la inyección. También por Pohl Pincus en 1882, quien observó inflamación local en la administración repetida de la vacuna contra la viruela y por Arloing en 1888, que encontró que administraciones repetidas de microorganismos tenían consecuencias fatales. Estas cuestiones también fueron estudiadas por Coumont en 1891, con el bacilo de la tuberculosis, por Buerger y por Knorr en 1895, con la toxina del tétanos en cabras, y por Berhing y Kitashima en 1901, con la difteria en caballos inmunes¹.

Pero es el trabajo de Richet y el zoólogo Portier en 1902 el que estableció que repetidas administraciones de una toxina pueden producir un efecto profiláctico inmunizador y también anafilaxia (del griego: *a*, contrario a + *phylaxis*, protección) neologismo que inventaron para explicar “ese estado del organismo en el que este se vuelve hipersensible en lugar de quedar protegido”. Un año más tarde, Arthus, demostró que repetidas inyecciones intravenosas de una sustancia no tóxica como el suero de caballo o la leche esterilizada, podían producir también reacciones anafilácticas².

La alergia (de *ergeia*, reactividad, y *allos*, alterada), es el término al que se refirió entonces von Pirquet, en 1905 en el libro *Die Serumkrankheit*³, y en 1906 en el artículo *Allergie*⁴ para explicar las reacciones de “supersensibilidad” (actualmente el término es hipersensibilidad), en forma de fiebre, erupción cutánea, artropatía y linfadenopatías, llamadas “enfermedad del suero”, secundarias a la administración de una sueroterapia o toxina. Atribuyó este fenómeno y el de inmunidad a la formación de anticuerpos, contribuyendo de manera fundamental a la inmunología. También propuso el término “alérgeno”, para describir al agente que “sensibiliza” al organismo de una manera que

después de varias administraciones, da lugar a esta reacción paradójica del sistema inmune⁵.

En 1963, las enfermedades por hipersensibilidad (inmunopatológicas), fueron clasificadas por Gell y Coombs en cuatro tipos de reacciones: I inmediata (mediada por anticuerpos IgE); II citotóxica (mediada por anticuerpos IgG/IgM e IgA); III (mediada por complejos inmunes) y IV, retardada (mediada por células T)⁶.

Las reacciones de hipersensibilidad tipo I, mediadas por IgE, son las responsables de la mayoría de las enfermedades alérgicas. Se produce primero una sensibilización a un alérgeno que entra en contacto por primera vez con el sistema inmunológico. El alérgeno es procesado por las CPA (células dendríticas, monocitos-macrófagos) y presentado a las células T CD4+, en presencia del CMH II. Se forma un complejo CMH/péptido. El receptor de las células T (TCR) reconoce este complejo CMH/péptido y se une a él formando una “sinapsis específica de alérgeno” (*allergen-specific synapse*) y se produce una agregación del TCR que activa a la célula T CD4+⁷. La célula T CD4+ activada segrega citoquinas de tipo 2 como la IL-4, IL-5 y IL-13, que activan a las células B y a los eosinófilos. Las células B activadas segregan anticuerpos IgE específicos para el alérgeno que sensibilizan a las células efectoras (mastocitos y basófilos). El alérgeno se une a la IgE específica ligada al receptor de IgE de alta afinidad de los basófilos y los mastocitos (FcεRI), provocando la liberación de mediadores y dando lugar a las manifestaciones clínicas de la fase inmediata de la reacción alérgica⁸ como broncoespasmo, rinitis, urticaria, diarrea, vómitos y/o anafilaxia.

Entre 6 y 12 horas después de la exposición al alérgeno⁹ y la fase inmediata de la reacción alérgica, se produce una reacción tardía, en la que secundariamente a la liberación de factores quimotácticos como la eotaxina y RANTES se reclutan eosinófilos, monocitos y linfocitos B y T, que amplifican y prolongan la inflamación: en las vías respiratorias inferiores en forma de hiperreactividad bronquial, en las vías respiratorias superiores en forma de obstrucción nasal, y en la piel en forma de eczema.

En 2001, la EAACI revisó la nomenclatura utilizada en alergia¹⁰ y posteriormente, la WAO la actualizó¹¹ con el fin de presentar una nomenclatura globalmente aceptada para las enfermedades alérgicas. De esta manera, el término *hipersensibilidad* debería usarse

para describir síntomas o signos objetivos y reproducibles, iniciados tras exposición a un estímulo definido, a una dosis tolerada por personas normales. El término *alergia*, se refiere a una reacción de hipersensibilidad iniciada por mecanismos inmunológicos específicos que pueden ser mediados por anticuerpos, o mediados por células. Cuando se demuestran otros mecanismos, como en la hipersensibilidad por aspirina¹², se debería utilizar el término *hipersensibilidad no-alérgica*¹¹.

Los alérgenos son antígenos que causan reacciones alérgicas. Son proteínas o glicoproteínas capaces de inducir la producción de anticuerpos IgE específicos en individuos susceptibles de desarrollar enfermedades alérgicas (individuos atópicos). Los principales alérgenos inhalados responsables de causar hipersensibilidad tipo I son: los pólenes, los ácaros del polvo, los hongos, las cucarachas y los epitelios de animales¹³. Se considera a un alérgeno como principal cuando detecta a >50% de los individuos sensibilizados a la fuente alérgica que lo contiene y que tienen síntomas cuando se exponen a ella¹⁴. Los alérgenos menores son reconocidos por menos de un 50% de los pacientes.

La alergia a pólenes, o polinosis, consiste en la inflamación de la mucosa nasal y/o conjuntival y/o bronquial, resultado de la sensibilización a alérgenos de los pólenes¹⁵.

La primera descripción en la historia de la Medicina de la rinitis alérgica estacional se debe a Rhazes (865-932), médico musulmán medieval que tituló una de sus publicaciones “*Una disertación sobre la causa de la coriza que ocurre en primavera, cuando las rosas liberan su perfume*”. Posteriormente, el médico luso Rodrigues, conocido como Amato Lusitano, atribuyó a las rosas la presencia de estornudos en algunos individuos tras olerlas¹⁶. En 1533, el doctor Leonardo Botallus describió la reacción en forma de estornudos, picazón de nariz y dolor de cabeza que presentaba uno de sus pacientes al contacto con rosas como *fiebre de la rosa*¹⁷.

El término *fiebre del heno* para denominar la alergia al polen se debe a Bostock (1773-1846) médico homeópata y catedrático de las Universidades de Liverpool y Londres. Describió su propia enfermedad, como un proceso catarral, solamente durante la estación del heno en Inglaterra, en un trabajo que leyó en la Sociedad Médico-Quirúrgica de Londres¹⁸. Más tarde, Wyman identificaría el polen como causa de esta enfermedad¹⁹ y

Blackley²⁰ introdujo la prueba cutánea y la prueba de provocación, que confirmaban la etiología de la fiebre del heno por pólenes de gramíneas²¹.

Clínicamente la polinosis se caracteriza por síntomas de rinitis (estornudos, prurito nasal, rinorrea, obstrucción nasal), conjuntivitis (prurito ocular, lagrimeo, hiperemia conjuntival), rinoconjuntivitis y/o asma bronquial (disnea, sibilantes, tos, opresión torácica) que aparecen de forma periódica anual, en los mismos meses del año, coincidiendo con la polinización de árboles o plantas. La polinosis puede presentarse como enfermedad alérgica aislada o asociada a sensibilización a otros alérgenos, como los ácaros del polvo, los hongos de la humedad, epitelios de animales o cucarachas²². La polinosis exacerba cuando el clima es templado y ventoso y mejora cuando el clima es lluvioso (washout effect)²³. También, en las últimas décadas, se ha demostrado que la polinosis puede iniciar o exacerbar la dermatitis atópica, sobretudo en los días en los que las concentraciones de pólenes son más altas²⁴⁻²⁶.

La polinosis requiere un enfoque clínico transversal y unitario con un protocolo diagnóstico específico y una estrategia de tratamiento. En los últimos 25 años se ha evidenciado un enorme progreso en los estudios sobre aerobiología y alergia. Actualmente, de las 250.000 plantas productoras de polen, se sabe que menos de 100 son significativas en términos de alergia a pólenes²⁷. Los pólenes más importantes productores de polinosis en España son los procedentes de los árboles cipreses en enero-marzo, el árbol abedul en abril, el árbol plátano de sombra en marzo-abril, las hierbas gramíneas y el árbol olivo en abril-junio, la maleza *Parietaria* de abril a junio, y la maleza *Chenopodium*, de julio a septiembre²⁸.

1.2 Prevalencia de la alergia a pólenes

Su prevalencia puede ser determinada en la población general mediante cuestionarios y/o mediante estudios de los marcadores de sensibilización como son las pruebas cutáneas y/o la determinación de IgE específica²⁹.

En este sentido un estudio epidemiológico realizado en Suiza mediante entrevista computerizada, pruebas cutáneas y determinación de IgE específica frente aeroalérgenos

en una muestra de 8357 adultos (18-60 años) en el año 1991, demostró una prevalencia de rinitis y conjuntivitis estacional del 14.5% en hombres, del 17.6% en mujeres, y del 7.2% en asma alérgica causada por pólenes. Las pruebas cutáneas demostraron una positividad del 16.3% por lo menos a uno de los 3 pólenes probados (abedul, gramíneas y *Parietaria*). Demostraron, además, que se había producido un aumento en la prevalencia de rinitis comparado con las prevalencias de otros años: 0.82% en 1926; 4.8% en 1958 y 9.6% en 1986³⁰. En ese mismo año, la prevalencia de rinitis en población pediátrica por ácaros y pólenes en España, estimada mediante cuestionario administrado a los padres de 6996 niños escolares, fue de un 4.9%³¹.

En el año 2000, el estudio MAS (Multicenter Allergy Study) realizado en Alemania analizó de forma anual los síntomas y la sensibilización determinada mediante IgE específica a polen de gramíneas y abedul a niños a las edades de 1 a 7 años. Un 15 % de los niños presentaron rinitis alérgica estacional (síntomas estacionales e IgE específicas positivas), y determinaron que eran necesarias por lo menos dos estaciones de exposición a pólenes alérgicos para desarrollar rinitis alérgica de forma clínica, pues un 9% de estos niños presentaban sensibilización, es decir, pruebas cutáneas positivas sin sintomatología³².

Desde entonces se ha demostrado que la polinosis tiene un gran impacto clínico y que su prevalencia ha aumentado, estimándose en un 40% en Europa³³.

En España, según el estudio epidemiológico Alergológica 2005, un 51.8% de los pacientes que acudieron a consultas de alergia por síntomas compatibles con rinoconjuntivitis fueron diagnosticados de rinoconjuntivitis alérgica por pólenes, y un 43.8% de los que acudieron por síntomas sugestivos de asma fueron diagnosticados de asma alérgica por pólenes. Comparado con el estudio previo de Alergológica 92, se constató un aumento de casi el 10% en la prevalencia de sensibilización a pólenes. En cuanto a los pólenes a los que estaban sensibilizados, el polen de gramíneas seguido del polen de olivo son los que con mayor frecuencia causaban polinosis en España. También comparando con Alergológica 92, llamaba la atención la aparición de nuevos pólenes con importancia alérgica como el polen de plátano de sombra y el polen de las cupresáceas. También se observó un aumento en el número de pacientes polisensibilizados³⁴.

Como responsable del aumento de la prevalencia de las enfermedades alérgicas, no se ha identificado a un sólo factor. En el International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) un estudio epidemiológico a escala mundial de las tres enfermedades alérgicas más frecuentes en la población infantil, asma, rinitis alérgica y eczema atópico, realizado en los años 90, se determinó que los factores que causan variaciones en la prevalencia podrían estar relacionados con el estilo de vida, hábitos dietéticos, exposición microbiana, estatus económico, el medio ambiente, la variación climática, la conciencia de la enfermedad o la percepción de los síntomas³⁵.

1.3 Diagnóstico de la alergia a pólenes

Para el diagnóstico de la alergia a pólenes debe existir una correlación entre la sintomatología referida por el paciente, sugestiva de alergia, la determinación de la sensibilización IgE *in vivo* y/o *in vitro*, y la confirmación de la relación entre la exposición al alérgeno y el desarrollo de los síntomas mediante provocación específica.

La anamnesis o historia clínica, determinará si el paciente presenta síntomas sugestivos de rinitis alérgica, como los estornudos, la obstrucción nasal, la rinorrea y/o el picor nasal³⁶ y/o síntomas sugestivos de asma, como la disnea episódica, las sibilancias, la tos y la opresión en el pecho^{37,38}. Algunos pacientes pueden presentar una variante de asma en forma de tos espasmódica, en la que el síntoma principal es la tos seca, sobretodo de predominio nocturno³⁹. También se recogen los datos de filiación y sobre la historia familiar y personal de atopia, la estacionalidad de los síntomas y su gravedad, si son continuos o intermitentes, desencadenantes específicos, comorbilidades, lugar de trabajo y factores exacerbantes, como el tabaquismo, el aire frío o los resfriados.

La demostración de sensibilización IgE *in vivo* se realiza mediante pruebas cutáneas intraepidérmicas o en prick realizadas con extractos alérgicos. Demuestran la presencia de IgE específica unida a mastocitos en la piel, y debido a su simplicidad, rapidez de realización, bajo coste y sensibilidad, son la prueba más usada para el diagnóstico de sensibilización. Consisten en la aplicación del extracto alérgico en forma de gota en la superficie volar del antebrazo. Con una lanceta se puntea sobre la gota, el extracto

alergénico se introduce en la piel y la respuesta se lee a los 15 minutos, midiendo la pápula y el eritema resultantes. Los alérgenos utilizados en las pruebas cutáneas deben incluir aquellos de mayor prevalencia en la zona. Sin embargo, su fiabilidad depende de una correcta realización y de la utilización de extractos alergénicos estandarizados. Deben usarse controles positivos (histamina) y negativos (solución salina) para interpretar adecuadamente los resultados⁴⁰.

La demostración de sensibilización IgE *in vitro* se realiza analizando el suero del paciente. Se detectan los anticuerpos IgE específicos del alérgeno. El método más comúnmente utilizado para medir los anticuerpos IgE específicos es el sistema ImmunoCAP® (Phadia/Thermo Fischer Scientific, Uppsala, Suecia), que detecta la sensibilización IgE de forma cuantitativa con un intervalo de 0.1 a 100 kU/l. Se trata de un fluoroenzimoinmunoensayo clásico de tipo sándwich, en el que el alérgeno está fijado a una matriz (fase sólida) y la anti IgE marcada con enzima beta-galactosidasa, libera el producto fluorescente, que se mide y se compara con el suero de referencia.

La IgE total en suero generalmente está elevada en individuos atópicos. Sin embargo sus concentraciones fluctúan extensamente, alrededor de una media de 125 IU/ml, entre individuos atópicos y no atópicos⁴¹. Su determinación aislada no tiene valor como prueba diagnóstica de las enfermedades atópicas^{39,42,43}.

Las pruebas cutáneas son consideradas las pruebas diagnósticas de primera línea para detectar la sensibilización mediada por IgE. Su mayor ventaja comparada con la determinación *in vitro* de las IgE específicas es que el resultado es inmediato a los 15 minutos y da lugar a una visualización de la sensibilización por parte del paciente que puede impactar posteriormente en su actitud frente a la alergia. Las pruebas cutáneas, además, pueden ser utilizadas con alérgenos para los que no se dispone comercialmente de determinación de anticuerpo IgE específico, como fármacos o alimentos frescos. La determinación *in vitro*, sin embargo, puede ser más específica y menos sensible que las pruebas cutáneas⁴⁴ dependiendo de la metodología y los extractos alergénicos utilizados. En los pacientes con niveles de IgE total muy elevados, las determinaciones bajas de IgE específicas serían poco representativas de sensibilización relevante. La concordancia entre los resultados *in vitro* y las pruebas cutáneas se ha demostrado entre un 85% y un 95% dependiendo del método utilizado para la determinación de la IgE específica⁴⁰. El

InmunoCAP® ha demostrado tener el mejor valor predictivo positivo para la detección de sensibilización respiratoria en las enfermedades alérgicas⁴⁵.

El diagnóstico alergológico *in vivo* e *in vitro* se realiza con extractos obtenidos de las fuentes biológicas. Los extractos alergénicos completos contienen diversas moléculas alergénicas individuales, además de material no alergénico, y no permiten discriminar entre co-sensibilización y reactividad cruzada a diferentes fuentes alergénicas⁴⁶. En las últimas décadas, la introducción de la tecnología con ADN recombinante ha permitido la obtención de alérgenos recombinantes con propiedades inmunológicas comparables a los alérgenos naturales. El estudio *in vitro* con moléculas alergénicas se denomina *diagnóstico por componentes o molecular* y consiste en la determinación cuantitativa de IgE específica frente a alérgenos individuales recombinantes o purificados nativos. El diagnóstico por componentes permite definir perfiles individuales de sensibilización (perfil alergénico) en pacientes alérgicos, distinguir entre los fenómenos de reactividad cruzada y co-sensibilización, y la identificación de los alérgenos principales específicos para una fuente alergénica determinada como *marcadores diagnósticos*. Los marcadores diagnósticos permitirían diferenciar a aquéllos pacientes sensibilizados de forma primaria a un alérgeno (sensibilidad genuina), de aquéllos sensibilizados de forma secundaria por fenómenos de reactividad cruzada. Por ejemplo, los alérgenos del grupo 1, 2, 5 y 6 del polen de gramíneas, indican sensibilización genuina a polen de gramíneas pues se expresan específicamente en dicho polen y no en el de otras especies. En cambio la sensibilización a profilinas, que son panalérgenos presentes en múltiples pólenes y alimentos vegetales, indicaría reactividad cruzada^{46,47}.

Se consideran marcadores de reactividad cruzada entre pólenes y entre pólenes y alimentos a los **panalérgenos**: profilinas, polcalcinas, homólogos de Ole e 1, pectatoliasas, poligalacturonasas, determinantes carbohidratados, proteínas PR-10, taumatinas o PR-5 y proteínas transferidoras de lípidos (LTP).

La profilinas son proteínas muy ubicuas en organismos eucarióticos que participan en la germinación de los pólenes entre otras funciones, y son responsables de la reactividad cruzada entre pólenes y entre pólenes y vegetales⁴⁸. Algunas de las profilinas disponibles comercialmente para determinación de IgE específica son: Bet v 2 (Abedul), Hev b 8 (Látex), Mer a 1 (Mercurialis) y Phl p 12 (Hierba timotea). Aunque se consideran de

escasa relevancia clínica en la mayoría de casos, en una publicación reciente se ha demostrado su implicación en reacciones sistémicas por alimentos⁴⁹.

Las polcalcinas solo se encuentran en tejido polínico y explican fenómenos de reactividad cruzada entre pólenes de plantas y árboles⁵⁰. Entre las polcalcinas, se dispone para la determinación de IgE específica Bet v 4 (Abedul) y Phl p 7 (Hierba timotea).

Dentro de la familia *Oleaceae* se dan fenómenos de reactividad cruzada entre el alérgeno mayor del polen del olivo Ole e 1 y plantas de jardín como los “jazmines” (*Jasminum officinale*, *Jasminum primulinum*), las “lilas” (*Syringa vulgaris*), los arbustos utilizados como setos de “aligustre” (*Ligustrum lucidum*, *Ligustrum vulgare*) y los árboles del género *Fraxinus* (*Fraxinus excelsior*, *Fraxinus angustifolia* y *Fraxinus ornus*)⁵¹. La reactividad cruzada debida a moléculas similares a Ole e 1 (Ole e 1 like) que no forman parte de la familia *Oleaceae* se ha descrito con Phl p 11 (gramíneas), Che a 1 (*Chenopodium album*) y Pla 11 (*Plantago lanceolata*).

Las pectatoliasas son alérgenos clasificados como polisacárido-liasas, una clase de enzimas que escinden el ácido galacturónico que contienen las cadenas de polisacáridos. Se dividen en 23 familias pero las pectatoliasas alergénicas se agrupan en la familia 1 (PL1). En las plantas superiores están implicadas en la maduración del fruto mientras que en los pólenes desempeñan un papel en la remodelación de tejidos. Se han reconocido hasta ahora en el polen de 11 especies de plantas y 2 hongos (www.allergome.org). Se han implicado en fenómenos de reactividad cruzada entre pólenes de la familia *Asteraceae* (Amb a 1, Art v 6) y entre pólenes de la familia *Cupressaceae* (Cup a 1, Jun a 1 y Cry j 1)⁵².

Las poligalacturonasas son pectinasas responsables de la degradación de la pectina, un heteropolisacárido complejo de las células vegetales⁵³. La primera poligalacturonasa descrita como alérgeno en un polen fue Pla a 2 (plátano de sombra) con reactividad cruzada IgG con poligalacturonasas del tomate y con pectatoliasas del polen de *Cupressaceae*⁵⁴.

Existen dos tipos principales de proteoglicanos de plantas e invertebrados que contienen determinantes carbohidratados: los N-glicanos y los O-glicanos. Los N-glicanos son

conocidos como determinantes carbohidratados con reactividad cruzada (CCD) ya que presentan una alta inmunogenicidad y su elevada homología estructural justifica una elevada reactividad cruzada⁵⁵. Los CCD son estructuras carbohidratadas presentes en múltiples alérgenos de pólenes, venenos y alimentos de origen vegetal⁵⁶ como el cacahuete, el kiwi y la patata⁵⁷. Mientras que la sensibilización a O-glicanos se ha asociado con síntomas alérgicos⁵⁸⁻⁶⁰ incluso anafilaxia⁵⁷, la sensibilización a N-glicanos (CCD) no tienen expresión clínica⁶¹⁻⁶³. Es necesario tener en cuenta que los alérgenos individuales nativos purificados pueden contener diferentes estructuras N-glicano que pueden comportarse como CCD. Como marcador de sensibilización a determinantes carbohidratados frecuentemente se ha utilizado a MUXF3 (fragmento de la bromelina de la piña) que solo identifica una de las estructuras más comunes de N-glicanos por lo que se recomienda no descartar la sensibilidad a CCD solamente con la determinación de la IgE específica a bromelina (Ana c 2) o su fragmento MUXF3⁶⁴. Las proteínas glicosiladas (CCD bearing proteins) nativas purificadas presentes en el microarray ISAC112® son: Cyn d 1, Phl p 4, Cup a 1, Cry j 1, Ole e 1, Pla a 2 y Jug r 2 (allergome.com).

Las PR-10 son proteínas de defensa homólogas de Bet v 1, alérgeno principal del polen del árbol Abedul. Agrupa a numerosas proteínas de árboles, frutas y verduras. Se han implicado en la reactividad cruzada entre pólenes, y entre pólenes y frutas⁶⁵. Algunas PR-10 son: Bet v 1 (Abedul), Aln g 1 (Aliso), Cor a 1 (Avellana), Mal d 1 (Manzana), Pru p 1 (Melocotón), Act d 8 (Kiwi) y Gly m 4 (Soja).

Las taumatinas (*thaumatin-like proteins* o TLP) o proteínas de defensa PR-5 son proteínas muy ubicuas en alimentos de origen vegetal y en algunos pólenes, y se han implicado en fenómenos de reactividad cruzada entre alimentos, causando desde Síndrome de Alergia Oral (SAO) a anafilaxia⁶⁶. Algunos ejemplos de TLP incluyen: Mal d 2 (Manzana), Act d 2 (Kiwi), Pru av 2 (Cereza), Cap a 1 (Pimiento) o Cup a 3 (*Cupressus arizonica*).

Las proteínas transferidoras de lípidos (LTP) son proteínas ampliamente distribuidas en el reino vegetal encargadas sobretodo de la defensa de las plantas frente a patógenos. Son la principal causa de alergia alimentaria en adultos del área mediterránea^{67,68} y ha sido demostrada su reactividad cruzada con pólenes. El perfil de sensibilización y el perfil de manifestación clínica a LTP es heterogéneo⁶⁹ variando desde la sensibilización asintomática hasta la anafilaxia grave⁷⁰. Actualmente se dispone comercialmente de las

siguientes LTP para determinación de IgE específica sérica:: Ara h 9 (Cacahuete), Cor a 8 (Avellana), Jug r 3 (Nuez), Pru p 3 (Melocotón), Art v 3 (Artemisia), Pla a 3 (Plátano de sombra) y Ole e 7 (Olivo).

El diagnóstico mediante componentes permite identificar a los alérgenos específicos para un correcto diagnóstico alergológico para definir con más precisión el tratamiento con inmunoterapia, y abre la puerta al tratamiento individualizado (*component-resolved immunotherapy*)⁷¹.

En el mercado se encuentra disponible la determinación de IgE específica frente a componentes individuales (singleplex) o múltiples (multiplex). El diagnóstico de componentes individuales se realiza mediante InmunoCAP y el diagnóstico de múltiples componentes alérgenos se realiza mediante una plataforma de inmunoensayo fluoroenzimático (IEFE) con un panel de alérgenos nativos purificados y recombinantes en formato de micromatriz (microarray) llamado Immuno Solid phase Allergen Chip (ISAC). Ambos métodos son de laboratorios Thermo Fischer Scientific (Uppsala, Suecia).

La sensibilización IgE, medida *in vivo* o *in vitro*, no confirma automáticamente la enfermedad ni la importancia clínica de esta en un paciente dado⁴¹. Por tanto, la demostración de que los síntomas de rinoconjuntivitis del paciente se relacionan con la exposición a un alérgeno al que se ha demostrado sensibilización IgE *in vivo* o *in vitro*, además de basarse en la historia clínica del paciente, se debe confirmar mediante la realización de pruebas de provocación conjuntival o nasal. En asma, las pruebas de provocación bronquial específica con el alérgeno sospechoso no se realizan de forma rutinaria y se reservan para el diagnóstico de enfermedades ocupacionales o para la investigación, pues precisan ser realizadas por personal entrenado y pueden dar lugar a broncoespasmos graves⁷².

1.3.1 Extractos estandarizados

Los extractos alérgenos aislados de fuentes naturales son mezclas complejas de proteínas y otras moléculas. La composición de estos extractos puede variar enormemente en cuánto a su material alérgico y no alérgico. Por ello, las pruebas cutáneas deben

realizarse con extractos de alérgenos estandarizados. La estandarización de un extracto alérgico se basa en la cuantificación de los alérgenos principales, en mantener una mínima variabilidad de un lote a otro, y en demostrar su potencia biológica tanto *in vivo* como *in vitro*.

La estandarización aumenta la seguridad y la eficacia de los extractos utilizados para diagnóstico e inmunoterapia. Los extractos estandarizados aumentan la reproducibilidad de las pruebas cutáneas, disminuyen los falsos positivos y facilitan la comparación entre extractos⁷³.

En 2008, la Unión Europea inició un proyecto para la estandarización internacional de extractos alérgicos (CREATE)⁷⁴. Sin embargo, hasta la fecha, este objetivo solo se ha alcanzado con dos alérgenos: Bet v 1 (polen de abedul) y Phl p 5 (polen de *Phleum*).

Actualmente, la estandarización de extractos alérgicos ha avanzado y utiliza los anticuerpos monoclonales y la espectrometría de masas para la correcta cuantificación del contenido de alérgenos. Sin embargo, siguen sin ser comparables las unidades entre los diferentes laboratorios que los manufacturan.

1.3.2 Prueba de provocación nasal

La valoración objetiva y cuantitativa de la obstrucción nasal secundaria a un proceso inflamatorio (alérgico o inespecífico), o secundaria a una alteración anatómica (poliposis nasal, hipertrofia de cornetes, desviación del *septum* nasal, etc.) se puede constatar mediante varios métodos, entre los que destacan la rinomanometría anterior activa (RN) y la rinometría acústica (RA)⁷⁵.

Ambos métodos valoran la permeabilidad nasal y analizan aspectos diferentes de un mismo fenómeno. En cuanto a sensibilidad y especificidad, la RN es más específica que la RA, y la RA es más sensible que la RN, aunque de forma global, ambas son igual de útiles en la práctica clínica diaria⁷⁶.

La rinometría acústica valora las áreas transversas (AT) y los volúmenes nasales en base a la información proporcionada por la reflexión de las ondas acústicas. La onda sonora se genera a partir de un microprocesador a una frecuencia audible y se transmite a través de

un tubo de un tamaño definido, al final del cual se colocan los adaptadores para las fosas nasales, disponibles en varios tamaños específicos para el lado derecho e izquierdo. El software del dispositivo realiza una comparación de los impulsos sonoros reflejados con el impulso inicial. Esta información se traduce en una imagen donde se observan las AT a lo largo de la cavidad nasal. La AT1 (I-notch, istmus) corresponde a la válvula nasal entre 0.5 y 1 cm desde la narina, la AT2 (C-notch, concha) corresponde a la parte anterior del cornete inferior entre 2 y 4 cm desde la narina y la AT3 corresponde con la porción media del cornete medio entre 4 y 6 cm desde la narina. El área transversal mínima (ATM) corresponde a la parte más estrecha de la cavidad nasal⁷⁷ (Figura 1).

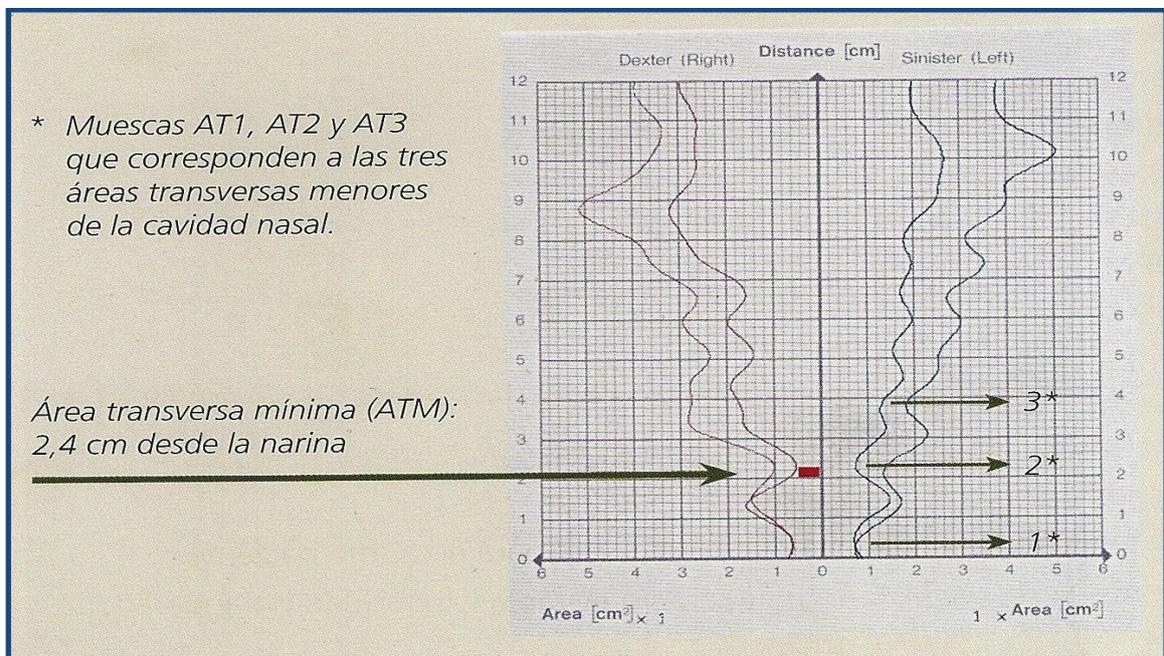


Figura 1: Gráfica y parámetros de valoración de la rinometría acústica. Reproducido con permiso del Dr. A.L. Valero, gráfica del Capítulo III. Rinometría acústica.

La RA se puede utilizar en cualquier individuo, requiere poca colaboración de los pacientes, lo que la hace útil para pacientes pediátricos, y es reproducible. No se ve afectada por la presencia de rinitis o obstrucción nasal, aunque está contraindicada en casos de perforación septal^{78,79}.

La prueba de provocación nasal específica (PNE), consiste en reproducir de forma controlada la respuesta de la mucosa nasal a la exposición a alérgenos. Esta respuesta se

caracteriza por picor, estornudos, rinorrea y edema de la mucosa nasal con aumento de las resistencias nasales al flujo⁷⁹.

La PNE consiste en aplicar una sustancia inerte (suero fisiológico con fenol 0.4%) y quince minutos después comprobar que la variabilidad de la respuesta nasal no supera el 10% de la determinación basal para descartar una respuesta inespecífica. La prueba continúa con la aplicación bilateral del alérgeno en las fosas nasales para reducir el sesgo intrínseco al ciclo nasal⁸⁰, a una concentración conocida, a intervalos de 15 minutos. El paciente permanece sentado, y en el momento de la selección de la gráfica (Figura 1) realiza una apnea. Se recomienda utilizar una escala visual analógica (EVA) para la valoración de los síntomas subjetivos y se recomienda realizar una espirometría forzada, antes y al final de la PNE, incluso en pacientes no asmáticos⁷⁹.

Se considera positiva la PNE con RA cuando se objetiva una reducción del 25% de los valores de áreas mínimas o del volumen entre los 2 y los 6 centímetros de la cavidad nasal desde el orificio nasal, secundarias a la administración del alérgeno, y/o un aumento de 3 o más puntos en la escala analógica visual⁷⁹.

Las indicaciones de la PNE y su metodología, han sido revisadas recientemente por la Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica⁷⁹ (Tabla 1).

La PNE es capaz de diferenciar a los pacientes con una sensibilización a un alérgeno clínicamente relevante (alergia) de los pacientes con pruebas cutáneas positivas a un alérgeno sin síntomas secundarios a su exposición natural (sensibilización clínicamente silente)⁸¹.

En casos seleccionados, la PNE se utiliza también para el diagnóstico de la rinitis alérgica local^{82,83}, que se define como rinitis alérgica con pruebas cutáneas y serológicas negativas, y PNE positiva.

Tabla 1. Indicaciones de la Provocación Nasal Específica con Alérgeno

<p>1- Diagnóstico de confirmación de la rinitis alérgica, evaluando el significado clínico de un alérgeno individual en pacientes con pruebas cutáneas positivas a múltiples alérgenos.</p> <p>2- Diagnóstico de confirmación de la sensibilidad de un alérgeno en un paciente cuando existe discrepancia entre la historia clínica y los resultados de las pruebas cutáneas y/o las pruebas serológicas.</p> <p>3- En investigación, en el estudio de las reacciones retardadas y los mecanismos fisiopatológicos de la respuesta nasal a los alérgenos (determinación de mediadores, células, etc).</p> <p>4- Evaluación de la eficacia y seguridad de los fármacos utilizados para tratar la rinitis alérgica.</p> <p>5- Seguimiento de la respuesta clínica después de la administración de inmunoterapia específica, en pacientes con rinitis alérgica.</p> <p>6- Estudio etiológico en las enfermedades ocupacionales de origen alérgico.</p>

La PNE no tiene contraindicaciones absolutas y tiene escaso riesgo de reacciones adversas⁸⁴. En cuanto a sus limitaciones se encuentra la variabilidad de la metodología utilizada, el modo de aplicación del alérgeno, la interpretación de los resultados o la ausencia de comparación con la exposición “natural” al alérgeno⁷⁹. Es una prueba muy dependiente del personal que la realiza y los valores de normalidad se ven influenciados por la talla, el género (mayores en los hombres)⁷⁶ y por la raza^{78,84}.

Las causas de los falsos positivos son, la alta concentración del alérgeno en el extracto aplicado, infecciones o alergia en las 2-4 semanas previas a la PNE y las condiciones del extracto como su pH, temperatura, osmolaridad y excipientes. Las causas de los falsos negativos son, el uso de fármacos contraindicados antes de la realización de la PNE, cirugía nasal en las 8 semanas previas, rinitis atrófica y la inmunoterapia específica⁷⁹.

1.4 Reactividad cruzada, co-reconocimiento y co-sensibilización

La Reactividad cruzada (Rc) es la reacción entre un antígeno y un anticuerpo que fue generado contra un antígeno diferente pero de estructura similar. En alergia, la Rc ocurre cuando los anticuerpos IgE frente a un alérgeno reconocen a una proteína similar procedente de otra fuente alérgica. Expresado de diferente manera, dos alérgenos presentan Rc si un anticuerpo IgE (o un receptor de célula T), reacciona con ambos.

El fundamento molecular de la Rc en alergia es la presencia de alérgenos homólogos en distintas especies. Las proteínas pueden ser homólogas a nivel de estructura primaria (secuencia de aminoácidos) o terciaria (plegado en 3 dimensiones de la secuencia de aminoácidos) de manera que los epítomos comunes son reconocidos por un mismo tipo de anticuerpo IgE. Los epítomos son estructuras de la superficie de la proteína que interactúan con el fragmento Fab del anticuerpo IgE, y pueden ser de dos tipos: lineales o secuenciales y conformacionales^{85,86}. En general, se requiere más de un 70% de identidad en la secuencia de aminoácidos para que las proteínas exhiban Rc⁸⁶. Cuando la identidad en la secuencia de aminoácidos es inferior a un 35% , la Rc es poco probable⁶¹. La interacción con la proteína de homología similar puede, entonces, dar lugar a síntomas alérgicos o ser completamente irrelevante para el paciente⁸⁷.

La definición molecular de la Rc no se basa únicamente en la homología de las secuencias de aminoácidos. Se ha demostrado que identidades de secuencia de aminoácidos del 25%⁸⁶ o del 35-40%, pueden dar lugar a Rc si se conserva la estructura conformacional de la proteína⁸⁸, o incluso, una región concreta de la proteína altamente conservada filogenéticamente, como la región peptatoliasa en los alérgenos del polen de ciprés⁸⁹. Por el contrario, alérgenos con homología significativa pueden no tener Rc debido a diferencias en los epítomos expuestos por diferencias en la estructura terciaria^{90,91}. El uso de fragmentos de alérgenos recombinantes y de péptidos sintéticos ha ayudado a definir los determinantes antigénicos de las células B y T, por lo que la Rc entre alérgenos puede ser estudiada también a nivel de células B y T⁹².

La Rc en el caso de los pólenes de plantas está muy relacionada con la taxonomía. Las plantas del mismo género son las que compartirán un mayor número de alérgenos con

homología de secuencia y estructura conformacional. Los fenómenos de Rc entre plantas muy distantes filogenéticamente se deben a los panalérgenos⁵⁰.

El co-reconocimiento ocurre cuando la reactividad IgE se debe a la co-exposición de diferentes fuentes alérgicas que comparten moléculas homólogas, pero en las que no es posible la identificación del sensibilizante primario⁸⁷.

Por último, la co-sensibilización describe la presencia de múltiples sensibilizaciones IgE hacia epítomos que no son compartidos entre las diferentes fuentes o moléculas alérgicas⁸⁷.

La co-sensibilización sería entonces la sensibilización a dos o más fuentes alérgicas de forma primaria (sensibilidad genuina), en contraposición a la reactividad cruzada donde la sensibilización múltiple se produce de forma secundaria⁹³.

La diferenciación entre Rc y co-sensibilización es esencial a la hora de indicar un tratamiento con inmunoterapia⁹⁴.

1.5 Recuentos polínicos: utilidades y limitaciones

Los recuentos polínicos permiten identificar los pólenes que producen polinosis en cada ciudad o área geográfica^{95,96}. Permiten conocer el período de polinización para un determinado polen y determinar cuándo los pacientes pueden presentar síntomas. Ayudan a entender mejor la variabilidad en la intensidad de los síntomas de polinosis de unos años a otros y de unas áreas geográficas a otras, debido a las variaciones interanuales de un mismo tipo de polen. También pueden detectar la presencia de pólenes nuevos, y son utilizados para estudios clínicos sobre la eficacia de los fármacos y las vacunas alérgicas para la rinitis y/o el asma estacional⁹⁷.

El primer listado de pólenes que podía causar fiebre del heno fue realizado en Tejas, Arizona, y se debe a Kahn, en 1925. Utilizó un método en placa según Scheppegrell (contador de polen), para estudiar los diferentes pólenes, y fue el primero en relacionar la sintomatología de sus pacientes con la polinización de diferentes plantas y árboles. Quedó establecido que

era fundamental determinar el contenido de polen atmosférico para saber cuáles son los pólenes alergénicos relevantes y potencialmente tributarios de ser usados en inmunoterapia⁹⁸.

Los recuentos de pólenes se realizan a través del muestreo del aire mediante un colector de pólenes: los pólenes se analizan microscópicamente y se informa de una relación cuantificada de taxones polínicos correspondiente a los datos brutos de un período definido de tiempo (día, semana...). Se utiliza el taxón porque no siempre puede identificarse de qué especie procede el polen. De hecho, la mayoría de veces la precisión llega sólo a nivel de género o familia. Los resultados se expresan en unidades de concentración: pólenes/m³, que es el número medio de granos de polen contenidos en un espacio cúbico de un metro de lado, durante el tiempo que dura el muestreo⁹⁹.

El colector Burkard, basado en el principio de impacto de Hirst (1952), es el más utilizado por la mayoría de las redes aerobiológicas de todo el mundo. Consta de una cámara de admisión que aspira un volumen de aire de 10 litros por minuto a través de una pequeña hendidura de 14 mm de largo por 2 mm de ancho que está permanentemente orientada hacia la dirección del viento gracias a la acción de una veleta incorporada en el colector. Las partículas contenidas en el aire succionado son impactadas en una cinta muy próxima a la hendidura. La cinta consiste en una película transparente de plástico, que se monta sobre un tambor que rota a una velocidad de 2 mm/hora y durante un período de hasta 7 días. Los recuentos de pólenes obtenidos se expresan como medias diarias, aunque es posible realizar el recuento por hora (2 mm), obteniendo así curvas circadianas¹⁰⁰.

En España están funcionando dos grandes redes de muestreo atmosférico, la del Comité de Aerobiología de la SEAIC, y la de la Red Española de Aerobiología (REA). Las redes nacionales son posibles gracias a la contribución de redes autonómicas como la de la Unidad Botánica- Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología en el Instituto de Ciencia y Tecnología Ambientales de la Universidad Autónoma de Barcelona, que recoge los datos para la Sociedad Catalana de Alergia e Inmunología Clínica (SCAIC) y los envía periódicamente a la base de datos de la red nacional⁹⁹.

Se provee información a la población de los recuentos polínicos a través de los medios de comunicación (televisión, internet, prensa, radio, telefonía móvil) con el fin de predecir la

potencial intensidad de los síntomas y aplicar medidas de evitación o adecuar la planificación de los viajes de ocio o trabajo⁹⁷.

En general, se puede encontrar una correlación entre los recuentos de polen atmosféricos y la sintomatología alérgica^{28,101-103}. Sin embargo, esta relación es de tipo no-lineal. La gravedad de la polinosis es variable de unos pacientes a otros. Muchos pacientes son alérgicos a múltiples pólenes que pueden florecer al mismo tiempo, y pueden presentar un efecto de “priming”¹⁰⁴, según el cuál, el umbral de respuesta de la mucosa nasal y bronquial disminuye a medida que avanza la estación polínica, de manera que cada vez es necesaria una exposición al alérgeno menos intensa para desencadenar síntomas. Por otro lado, los pacientes pueden presentar síntomas de alergia de aparición 1 o 2 días después de un pico de polen atmosférico¹⁰⁵ o siguiendo unos días de lluvia, como consecuencia de una reacción en fase retardada^{101,106}.

Los recuentos de pólenes en los tejados de edificios resultan imperfectos a la hora de reflejar la exposición humana a los pólenes¹⁰⁶. A pesar de que los colectores de pólenes se colocan en una superficie plana de fácil acceso, encima de un edificio a una altura determinada para evitar el rozamiento de las capas de aire, sin edificios colindantes que hagan de pantalla, y lejos de fuentes de emisión de partículas de material biológico y no biológico¹⁰⁷, se ha demostrado que existen variabilidades de hasta un 25% en las concentraciones de polen en una misma ciudad^{108,109}. La exposición humana a los pólenes también varía, puede aumentar dependiendo de la actividad, como cortar el césped, ir en el automóvil con las ventanillas bajadas o realizar ejercicio al aire libre¹¹⁰, y del lugar donde se reside¹¹¹.

Se asume de forma habitual que se debe alcanzar una determinada concentración de polen en el ambiente para desencadenar síntomas en los pacientes con polinosis. Sin embargo, este concepto de umbral para desencadenar síntomas alérgicos presenta dificultades debido al carácter dinámico, dependiente de la exposición, y el carácter personalizado de dicho nivel. La gravedad de los síntomas de polinosis no se correlaciona con el recuento de pólenes, pero, sí se ha demostrado un aumento en la presencia de síntomas de alergia cuando los niveles de polen son más altos¹⁰³. Esto es debido a: (i) factores biogénicos como la cantidad de alérgenos por grano de polen, (ii) factores individuales como el hecho de ser atópico, o estar en tratamiento farmacológico y (iii) a factores ambientales, como la calidad del aire¹¹².

Por estos motivos, una predicción personalizada de los síntomas se consideraría mejor que una predicción de los recuentos de pólenes. Los datos necesarios para el desarrollo de servicios personalizados de información predictiva de los síntomas están siendo recogidos por primera vez en Europa con la ayuda de (1) el sistema Patient's Hay-Fever Diary (PHD)¹¹³, (2) el sistema de información de los recuentos de pólenes europeo (base de datos de la European Aeroallergen Network, EAN), (3) las predicciones de la calidad del aire y las concentraciones de polen a nivel europeo basado en el sistema SILAM (System for Integrated modeling of Atmospheric composition), disponible actualmente solo para algunos pólenes^{114,115} y (4) la aplicación de métodos de inteligencia computacional que permitan el análisis de los datos para desarrollar una predicción personalizada¹¹⁶. Este sistema que todavía está en desarrollo permitirá un mejor reconocimiento y tratamiento de las polinosis.

La REA propone una serie de categorías polínicas, según distintos umbrales, que clasifican las concentraciones de los pólenes resultantes de los muestreos. Diferencia 4 grupos en base a 3 criterios: carácter anemófilo/entomófilo de las especies, Índice Polínico Anual y la posible capacidad alergógena de las distintas especies (Tabla 2).

Esta clasificación nos permite conocer si el contenido polínico de la atmósfera es bajo, moderado o alto. Sin embargo no se correlacionan exactamente con la aparición de síntomas en las personas afectadas de polinosis porque la presencia de un polen viene condicionada por su abundancia en una zona concreta, y por la posible presencia de otras especies de polen con reactividad cruzada. Además, las condiciones climatológicas particulares influyen en la cantidad de polen, en su contenido en alérgenos liberados a la atmósfera, no solo por el polen, sino por otras partes de las plantas como los tallos y las hojas¹¹⁷, y en su alergenicidad. Es el caso de la presencia de tormentas^{33,118}, el aumento de temperatura en invierno¹¹⁹, la pluviometría y los contaminantes atmosféricos. Todas estas circunstancias no quedan reflejadas en los recuentos atmosféricos^{107,118,120-125}.

Además, la información de los recuentos polínicos se basa en recuentos de granos de pólenes intactos. Estudios inmunoquímicos han demostrado la presencia de partículas alergénicas de pequeño tamaño (menos de 7,4 µm de diámetro aerodinámico) que aparecen varias semanas antes del inicio de la polinización¹²⁶, lo que provoca que los pacientes más sensibles inicien los síntomas de alergia hasta dos semanas antes del inicio de la polinización¹²⁷.

Tabla 2: Categorías polínicas según la REA.

GRUPO	1	2	3	4
PÓLENES	<i>Parietaria</i>	Poaceae	<i>Betula</i>	<i>Olea</i>
	<i>Urtica membranacea</i>	Chenopodiaceae-	<i>Casuarina, Corylus</i>	<i>Cupressus</i>
	<i>Mercuriali,</i>	Amaranthaceae,	<i>Castanea Eucalyptus</i>	<i>Platanus</i>
	<i>Echium</i>	<i>Plantago</i>	<i>Alnus</i>	<i>Populus</i>
	Fabaceae	<i>Rumex</i>	<i>Hacer</i>	<i>Quercus</i>
	Apiaceae	<i>Artemisia</i>	<i>Populus</i>	<i>Pinus</i>
	Cannabis	<i>Ericaceae Asteraceae</i>	<i>Ulmus</i>	
	Brassicaceae	<i>Helianthus</i>	<i>Ligustrum</i>	
CATEGORÍAS	Nulo < 1 grano/m ³			
	Bajo 1-15 granos/m ³	Bajo 1-25 granos/m ³	Bajo 1-30 granos/m ³	Bajo 1-50 granos/m ³
	Moderados 16-30 granos/m ³	Moderados 26-50 granos/m ³	Moderados 31-50 granos/m ³	Moderados 51-200 granos/m ³ ;
	Altos > 30 granos/m ³ .	Altos > 50 granos/m ³ .	Altos > 50 granos/m ³ .	Altos > 200 granos/m ³ .

En consecuencia, la combinación de los recuentos de pólenes y la cuantificación de los alérgenos, podría contribuir a estimar de forma más fiable la exposición a los alérgenos de las personas con polinosis¹²⁴. En este sentido, Takahashi demuestra que los síntomas de inicio de polinosis por polen de *Cryptomeria japonica* ocurren en el 40% de los pacientes polínicos cuando la cantidad de alérgeno principal del polen de *Cryptomeria japonica* Cry j 1 detectado en la atmósfera es de 1 pg/m³, lo que ocurre unas 2-3 semanas antes del primer día de la polinización. Y que algunos pacientes presentan los síntomas coincidiendo con el aumento de 1 a 3 pg/m³ de Cry j 1 en el aire, lo que demuestra que los recuentos de pólenes y la cantidad total de Cry j 1 detectada durante la estación polínica no presentan una correlación precisa¹²⁸.

2. LAS CUPRESÁCEAS O CUPRESSACEAE

2.1 Taxonomía de Cupressaceae

La familia *Cupressaceae* pertenece al dominio Eukaryota, reino Plantae, división Pinophyta (antes Coniferophyta), clase Pinopsida y orden Pinales.

El orden Pinales (antes Coniferales) abarca 6 familias: *Pinaceae*, *Cupressaceae*, *Cephalotaxaceae*, *Taxodiaceae*, *Araucariaceae* y *Podocarpaceae* (Figura 2).

La familia *Cupressaceae* comprende 29 géneros y 128¹²⁹- 130¹³⁰ especies. Los análisis filogenéticos¹³¹ y morfológicos del desarrollo temprano del cono en todos los géneros de *Cupressaceae* dividen estos géneros en 7 subfamilias¹²⁹.

- Athrotaxidoideae: *Athrotaxis*.
- Callitroideae: *Actinostrobus*, *Austrocedrus*, *Callitris*, *Diselma*, *Fitzroya*, *Libocedrus*, *Neocallitropsis*, *Papuacedrus*, *Pilgerodendron*, *Widdringtonia*.
- Cunninghamioideae: *Cunninghamia*.
- Cupressoideae: *Calocedrus*, *Chamaecyparis*, *Cupressus*, *Fokienia*, *Juniperus*, *Microbiota*, *Platycladus*, *Tetraclinis*, *Thuja*, *Thujopsis*.
- Sequoioideae: *Metasequoia*, *Sequoia*, *Sequoiadendron*.
- Taiwanoideae: *Taiwania*.
- Taxodioideae: *Taxodium*, *Glyptostrobus*, *Cryptomeria*.

En esta clasificación se excluye a *Sciadopityaceae*, considerada anteriormente como un género de la familia *Cunninghamiaceae*. *Sciadopityaceae* es considerada una familia monotípica, con un único género y especie: *S. verticillata*, distribuida en Japón¹²⁹.

Dentro de la familia *Cupressaceae* encontramos los árboles más viejos (2000-3000 años) y más altos del mundo (hasta 100 metros) como *Sequoiadendrum giganteum* (árbol del mamut), *Sequoia sempervirens* (sequoia) y *Taxodium mucronatum* (ciprés mejicano), del que hay un ejemplar en Oxaca de 34 metros de diámetro y unos 2000 años¹³². A esta familia pertenecen también el género *Cryptomeria japonica* (cedro japonés), que ocupa el 18% del área total de la isla de Japón, y el género *Chamaecyparis obtusa* (ciprés japonés), que se concentra en la región de Kanto y la parte oeste de la isla japonesa¹³³.

Se han descrito como fuentes de alérgenos a géneros de las familias *Cupressaceae*, *Taxodiaceae*, *Podocarpaceae* y *Pinaceae*⁵⁰.

Los géneros más importantes desde el punto de vista alergológico de la familia *Cupressaceae* son: *Cupressus* (cipreses), *Juniperus* (enebros y sabinas), *Chamaecyparis* (cedro de Oregón y especies afines), *Calocedrus* (cedro blanco de California), *Thuja* (árbol de la vida)¹³⁴ y *Cryptomeria*¹⁵.

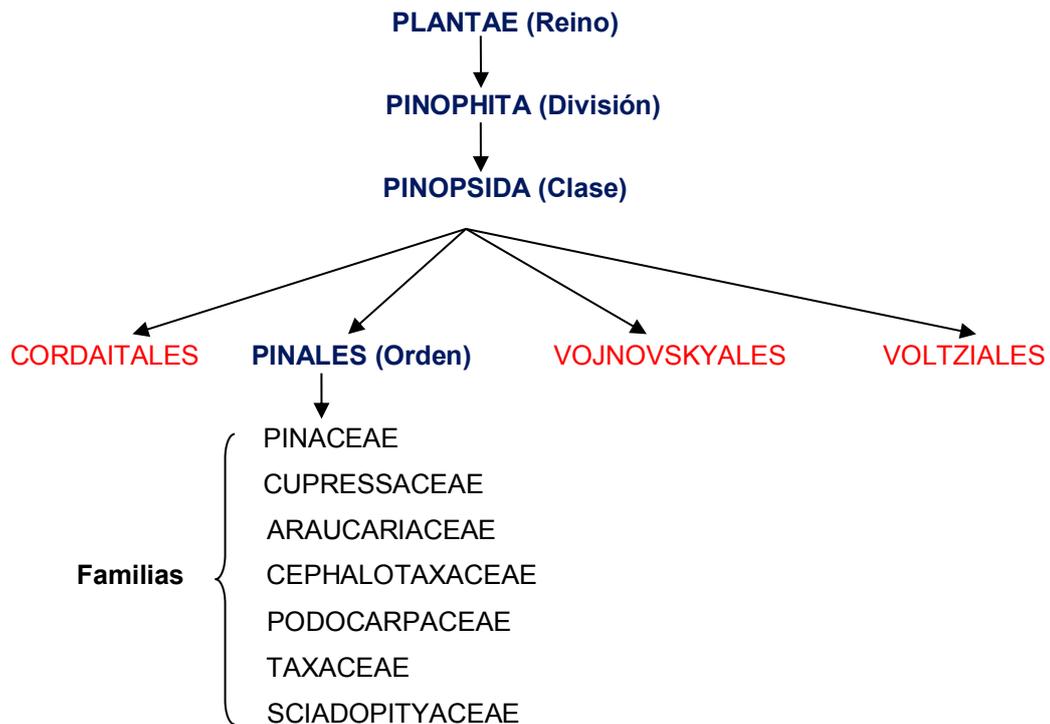


FIGURA 2. Taxonomía de *CUPRESSACEAE*. En rojo los órdenes extintos.

2.2 Distribución de *Cupressaceae* en España y Cataluña

La presencia de *Cupressaceae* antes de la división de los continentes hace que sean la familia de coníferas con una distribución más global, pues las encontramos actualmente tanto en el hemisferio Norte como en el Sur, y en todos los continentes, excepto la Antártida.

En España, la familia *Cupressaceae* está compuesta por dos géneros nativos *Juniperus* (con 6 especies) y *Tetraclinis* (una especie), y diversos géneros exóticos cultivados como

ornamentales o como especies forestales: *Cupressus*, *Chamaecyparis* y *Platyclusus*, los más comunes¹³⁵. La distribución geográfica de estas especies es la siguiente:

- *Juniperus communis* está presente en el centro, norte y sureste de la Península Ibérica, a altitudes entre 450 y 1400 metros.
- *Juniperus oxycedrus* presente en toda la Península Ibérica excepto en la zona noroeste, principalmente cerca de la costa, a altitudes de 1200 metros.
- *Juniperus navicularis* presente en la zona sur entre 500 y 1000 metros.
- *Juniperus phoenicea* lo encontramos en el noreste y sur de la Península Ibérica.
- *Juniperus thirifera* presente en el centro, este y sur de la Península Ibérica.
- *Juniperus ashei* en el este de la Península Ibérica y la Cordillera Cantábrica.
- *Tetraclinis articulata* presente cerca de Cartagena, en Murcia.
- *Cupressus sempervirens*, *Cupressus arizonica*, *Cupressus macrocarpa*, *Cupressus lusitanica*, *Chamaecyparis lawsoniana* y *Platyclusus orientalis* son géneros plantados por toda España con fines forestales u ornamentales.

En Cataluña, concretamente encontramos las siguientes especies¹³⁶:

- *Juniperus oxycedrus*: desde el litoral hasta las montañas subpirinéicas y cada vez más raro a medida que aumenta la altitud y la lluvia. Frecuente en encinares, pinedas y en llanos y faldas de montañas soleadas, en las zonas calcáreas y secas como la Seu d'Urgell, Solsona, Cardona, Berga, etc. La subespecie macrocarpa en las montañas cerca de Barcelona y en el Empordá, Roses y Cadaqués.
- *Juniperus communis*: frecuente en los bosques de pinos, robles, abetos y hayas, sobretudo en las comarcas silíceas de la parte húmeda de Cataluña, y la cordillera litoral: Vallés, la Selva, Empordá, etc. La subespecie alpina (o *Juniperus nana*) se distribuye por todo el Pirineo y cimas del Montseny.
- *Juniperus phoenicea*: se encuentra presente en zonas calcáreas de la costa, hasta los Pirineos.
- *Juniperus ashei*: se encuentra presente en Solar de Espot, rocas de la Molina, cerca de Tossa, en Conflent y en el Coronado.
- *Cupressus sempervirens*: lo encontramos muy frecuentemente plantado en parques, cementerios, ermitas y urbanizaciones por toda Cataluña.

- De la familia *Taxaceae* (ver figura 1) en Cataluña solo hay una especie; *Taxus baccata*, presente en bosques mixtos, barrancos, laderas y peñascos, de indiferente sustrato, casi siempre en escaso número de individuos, desde el Montsiá a los Pirineos.

En la zona de estudio, el Vallés occidental, encontramos¹³⁷:

- *Juniperus communis*: en lugares selvosos.
- *Juniperus oxycedrus*: en bosques y matorrales.
- *Juniperus phoenicea*: en los montes de Sant Llorenç, Ubach y otros.
- *Taxus baccata*: en Montserrat y en el desfiladero de San Jerónimo a Santa Cecilia.
- *Cupressus arizonica*.

Las especies de *Cupressaceae* citadas corresponden a aquéllas observadas por los botánicos. En las áreas urbanas, en cambio, el arbolado viario está controlado por los Ayuntamientos, que se encargan de su plantado, cuidado y reposición. Los Ayuntamientos publican las especies del arbolado viario de la ciudad y en ocasiones también su número de individuos. Así, en la ciudad de Terrassa, constan plantados unas 49 unidades de *Cupressus sempervirens*, 1 unidad de *Cupressus macrocarpa* y 2 unidades de *Cupressus arizonica* y *Thuja occidentalis*. En Matadepera constan plantadas *Cupressus sempervirens*, *Cupressus glabra* y *Thuja occidentalis*. En Sant Quirze del Vallés hay plantados 4885 árboles, siendo el más presente *Cupressus sempervirens* (Fuentes: Ajuntament de Terrassa, Manteniment urbà; Pla de Gestió de l'arbrat de Matadepera; Ajuntament de Sant Quirze del Vallès). No se cuentan, sin embargo, los arbustos ornamentales de *Cupressaceae* presentes en jardines privados. En concreto en Sant Quirze del Vallés abundan los setos ornamentales de *Cupressus arizonica*. El aumento en la plantación de especies de la familia *Cupressaceae* como arbustos ornamentales en urbanizaciones, en parques y jardines, o para reforestación, es uno de los factores que explican el aumento de la prevalencia de la alergia a polen de *Cupressaceae*.

2.3 Características botánicas de la familia *Cupressaceae*

Las *Cupressaceae* son árboles, perennes, raramente arbustos, resinosos, con hojas polimórficas en todas las especies.

Las flores son siempre unisexuales (no tienen verdaderas flores), pequeñas, y sus órganos reproductores son los conos o estróbilos, que pueden ser monoicos (en la misma planta los dos sexos) o dioicos (en distinta planta), con escamas opuestas o verticiladas^{129,130,135,138}.

Los conos son característicos de las coníferas (de aquí el nombre del anterior orden de Coniferales, actualmente Pinales). Los conos femeninos están formados por un eje central en el que se colocan en espiral numerosas escamas concrecentes, planas o peltadas (*brácteas tetricas*) con 2-24 rudimentos seminales por escama, que después de la polinización y la fecundación, se transforman en semillas. Los conos masculinos son siempre más pequeños que los femeninos y se agrupan alrededor del final de las ramas. En cada escama (*brácteas poliníferas*) encontramos de 3 a 7 sacos polínicos. Su posición favorece la dispersión del polen, que en las *Cupressaceae* es anemófila^{130,134}. El polen es liberado en grandes cantidades y forma nubes amarillas cuando se mueven las ramas¹³⁵.

Las características botánicas de las especies de la familia *Cupressaceae* y la familia *Taxaceae* presentes en Cataluña son las siguientes¹³⁰:

Cupressus sempervirens: árbol de hasta 30 m, con ramas fastigiadas; hojas 0.5-1 mm, obtusas; estróbilos 2.5-4 cm, de color pardo-grisáceo al madurar, con 8-14 escamas obtusamente mucronadas. Se caracteriza por copa de aspecto fusiforme o cónico.

Cupressus arizonica: árbol de hasta 30 metros, con ramas fastigiadas o ascendentes; hojas 1.5-2 mm, glaucas; estróbilos 2-3.2 cm glaucos de jóvenes, con 6-8 (10) escamas obtusamente mucronadas.

Juniperus communis: árbol de hasta 15 m o arbusto, erecto o postrado, dioico; hojas 10-20 x 1-2-mm, punzantes, con una sola franja estomática blanca longitudinal en el haz,

raramente dividida en la base por un nervio fino; gábulos de 6-10 mm, de maduración bi o trienal, azul negruzco. La subespecie alpina es un arbusto con ramas ascendentes; hojas 10-15 x 1,3-2 mm, incurvas, con una franja estomática blanca muy ancha.

Juniperus oxycedrus: arbusto dioico de hasta 15 m, con hojas de 8-25 mm patentes, con 2 franjas estomáticas blancas en el haz; gábulos 0.8-1.5 cm, de rojo a púrpura oscuro en la madurez. La subespecie macrocarpa es un arbusto de hasta 3 m, muy ramoso y copa amplia; hojas 20-25 x 2-2.5 mm, atenuadas; gábulos de 12-15 mm castaño purpúreo al madurar.

Juniperus phoenicea: pequeño árbol de hasta 8 m o arbusto, monoico, copa cónico-fastigiada; hojas 5-14 x 0.5-1 mm, ovado-romboidales, densamente imbricadas, obtusas o agudas, con margen estrecho escarioso; gábulos de 8-14 mm, madura a los 2 años, rojo oscuro.

Juniperus sabina: arbusto dioico, de olor intenso al frotarlo; hojas de 4 mm las jóvenes y 1-1.3 mm las adultas; gábulos de 4-6 mm, negro azulado.

Taxus baccata: arbusto o árbol de hasta 20 m, copa piramidal amplia, con ramas horizontales o algo colgantes; hojas 10-30 x 1,5-3 mm de color verde oscuro por el haz y verde amarillento por el envés, terminadas en punta córnea. Planta muy tóxica por contener el alcaloide taxina.

2.3.1 Características morfológicas y funcionales del polen de *Cupressaceae*

El polen de *Cupressaceae* es de morfología esferoidal con un tamaño entre 15 y 35 μm (excepto, *Cupressus dupreziana*, 38 μm)¹³⁹ y microverrugado, con numerosos orbículos distribuidos irregularmente sobre la superficie de la exina (capa más externa y resistente de la pared del polen) (Figura 3). La intina (capa más interna de la pared del polen) es muy gruesa y encierra un protoplasto con forma de estrella.

El grano de polen tiene un único poro con una pequeña protuberancia similar a una estructura tipo opérculo donde la exina es muy delgada (Figura 4).

El contacto del polen con un ambiente húmedo provoca una hidratación rápida, la intina, constituida en su mayoría por pectinas, se dilata, y provoca la ruptura de la exina a través del poro apertural, que se rasga longitudinalmente. El protoplasto es expulsado fuera de la exina, cubierto por la intina dilatada, dando lugar a una micropartícula independiente, de 0.8-1 μm de grosor (Figura 5)¹⁴⁰.

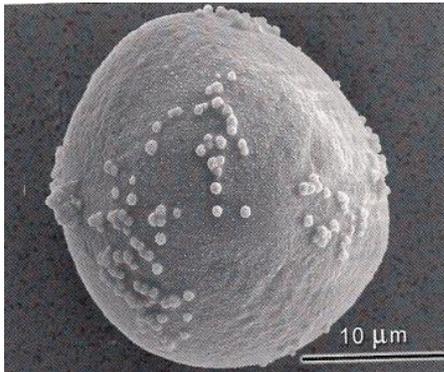


Figura 3: Grano de polen de *Cupressus arizonica* con la protuberancia apertural y numerosos orbículos. Reproducido con permiso del Dr. A.L. Valero, imagen del Capítulo: Biología celular del polen: factores de biodiversidad.

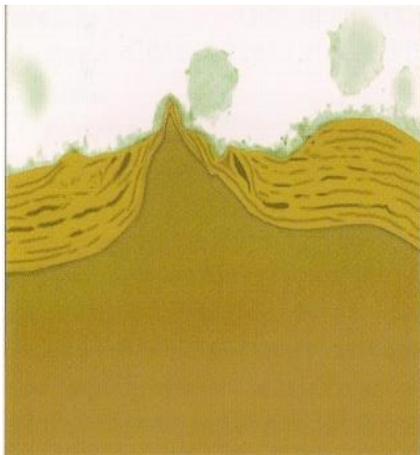


Figura 4: Estructura de la exina a nivel de la apertura en el polen de *Cupressaceae*. Reproducido con permiso del Dr. A.L. Valero, imagen del Capítulo: Biología celular del polen: factores de biodiversidad.

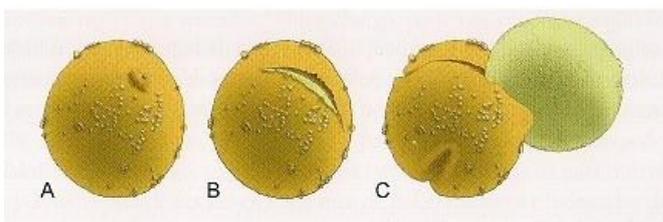


Figura 5: Secuencia del proceso de hidratación del polen de *Cupressaceae*. Reproducido con permiso del Dr. A.L. Valero, imagen del Capítulo: Biología celular del polen: factores de biodiversidad.

En este proceso los orbículos quedan libres formando partículas paucimicrónicas de 0.2-0.7 μm de diámetro. La función de los orbículos en la dispersión del polen es desconocida. Los orbículos se desarrollan al mismo tiempo que la exina del polen y están formados por esporopolenina (polímero equivalente a la exina del polen). Su forma y su arquitectura es similar a la del polen del cual proceden, y están formados por proteínas, pectinas, polisacáridos y glicolípidos¹⁴¹.

Debido al shock osmótico también se rompe la intina y se libera el contenido intracelular con numerosos gránulos de almidón (starch granules). En el caso del polen de gramíneas, pruebas *in vitro* han demostrado la liberación de hasta 700 gránulos de almidón por cada grano de polen sometido a humedad¹²¹.

Tanto los gránulos de almidón como los orbículos, se liberan a la atmósfera en gran cantidad después de la humidificación del polen, y contienen alérgenos^{121,141,142}. El alérgeno principal de *Cryptomeria japonica*, Cry j 1, se ha localizado en la exina, la intina, la pared celular, el aparato de Golgi y los orbículos del polen joven y maduro de *Cryptomeria japonica*¹⁴³.

Estas partículas paucimicrónicas son mucho más numerosas que los granos de polen, lo que implicaría una multiplicación importante del número de partículas alérgicas emitidas a la atmósfera por cada grano de polen de *Cupressaceae*¹⁴⁰ con capacidad de penetrar en las vías respiratorias inferiores.

Este mecanismo de hidratación del polen y la posterior liberación de diferentes micropartículas se ha observado en *Cupressus arizonica*, *Cupressus sempervirens* y *Juniperus communis*, y podría considerarse específico de algunas coníferas¹⁴⁴.

El polen de las especies de *Cupressaceae* se caracteriza por una baja concentración de proteínas¹⁴⁵ y un alto contenido en carbohidratos.

En el caso de *Juniperus ashei*, el contenido está formado por un 80-90% de hexosas y pentosas, y un 10-20% de proteínas¹⁴⁶. Las glicoproteínas del polen de *Juniperus ashei* tienen la capacidad de inducir IgE específica. Se ha demostrado que el polen de *Juniperus ashei*, en ausencia de IgE y de forma no dependiente del calcio extracelular, aumenta los niveles de especies reactivas del oxígeno (ROS) que causan estrés oxidativo en los mastocitos e induce la liberación de aminas biógenas y citoquinas IL-4 e IL-6¹⁴⁷. La producción de citoquinas está influenciada, además, por la contaminación, pues la producción de IL-4 e IL-6 por parte de los mastocitos puede ser modulada con la exposición a partículas diesel y formaldehído¹⁴⁸.

Debido a su tamaño (> 5 micras), el polen de *Cupressaceae* puede ser eliminado fácilmente por los mecanismos protectores de la mucosa nasal y el tracto traqueobronquial, siendo incapaz de alcanzar el árbol bronquial. Las partículas que miden entre 5 y 10 μm alcanzan el árbol traqueobronquial, y sólo las partículas de 0.5 a 5 μm se cree que alcanzan el alveolo mediante sedimentación y difusión browniana¹⁴⁹. Esta sería la razón por la que mayoritariamente la polinosis por el polen de *Cupressaceae* tiende a causar más rinoconjuntivitis y rinitis que asma. Sin embargo, el contacto del polen con la humedad de la mucosa nasal y la rápida liberación de los orbículos y los gránulos de almidón (tamaño inferior a 5 μm), hace que puedan ser absorbidos a través de la mucosa respiratoria antes de ser eliminados, y causar asma^{150,151}. Estas partículas, debido a su pequeño tamaño, pueden estar en suspensión en la atmósfera antes del inicio y después del final de la polinización de *Cupressaceae*, prolongando los síntomas respiratorios de los pacientes alérgicos^{27,152-154}. Además pueden unirse a aerosoles de la contaminación, como las partículas de carbono diesel, durante los períodos de humedad relativa alta, o después de la lluvia, hecho que facilita la transmisión de los alérgenos del polen^{118,120}.

Gran parte de las partículas de carbono diesel son inferiores a 1 μm (30-60 nanómetros de diámetro), funcionan como transportadoras de sustancias orgánicas e inorgánicas que se mantienen en la atmósfera durante períodos largos de tiempo, y son capaces de funcionar como adyuvantes en la producción de anticuerpos IgE¹⁵⁵.

El tamaño del polen es considerado un carácter con valor taxonómico, pues permanece estable, en general, dentro de una misma especie. Dentro del orden Pinales, todas las familias (excepto *Pinaceae*) tienen el mismo tipo de polen, y no es posible distinguir entre géneros, especies o familias, en base a la morfología del polen^{132,135,156}. Por ello, al identificar estos pólenes al microscopio se les denomina *Cupressaceae-Taxaceae* (sin tener en cuenta el resto de familias de Pinales)¹³².

3. AEROBIOLOGÍA DEL POLEN DE *CUPRESSACEAE*

La cantidad de polen de *Cupressaceae-Taxaceae* recogido depende de muchos factores como la cantidad de árboles y número de conos masculinos por rama¹⁵⁷, la hora del día, la pluviometría, la intensidad del viento y la contaminación. Para la familia *Cupressaceae*, se ha demostrado que los recuentos polínicos están muy influenciados por la proximidad de plantas ornamentales cerca del captador de polen, y no tanto en relación con los parámetros geográficos^{109,135}.

En general, la polinización de *Cupressaceae-Taxaceae* se centra en invierno y principio de la primavera, con variaciones según la especie y la geografía.

En España, el período de polinización de *Cupressaceae-Taxaceae* es similar al de Francia e Italia, iniciándose el mes de diciembre y finalizando el mes de abril, con recuentos máximos de polen los meses de febrero y marzo^{134,135}.

En Cataluña¹³⁶, la polinización de los diferentes géneros varía ligeramente. Así, *Cupressus sempervirens* poliniza desde el mes de marzo hasta el mes de abril y *Cupressus arizonica* poliniza el mes de enero¹³⁷. Para *Juniperus communis* la polinización se inicia el mes de marzo y finaliza el mes de mayo. La subespecie alpina de *Juniperus communis* poliniza los meses de junio y julio, *Juniperus oxycedrus* poliniza los meses de abril y mayo, *Juniperus phoenicea* poliniza los meses de febrero y marzo, *Juniperus ashei* poliniza los meses de abril y mayo, y *Taxus baccata* poliniza en los meses de marzo y abril.

En cuanto a la concentración de pólenes de *Cupressaceae* en 24 ciudades españolas, los días pico más elevados se produjeron en Toledo con 2660 granos/m³ (19 de diciembre de 1998), Ciudad Real con 1602 granos/m³ (13 de febrero de 2001), Ávila con 1256 granos/m³ (4 de febrero de 2000), Barcelona con 1077 granos/m³ (13 de febrero de 1997) y Madrid con 1005 granos/m³ (29 de enero de 1999). En el resto de ciudades, los máximos recuentos de polen se produjeron en el mes de febrero¹³².

3.1 Calendario polínico de *Cupressaceae* en el área del Vallés occidental

El calendario polínico es una representación gráfica que resume la dinámica anual de los principales tipos de polen de una localidad, ordenados en función de su período de polinización⁹⁹.

Las modificaciones de las condiciones climáticas habituales registradas en los últimos años, con un aumento general de la temperatura anual y cambios significativos en la distribución y cantidad de las precipitaciones, están incidiendo en un retraso en la floración de algunas hierbas y en un adelanto en la floración de árboles primaverales de la región mediterránea. Esta situación potencia el solapamiento de la floración de distintas especies con potencial alergógeno¹⁰⁷.

La polinización de *Cupressaceae* coincide con la polinización de otros árboles como el avellano, la acacia, el fresno, el aliso, el olmo, el pino, el chopo o el plátano de sombra. Tanto *Cupressaceae* como *Platanus* tienen polen de elevado potencial alergógeno, y coexisten aún concentraciones moderadas de *Cupressaceae* cuando se inicia la floración del plátano de sombra a principios de la primavera¹⁰⁷ (Figuras 6 y 7).

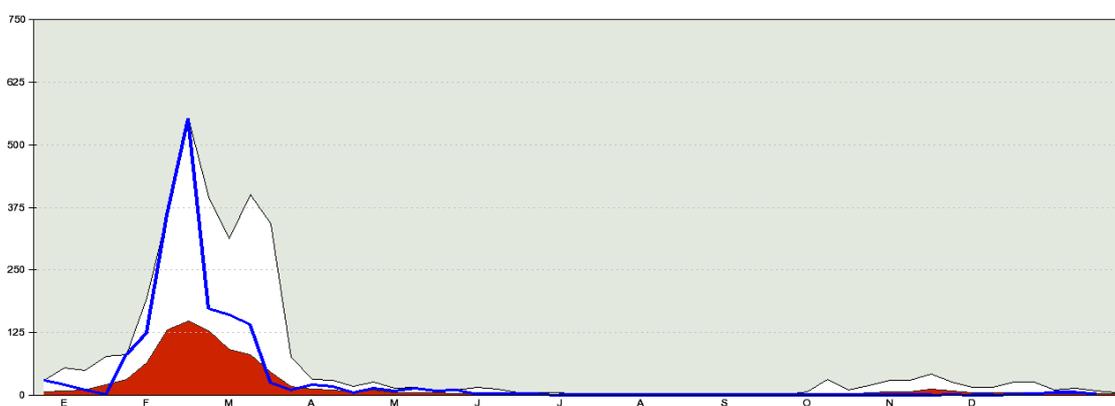


Figura 6. Concentraciones medias de los pólenes de *Cupressaceae*.

P/m³: Bellaterra 1994-2011.



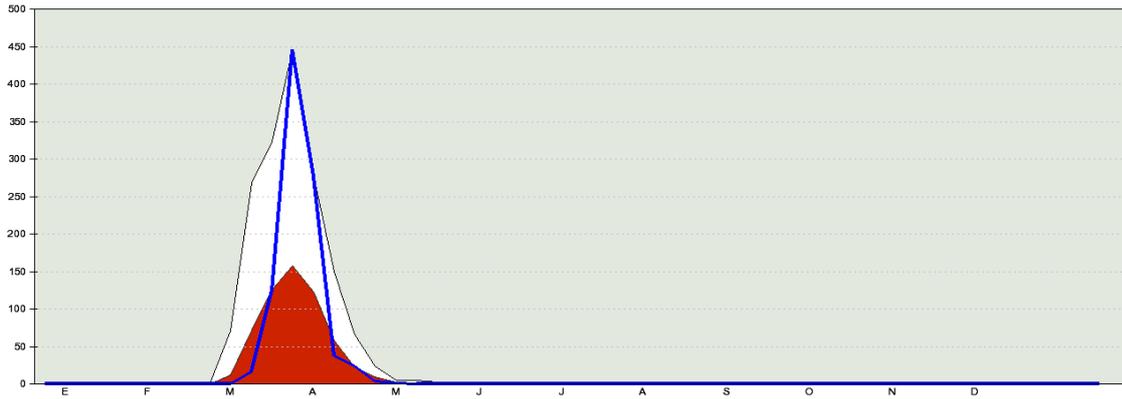


Figura 7. Concentraciones medias de los pólenes de *Platanus*.

P/m³: Bellaterra 1994-2011

 Concentraciones medias (1994-2011)  Máximos absolutos (1994-2011)

 Año de comparación (2011)

La polinización del fresno (*Fraxinus excelsior*) ocurre a finales de invierno y principios de primavera (Figura 8). Aunque las concentraciones de polen son bajas en el área de estudio, se conoce que el fresno es un árbol de la familia *Oleaceae* y por lo tanto presenta reactividad cruzada con el polen del olivo (*Olea europea*). El polen de olivo poliniza de forma tardía en los meses de primavera (mayo-junio). De esta manera encontramos pacientes alérgicos al polen de olivo que inician los síntomas a finales de invierno y otros a finales de primavera¹⁵⁸.

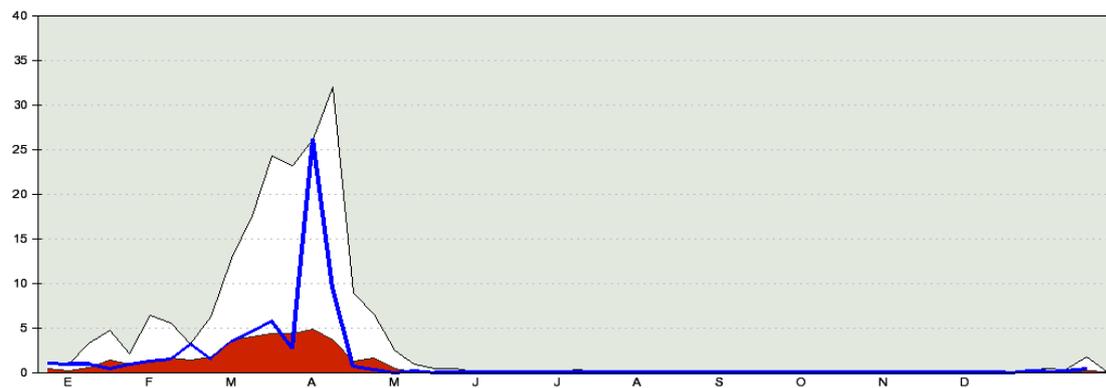


Figura 8. Concentraciones medias de los pólenes de *Fraxinus*.

P/m³: Bellaterra 1994-2011

 Concentraciones medias (1994-2011)  Máximos absolutos (1994-2011)

 Año de comparación (2011)

A continuació se detalla el calendari polínic de Bellaterra (estació aerobiològica del Vallés occidental) on es observa el solapament de la pol·lització de espècies d'interès al·lèrgic (Figura 9).

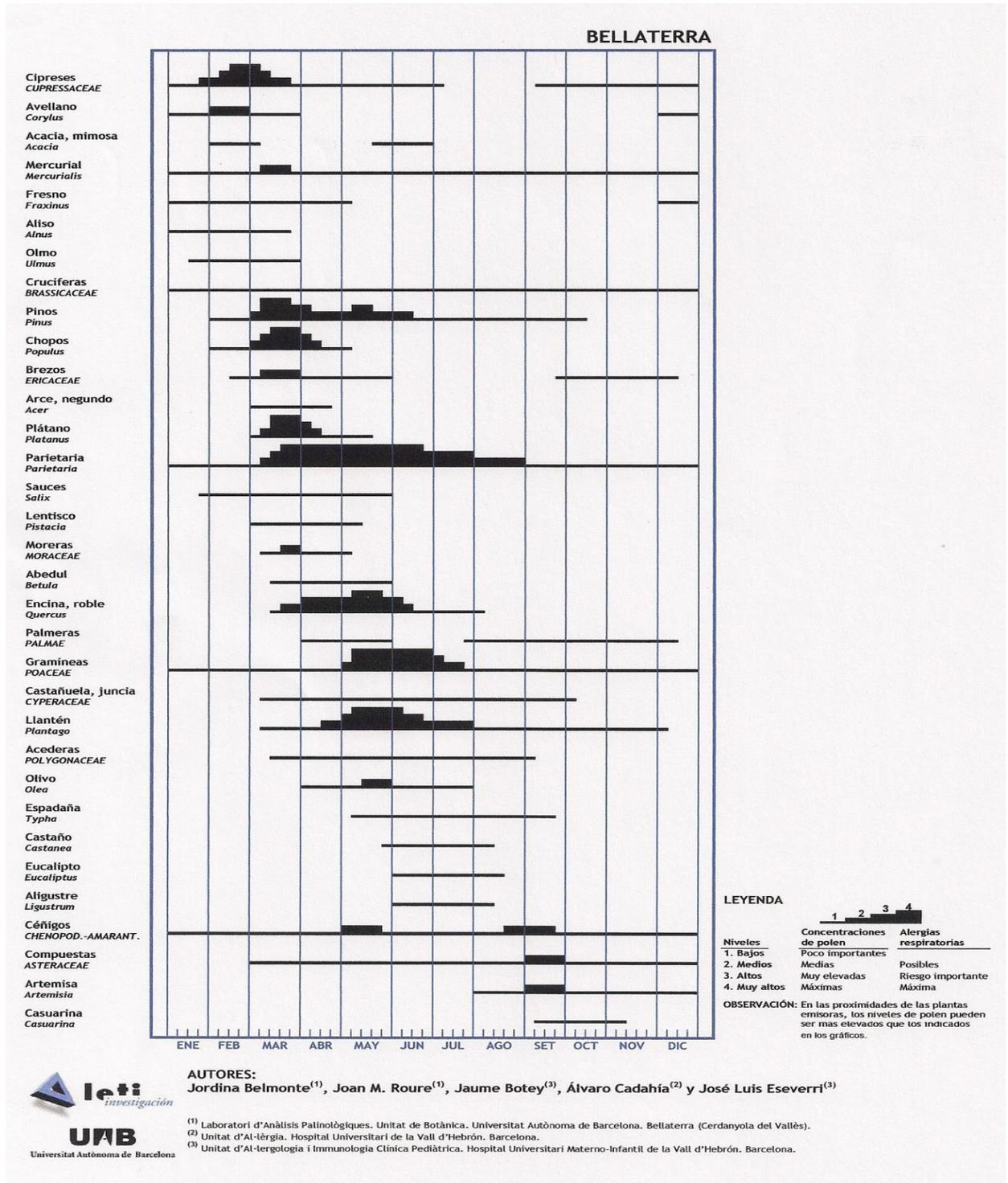


Figura 9. Calendari polínic de Bellaterra <http://www.lap.uab.cat/aerobiologia/general/pdf/calendariis>.

4. ALERGIA A POLEN DE *CUPRESSACEAE*

La primera descripción de la alergia al polen de *Cupressaceae* consta del 1929, por Black, que atribuyó la fiebre del heno de sus pacientes entre los meses de diciembre y febrero a la polinización de un árbol nativo de Tejas (Arizona), el *Juniperus ashei* (Mountain cedar). También advirtió que especies no nativas de Tejas, como *Chamaecyparis lawsoniana* (nativa de Oregón y California) o *Chamaecyparis nootkatensis*, eran utilizadas como árboles y arbustos ornamentales en amplios territorios y eran agrupadas dentro del mismo grupo que *Juniperus ashei* por los botánicos. Comprobó que *Chamaecyparis lawsoniana* (*Port Orford cedar*) no se encontraba presente ni en el norte ni en el centro de Tejas. Realizó pruebas cutáneas con *Chamaecyparis lawsoniana* a 40 de sus pacientes tratados para la polinosis a *Juniperus ashei* y en 39 de ellos la prueba cutánea fue positiva con ambos pólenes. De los 39 positivos, 24 mostraron una prueba cutánea positiva mayor a *Juniperus ashei* y 15 mostraron una prueba cutánea positiva mayor a *Chamaecyparis lawsoniana*. Decidió tratar a sus pacientes con inmunoterapia con el polen que había dado mayor pápula en la prueba cutánea. Trató a 24 pacientes frente al polen de *Juniperus ashei* y a 15, frente al polen de *Chamaecyparis lawsoniana*. Comprobó que más del 90% de los pacientes tratados con inmunoterapia mejoraron un 80% su polinosis. Concluyó que la protección frente a un polen nativo, puede asegurarse utilizando un polen estrechamente relacionado botánicamente, aunque el paciente nunca haya estado expuesto a él¹⁵⁹.

Un año más tarde, Kahn describió fiebre del heno y asma en invierno debido al polen de *Juniperus virginiana*¹⁶⁰.

Posteriormente, se describió alergia a pólenes de *Cupressaceae* en Sudáfrica, donde desde principios del siglo XX *Cupressus arizonica* era el ciprés más abundante pues se utilizaba como cortavientos, en setos ornamentales y para dar sombra¹⁶¹; en Japón debida al polen de *Cryptomeria japonica*¹⁶² y en el área Mediterránea, debida al polen de *Cupressus sempervirens*¹⁶³.

Otros árboles pertenecientes a la familia *Cupressaceae* causan polinosis, como *Callitris glaucophylla* en Australia¹⁶⁴, *Thuja* en el norte de Francia¹⁶⁵ y *Calocedrus decurrens* en Italia¹⁶⁶. El polen de *Taxodium distichum*, una especie del género *Taxodium*, de la familia *Taxodiaceae*, es causa de polinosis en Florida, Estados Unidos¹⁶⁷.

También se han dado casos de asma ocupacional por madera de *Thuja plicata* en relación con la fabricación de guitarras¹⁶⁸ y en serrerías, en relación con la madera de *Thuja occidentalis*¹⁶⁹.

4.1 Prevalencia de la polinosis por Cupressaceae

La prevalencia de alergia a polen de *Cupressaceae* varía en gran medida según la población en estudio y su grado de exposición al polen.

En estudios de población general expuesta a polen de *Cupressaceae*, la prevalencia varía de un 2.4%, basada en cuestionarios y prueba cutánea positiva realizados en 4700 adultos del sud-este de Francia¹⁷⁰, a un 9.6%, basado en pruebas cutáneas positivas realizadas en 2500 escolares, de entre 9 y 12 años, también en Francia¹⁷¹.

En los años 90, en Madrid, un estudio realizado en 705 pacientes con rinoconjuntivitis y/o asma, detectó una prevalencia de sensibilización por prueba cutánea con extracto de polen de *Cupressus arizonica* del 10.3%¹⁷² y en Córdoba, del 18%, con un extracto de polen de *Cupressaceae*¹⁷³. En Toledo, las pruebas cutáneas realizadas en 216 pacientes polínicos revelaron una prevalencia de sensibilización a polen de *Cupressus arizonica* del 20.6%¹⁷⁴.

El Comité de Aerobiología de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica realizó en 2003 un estudio epidemiológico multicéntrico en la población española con polinosis, utilizando una batería de extractos alérgicos de los 24 pólenes más relevantes en España. Dentro de *Cupressaceae* se incluyeron extractos de *Cupressus arizonica*, *Cupressus sempervirens* y *Juniperus oxycedrus*. Las ciudades con mayor prevalencia de pruebas cutáneas positivas a *Cupressus arizonica* fueron Madrid, Burgos, Toledo, Zaragoza y Barcelona (Tabla 3)¹³².

Tabla 3: Prevalencia de sensibilización a *Cupressaceae* en pacientes con polinosis, en los años 2002-2003 en varias ciudades españolas.

Ciudad (nº pacientes)	<i>Cupressus Arizona</i>	<i>Cupressus Sempervirens</i>	<i>Juniperus Oxycedrus</i>
Badajoz (191)	4.19	1.57	0.52
Barcelona (32)	21.88	18.75	18.75
Bilbao (44)	2.27	-	-
Burgos (146)	19.18	11.64	15.07
Ciudad Real (175)	11.43	5.14	12
La Coruña (78)	1.28	1.28	1.28
Logroño (38)	13.16	10.53	10.53
Madrid (93)	55.91	40.86	49.46
Santander (56)	3.57	3.57	1.79
Sevilla (99)	4.04	2.02	5.05
Toledo (135)	20	15.56	22.22
Vitoria (67)	5.97	4.48	4.48
Zaragoza (148)	21.62	12.84	16.89

Posteriormente, en el estudio epidemiológico nacional Alergológica 2005, se detectó que el 9,2% de los pacientes con rinitis alérgica y el 7,5% de los pacientes con asma alérgica estaban sensibilizados a especies de *Cupressaceae*. Se objetivó una gran variabilidad de prevalencias según las diferentes Comunidades Autónomas: del 0% en País Vasco, Galicia, Canarias, Cantabria, Ceuta y Melilla al 34.4% para rinitis y 24.7% para asma en Madrid. En Cataluña se detectó un 5.7% de pacientes con rinitis (de los cuáles un 15.3% eran menores de 14 años), y un 3.6% de pacientes con asma alérgica por *Cupressaceae*³⁴.

La gran variabilidad de prevalencias según el área geográfica también se ha constatado en otros países como Francia¹⁷⁵, Italia¹⁷⁶⁻¹⁷⁸ o Albania¹⁷⁹.

En las últimas décadas se ha constatado un aumento en la prevalencia de alergia a polen de *Cupressaceae-Taxodiaceae*, tanto en el área Mediterránea^{29,180-182}, como en Japón, donde la alergia a polen de *Cryptomeria japonica* ha aumentado en más de un 10% según un cuestionario en población con rinitis, respecto a datos de 1998¹³³.

Se han propuesto varios factores para explicar el aumento de prevalencia de la alergia a polen de *Cupressaceae-Taxaceae*, como son: (1) el aumento de las concentraciones de polen de *Cupressaceae* en el área mediterránea, principalmente debido a un aumento en la plantación de especies de esta familia como árboles y arbustos ornamentales en jardines

y parques, para reforestación, o como barreras para el ruido y el viento, a partir de los años 70^{183,184}, y en Japón, debido a la reforestación con *Cryptomeria japonica* después de la Segunda Guerra Mundial¹⁸⁵; (2) la elevada reactividad cruzada entre los pólenes de la familia *Cupressaceae* y también con los pólenes de la familia *Taxodiaceae*; (3) la mejora en los extractos alergénicos para el diagnóstico^{186,187}; (4) la evidencia de que la contaminación, donde hasta el 90% de las partículas ambientales corresponden a partículas de los motores diesel²⁷, aumenta la alergenicidad del polen¹⁵⁵; (5) la presencia de partículas submicrónicas (orbículos, 300-600 nm) que se desprenden del polen de ciprés en condiciones ambientales de humedad relativa baja y temperatura media y pueden persistir durante y después del período de polinización¹⁸⁸ y (6) por último, el cambio climático global¹⁸⁹⁻¹⁹⁸.

De esta manera, árboles de la misma especie en diferentes localizaciones (por ejemplo, cerca de autopistas o en áreas rurales) y en diferentes años, pueden expresar niveles de proteínas de defensa variables, que modifican la potencia alergénica de los pólenes¹⁹⁹.

El último factor, el cambio climático global, sería el más determinante en el aumento de prevalencia de la alergia a pólenes, pues estudios epidemiológicos han demostrado que el cambio climático global correlaciona con el número de polinosis sintomáticas y las enfermedades alérgicas en general¹⁹⁵.

4.2 Características de la polinosis por *Cupressaceae*

En 1993, Bousquet et al, estudiaron las características de 89 pacientes alérgicos a polen de *Cupressus sempervirens*. Todos ellos presentaban sintomatología de rinitis entre los meses de enero y marzo y prueba cutánea positiva a polen de *Cupressus sempervirens*. Solo 26 pacientes (29,2%) eran monosensibles a polen de *Cupressus sempervirens*, y el resto estaban polisensibilizados. Respecto a los pacientes polisensibilizados los pacientes monosensibles a polen de *Cupressus sempervirens* iniciaban los síntomas unos 10 años más tarde, presentaban valores de IgE total normales o bajos y de IgE específica más bajos, clínica de rinitis similar pero con síntomas de conjuntivitis más frecuentes e importantes, y menor incidencia de asma. Estas diferencias se explicarían por la gran

cantidad de polen de *Cupressaceae* durante la polinización, que haría que pacientes no atópicos se sensibilizaran y también, por la interacción alérgeno-contaminación que favorece la alergenicidad de estos pólenes y la exposición en la mucosa nasal²⁰⁰.

En España, en un estudio realizado en Córdoba, se encontró que la sensibilización a polen de *Cupressaceae* era más frecuente en adultos que en niños (37% vs. 24%), de más larga duración comparada con pacientes alérgicos a otros pólenes (más de 8 años) y que todos los pacientes sensibilizados a polen de *Cupressaceae* presentaban además pruebas cutáneas positivas con polen de olivo (*Olea europea*) y polen del fresno (*Fraxinus excelsior*). Se interpretó que la sensibilización a *Cupressaceae* se iniciaba de forma subclínica, y solo cuando el paciente presentaba empeoramiento de los síntomas por sensibilización a pólenes con mayor potencial alérgico en la zona, como el olivo o las gramíneas, consultaba al médico. No encontraron ningún paciente monosensibilizado a polen de *Cupressaceae*¹⁷³.

Posteriormente, otro estudio, realizado en Francia, comparó las características de pacientes alérgicos a polen de *Juniperus ashei* y de pacientes alérgicos a polen de gramíneas, confirmando que en pacientes monosensibles a polen de *Juniperus ashei* los síntomas de alergia se iniciaban más tarde en la edad adulta (34.8 vs 19.7 años) y presentaban una elevada prevalencia de tos seca (21.4 vs 0%). En este estudio también se constató una diferencia en la edad de inicio de polinosis entre los pacientes monosensibles a polen de *Juniperus ashei* (34.9 años) respecto a pacientes alérgicos a polen de *Juniperus ashei* y a otros pólenes (polisensibilizados), que iniciaban la polinosis a edades inferiores (28.5 años)²⁰¹.

Estudios más recientes muestran que la monosensibilización a polen de ciprés (*Cupressus sempervirens*) es baja en el área mediterránea. Según un estudio realizado a 455 pacientes en Turquía, de los 65 pacientes con pruebas cutáneas positivas a *Cupressus sempervirens*, solamente 1 paciente era monosensible (0.22%). En 50 de estos pacientes se determinó la IgE específica y resultó positiva en 37 pacientes, a los que se les realizó una prueba de provocación nasal específica con polen de *Cupressus sempervirens*, resultando positivo únicamente en el paciente monosensible. Los autores concluyen que la presencia de pruebas cutáneas positivas puede no reflejar la prevalencia real de la sensibilización a polen de *Cupressaceae*, sobretodo cuando la presencia de determinantes carbohidratados

es elevada en la familia de *Cupressaceae*, y esto condiciona una elevada reactividad cruzada con otros pólenes²⁰².

Este último dato ya había sido apuntado por Ramírez en 1984. Estudió a 234 pacientes alérgicos a *Juniperus ashei* en San Antonio, Tejas, y encontró que el 34% (80 pacientes), eran monosensibles. Comparó a los pacientes monosensibilizados a polen de *Juniperus ashei* con 154 pacientes sensibilizados además a otros pólenes. Los pacientes monosensibilizados iniciaban los síntomas de polinosis más tarde, tenían una proporción menor de antecedentes familiares de atopia y unos niveles de IgE total menores que los pacientes polisensibilizados. Y atribuyó la polinosis por polen de *Juniperus ashei* en pacientes no atópicos a la presencia de determinantes carbohidratados en dicho polen²⁰³.

Un estudio posterior, confirmó que los pacientes alérgicos monosensibles a *Juniperus ashei* podían no tener otros signos de atopia²⁰⁴.

En cuanto a las características de la polinosis de *Cupressaceae* en Japón: la mayoría de los pacientes alérgicos a *Cyptomeria japonica* (70%) se sensibilizan también al ciprés japonés *Chamaecyparis obtusa*, lo que provoca que los síntomas alérgicos continúen en la estación polínica de *Chamaecyparis obtusa* (abril) cuando ya ha finalizado la polinización de *Cryptomeria japonica* (marzo)¹³³.

5. ALÉRGENOS DEL POLEN DE *CUPRESSACEAE*

Se han descrito numerosos componentes en los diferentes pólenes de especies de *Cupressaceae* con capacidad para unir IgE^{186,188,205}, pero solo unos cuantos alérgenos han sido descritos a nivel molecular y expresados de forma recombinante.

Los alérgenos de pólenes de *Cupressaceae* se han clasificado en cuatro familias principales, en relación con su actividad biológica²⁰⁶:

- el grupo 1 perteneciente a la familia de las **pectatoliasas** (Cup a 1, Cup s 1, Jun a 1, Jun v 1, Cry j 1, Cha o 1),
- el grupo 2, a la familia de las **poligalacturonasas** (Cup a 2, Jun a 2, Cry j 2, Cha o 2),
- el grupo 3, a la familia de las **taumatinas** (Cup a 3, Cup s 3, Jun a 3, Cry j 3),
- el grupo 4, correspondiente a la familia de las **proteínas de unión al calcio** (Cup a 4, Jun o 2, Jun v 4, Cry j 4).

A continuación, se describen los alérgenos de la familia *Cupressaceae* descritos hasta la actualidad (Tabla 4).

Para *Cupressus arizonica* se han identificado: **Cup a 1** (43 kDa), considerado el alérgeno principal^{186,207-211}; **Cup a 2** (41,4 kDa),²¹² **Cup a 3** (23 kDa), que solo se expresa en el polen sometido a contaminación y no en el polen de áreas no contaminadas^{122,123} y **Cup a 4** (18 kDa)²¹³.

Se ha descrito una proteína de **35 kDa** como alérgeno principal de *Cupressus arizonica* en pacientes alérgicos a este polen en Teheran¹⁵⁰ y a un alérgeno de **15 kDa** en un grupo de pacientes con síntomas respiratorios por *Cupressus arizonica* y alergia a melocotón realizado en España, que podría corresponder a una LTP, aunque no se ha confirmado posteriormente²¹⁴.

Tabla 4. Alérgenos de la familia *Cupressaceae*.

Especies	Familias de alérgenos				Otros alérgenos
	Pectatoliasas	Poligalacturonasas	Taumatinas	Proteínas unión calcio	
<i>Cupressus arizonica</i>	Cup a 1	Cup a 2	Cup a 3	Cup a 4	35 kDa 15 KDa (LTP)
<i>Cupressus sempervirens</i>	Cup s 1	Cup s 2	Cup s 3		14 kDa B galactosidasas Cup s 8 (Profilina)
<i>Juniperus ashei</i>	Jun a 1	Jun a 2	Jun a 3		
<i>Juniperus virginiana</i>	Jun v 1		Jun v 4		Jun v 3
<i>Juniperus oxycedrus</i>	Jun o 1			Jun o 4	
<i>Cryptomeria japonica</i>	Cry j 1	Cry j 2	Cry j 3		CPJ-4 CPJ-6 CPJ-8 CPA9 CPA63
<i>Chamaecyparis obtusa</i>	Cha o 1	Cha o 2			

Para *Cupressus sempervirens* se han descrito: **Cup s 1** (43-45 kDa) considerada el alérgeno principal^{215,216} y **Cup s 3** (34 kDa)²¹⁷. Recientemente se ha descrito una proteína de 43 kDa (**Cup s 2** putativa), y una proteína de **14 kDa** que parece ser específica de *Cupressaceae*. Esta proteína de 14 kDa, se expresa en mayor cantidad en el polen de *Cupressus sempervirens* que en el polen de *Cryptomeria japonica* o en el polen de *Cupressus arizonica*, contiene epítomos conformacionales resistentes al calor y no contiene determinantes carbohidratados, por lo que no tiene reactividad cruzada con pólenes de otras especies²¹⁸. En base al reconocimiento de la IgE de pacientes alérgicos a las diferentes proteínas del polen de *Cupressus sempervirens* se han descrito dos patrones de sensibilización: el primero representa a los pacientes con IgE específica frente

alérgenos con pesos moleculares altos entre 35 y 94 kDa, y el segundo, a los pacientes con IgE específicas frente el alérgeno de 14 kDa, con reactividad débil o nula con los alérgenos de peso molecular alto¹⁸⁸.

En la caracterización de los alérgenos de *Cupressus sempervirens*, se ha demostrado el papel potencial como alérgenos de proteínas pertenecientes a las familias de las β -galactosidasas²¹⁹ y de las profilinas (**Cup s 8**)²²⁰.

Para *Juniperus ashei* se han descrito: **Jun a 1** (42 kDa) considerada el alérgeno principal^{221,222}; **Jun a 2** (43 kDa)²²³ y **Jun a 3** (30 KDa) considerada el segundo alérgeno principal de *Juniperus ashei* y que se expresa de forma variable en el polen según su exposición a la contaminación ambiental¹⁹⁹.

Para *Juniperus virginiana* se han descrito: **Jun v 1** (43 kDa); **Jun v 3** (10 kDa) y **Jun v 4** (145 kDa)²²⁴.

Para *Juniperus oxycedrus* se han identificado: **Jun o 1** (43 kDa) y **Jun o 4** (antes Jun o 2) de 17 kDa²²⁵.

Para *Cryptomerya japonica* se han descrito: **Cry j 1** (40.6 kDa) considerada el alérgeno principal²²⁶⁻²²⁸; **Cry j 2** (37 kDa) también alérgeno principal^{229,230} y **Cry j 3** (27 kDa), cuyas isoformas Cry j 3.4, 3.5, 3.6 y 3.8 tienen una homología significativa con las proteínas similares a la taumatina²³¹⁻²³³.

Se han descrito también: **CJP-4 (Cry j Chitinase)**, alérgeno principal perteneciente a la familia de las quitinasas clase IV, de 34 kDa, responsable de la potencial reactividad cruzada con plantas con quitinasas clase I, como el látex²³⁴; **CPJ-6** (30 kDa) alérgeno principal de la familia de las isoflavonas reductasa, con homología del 61% con el polen de abedul (Bet v 5) y del 60% con la pera (Pyr c 5)²³⁵ y **CJP-8** (17 kDa), un alérgeno menor con 8 cisteínas que estructuralmente sugiere pertenecer a la familia de las LTP con capacidad para actuar como un alérgeno con reactividad cruzada²³⁶. Presenta una homología del 11% con Par j 1 de *Parietaria judaica* y del 15% con el melocotón (*Prunus persica*)²³⁷.

Además, se han descrito nuevas regiones de genes en el polen maduro de *Cyptomerya japonica* (CjMP-1), que transcriben proteínas de 11 kDa y 17 kDa²³⁸, y genes presentes

durante el desarrollo de los órganos reproductores masculinos (estróbilos), que transcriben péptidos entre los cuáles hay alérgenos no identificados²³⁹.

Recientemente se ha descrito a **CPA9** como una subtilisin-like serin proteasa no registrada en las bases de alérgenos con homología del 40% con el melón (Cuc m 1) y por lo tanto capacidad para inducir síndrome de alergia oral, y a **CPA63** una proteína aspártica de 42 kDa presente en el polen maduro de *Cryptomeria japonica*²³⁷.

Para *Chamaecyparis obtusa* (ciprés japonés), se han descrito: **Ch a o 1** (48.5 a 52 kDa) alérgeno principal²⁴⁰ y **Ch a o 2** (46 kDa) segundo alérgeno principal de *Chamaecyparis obtusa*²⁴¹.

Los marcadores diagnósticos de sensibilidad genuina a polen de *Cupressaceae-Taxodiaceae* serían los alérgenos mayores de *Cryptomeria japonica*, **Cry j 1** (una pectatoliasa) y **Cry j 2** (una poligalacturonasa). Sin embargo, existen pocos estudios que confirmen esta hipótesis⁹¹.

5.1 Reactividad cruzada del polen de Cupressaceae

De las seis familias que componen el orden Coniferales, tres familias han demostrado elevada reactividad cruzada: *Cupressaceae*, *Taxodiaceae* y *Podocarpaceae*.

En este sentido, los primeros estudios fueron realizados por Black en 1929, que demostró reactividad cruzada (Rc) mediante pruebas cutáneas entre *Juniperus ashei* y *Chamaecyparis lawsoniana*¹⁵⁹ y por Kahn en 1931, que demostró Rc entre *Juniperus ashei* y *Juniperus virginiana*¹⁶⁰.

Posteriormente, se ha demostrado una amplia Rc entre familias de coníferas geográficamente muy distantes. Mediante pruebas cutáneas y estudios de inhibición, se demostró Rc entre: *Cryptomeria japonica*, *Juniperus ashei* y *Chamaecyparis obtusa*²²⁶; *Cupressus sempervirens* y *Cryptomeria japonica*¹⁸⁰; *Cupressus sempervirens* y *Callitris glaucophylla*²⁴²; *Cupressus sempervirens*, *Podocarpus gracilior* y *Callitris verrucosa*²⁴³; *Cupressus sempervirens* y *Cupressus arizonica*²⁴⁴ y *Cryptomeria japonica* y *Chamaecyparis obtusa*²⁴⁵.

Se ha demostrado mediante estudios de inhibición reactividad cruzada entre los pólenes de *Callitris glaucophylla*, *Cupressus sempervirens*, *Lolium perenne* o *Betula pendula* y con otros pólenes de especies no relacionadas taxonómicamente como *Dactylis glomerata*, *Cynodon dactylon*, *Chenopodium album*, *Parietaria judaica*, *Olea europea*, *Plantago lanceolata* y *Ambrosia elatior*²⁴⁶.

También mediante estudios de inhibición se ha demostrado que extractos de pólenes de *Juniperus oxycedrus*, *Juniperus ashei*, *Cupressus arizonica*, *Cupressus sempervirens*, *Parietaria judaica*, *Olea europea* y *Lolium perenne* son capaces de inhibir la polcalcina de *Juniperus oxycedrus* **Jun o 4**, a diferentes concentraciones²²⁵. De forma similar, se ha demostrado que extractos de pólenes de *Lolium perenne*, *Artemisia vulgaris*, *Betula verrucosa*, *Pinus silvestris* y *Cupressus sempervirens* inhiben la unión IgE de los pacientes alérgicos a polen de olivo (*Olea europea*)²⁴⁷. Estos ensayos sugieren que estos pólenes pueden compartir epítomos y que pacientes alérgicos a polen de gramíneas (*Lolium perenne*), de malezas (*Parietaria judaica*) o de olivo (*Olea europea*) puedan presentar Rc con pólenes de árboles de la familia *Cupressaceae*.

Sin embargo, no parece existir Rc entre la familia *Cupressaceae* y *Taxus baccata* (perteneciente al orden Taxales), ni con otras coníferas como la familia *Pinaceae* (*Pinus*, *Abies*, *Cedrus*, *Ariz* y *Picea*)^{132,248}.

En cuanto a los alérgenos de *Cupressaceae-Taxodiaceae*, se ha demostrado que el alérgeno principal de *Cupressus arizonica*, **Cup a 1**, presenta una gran homología de secuencia de aminoácidos con el alérgeno principal de *Juniperus ashei* **Jun a 1** (91%), con el alérgeno principal de *Chamaecyparis obtusa* **Cha o 1** (81%) y con el alérgeno principal de *Cryptomeria japonica* **Cry j 1** (75%), lo que explicaría la elevada Rc entre los pólenes de coníferas. El hecho de que esta Rc se pierda con la deglicosilación de las proteínas sugiere que la Rc puede estar mediada por los carbohidratos presentes en el lugar de la unión de la IgE de estos alérgenos²⁰⁷.

El alérgeno **Cup a 3** de *Cupressus arizonica*, es una taumatina con una homología de secuencia del 95% con el alérgeno de *Juniperus ashei*, **Jun a 3**, y del 94% con el alérgeno de *Juniperus virginiana*, **Jun v 3**¹²².

Por otra parte, el alérgeno principal de *Juniperus ashei*, **Jun a 1**, presenta elevada homología de secuencia y Rc con los alérgenos principales de *Cryptomeria japonica*, **Cry j 1**²²¹ y de *Juniperus virginiana*, **Jun v 1**²²⁴.

El alérgeno **Jun a 2** de *Juniperus ashei* presenta una homología de secuencia del 70.7% con el alérgeno de *Cryptomeria japonica* **Cry j 2**, y del 82% con el alérgeno **Cha o 2** de *Chamaecyparis obtusa*. Los alérgenos **Jun a 2**, **Cha o 2** y **Cry j 2**, comparten 19 de los 20 residuos de cisteína que forman parte del dominio activo de poligalacturonasa, lo que sugiere que los tres alérgenos comparten una estructura conformacional similar que justifica su Rc²²³.

Las poligalacturonasas, como **Cry j 2**, también se han identificado en el polen de gramíneas (alérgenos del grupo 13), aunque no parece que haya reactividad cruzada entre las poligalacturonasas de gramíneas, malezas y árboles²⁴⁹.

Sin embargo, el alérgeno de *Juniperus ashei* **Jun a 3**, cuya expresión está modulada por las condiciones ambientales de contaminación, no presenta homología de secuencia con **Cry j 1** ni con **Cry j 2**. La secuencia de aminoácidos de la proteína madura de **Jun v 3** se diferencia en solo un aminoácido de la secuencia de **Jun a 3**, sin embargo, no existe Rc entre estos dos alérgenos debido a la presencia de un codón de stop en el nucleótido 274 de **Jun v 3**, que resultaría en una proteína con menos aminoácidos y carente de la región C-terminal, responsable de la unión con la IgE en **Jun a 3**²²⁴.

A nivel de secuencia de aminoácidos, **Cha o 1** (*Chamaecyparis obtusa*) comparte homología a nivel del dominio de pectatoliasa en un 79-80% con **Cry j 1** (*Cryptomeria japonica*), en un 46-49% con **Amb a 1** (*Ambrosia artemisiifolia*) y en un 49% con **Amb a 2**. Asimismo, las galacturonasas de *Chamaecyparis obtusa*, **Cha o 2**, y de *Cryptomeria japonica*, **Cry j 2**, muestran una homología de secuencia del 74.3%²⁴¹. También se ha demostrado similaridad de secuencia de **Cha o 1** con regiones limitadas de pectatoliasas de bacterias patógenas de plantas como *Erwinia chrysanthemi* y *Erwinia carotovora*²⁴⁰.

Se ha demostrado la presencia de epítomos de células T específicos en **Cha o 1** y **Cha o 2** (*Chamaecyparis obtusa*) y que **Cry j 1** (*Cryptomeria japonica*) y **Cha o 1** (*Chamaecyparis obtusa*) comparten sus epítomos de célula T y presentan Rc^{250,251}.

Recientemente se ha descrito a una proteína de 10.8 kDa (Ole e 10) como un alérgeno principal en el polen de olivo que comparte identidad del 53% con la 1,3-beta gluconasa de olivo (Ole e 9) y presenta reactividad cruzada a nivel de IgE específica. Ole e 10 comparte epítomos IgE en células B con proteínas de la familia *Oleaceae*, *Gramineae*, *Betulaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cupressaceae*, polen de Ambrosía (*Asteraceae*), polen de Parietaria (maleza), látex y alimentos vegetales como el tomate, el kiwi, la patata y el melocotón, y es considerando como un panalérgeno²⁵².

Entre las causas de la elevada reactividad cruzada entre las familias de *Cupressaceae* y especies no relacionadas taxonómicamente, se encuentran:

1- La composición del polen de *Cupressaceae* con elevadas cantidades de carbohidratos. La presencia en el polen de *Cupressaceae* de N-glicanos similares a los presentes en la bromelina de la piña y la fosfolipasa de *Apis mellifera*, como la β 1-2xilosa, la α 1-3fucosa²⁵³ y la α 1-6fucosa, explicarían la Rc con especies no relacionadas taxonómicamente. De hecho, nOle1 está considerado como un alérgeno de la familia de las proteínas portadoras de CCD (CCD-bearing proteins) a la que también pertenecen Pla a 2, Cyn d 1, Phl p 4, Cup a 1, Cry j 1)^{208,254,255}.

2- La elevada homología de los alérgenos del grupo 1 de *Cupressaceae* (Jun a 1, Jun v 1, Cup s 1, Cha o 1, Cry j 1). Esta homología se debería a la conservación de la secuencia de aminoácidos correspondiente a la actividad pectatoliasa de estos alérgenos^{89,207}, y a que comparten epítomos²⁵⁶.

3- La estructura terciaria similar de los alérgenos del grupo 1 de *Cupressaceae*²⁵⁷. Se ha demostrado que **Jun a 1** tiene una estructura conformacional en helice β en paralelo con cuatro epítomos lineares, que es casi idéntica a la encontrada en pectinas/pectatoliasas de microorganismos patógenos de plantas²⁵⁷.

4- Entre los alérgenos de *Cupressaceae* hay panalérgenos como son las profilinas y las proteínas de unión al calcio (polcalcinas). En concreto, las polcalcinas se han identificado en diferentes pólenes de especies no relacionadas (gramíneas, árboles, malezas)²⁵⁸. Se ha demostrado que las polcalcinas de pólenes de gramíneas (Phl p 7, Cyn d 7)⁹⁰, polen de betuláceas (Aln g 4, Bet v 3) y de ciprés (Jun o 4) comparten epítomos y que **Cup a 4**

muestra homología con otras polcalcinas como Ole e 3, Ole e 8 (polen de Olivo) y Phl p 7 (polen de gramíneas)²¹³.

5.2. Reactividad cruzada del polen de Cupressaceae con alimentos

Varios alérgenos de *Cupressaceae* presentan homología con alérgenos de alimentos.

El síndrome polen-alimentos se refiere al cuadro clínico que presentan los pacientes alérgicos a pólenes que secundariamente a la ingesta de una fruta o vegetal presentan síndrome de alergia oral (prurito, escozor, edema de labios, paladar o faringe, con ocasional prurito de oídos y opresión de faringe)²⁵⁹ y es debido a la presencia de panalérgenos con elevada Rc presentes tanto en la fuente polínica como en el alimento vegetal.

La taumatina de *Cupressus arizonica* **Cup a 3**, presenta identidad de secuencia con taumatinas presentes en frutas como la cereza (homología del 45% con **Pru a 2**) y la manzana (homología del 48% con **Mal d 2**)¹²². Por otro lado, la taumatina de la cereza, **Pru a 2**, tiene una homología de secuencia del 39% con la taumatina del trigo, y del 50% con **Jun a 3**⁶⁵.

Los alérgenos **Cup a 2**, **Cry j 2** y **Cha o 2**, que son poligalacturonasas, presentan elevada homología con las poligalacturonasas del tomate, el aguacate y el maíz²³⁰.

Estudios de inhibición han sugerido Rc entre el polen de *Juniperus ashei* y el melocotón, mediada por una proteína de 45 kDa²⁶⁰, entre el polen de *Cupressus arizonica* y el melocotón, mediada por una proteína de 15 kDa²¹⁴ y entre el polen de *Cryptomeria japonica* y el tomate (*Lycopersicon esculentum*)²⁶¹.

Se ha descrito que el 4% de los pacientes sensibilizados a polen de ciprés sintomáticos durante la estación polínica presentan síndrome de alergia oral con melocotón¹⁷⁵, pero no se ha demostrado mediante estudios de inhibición una correlación entre la proteína de 45 kDa descrita por Hugues y el melocotón, y está por demostrar la correlación entre la proteína de 15 kDa descrita por Sánchez y el melocotón²⁶². Sin embargo, recientemente sí que se ha descrito una correlación significativa entre la sensibilización a proteínas de

bajo peso molecular características de la sensibilización a *Cupressus semperviens* (14 kDa basic protein) y la sensibilización a Pru p 3 en población francesa y no en población italiana con alergia a polen de ciprés²⁶³.

Recientemente se ha descrito la asociación de rinitis alérgica por polen de ciprés y alergia a cítricos²⁶⁴.

6. ÀREA DEL ESTUDIO

El Vallés Occidental es la denominación histórica del territorio situado, de oeste a este, entre el Río Llobregat y el macizo del Montseny, y de norte a sur entre las cordilleras Prelitoral y Litoral. La comarca se encuentra en la parte central de la Región Metropolitana de Barcelona y limita con el Vallés Oriental, al nordeste; el Barcelonés, al sudeste; el Baix Llobregat al sudoeste y el Bages al noroeste.

En cuanto a su orografía, la altura media de la llanura sobre el nivel del mar es de 200 metros, y la altura de las cordilleras circundantes oscila entre 500 y 600 metros. Las montañas más altas son el Montseny y Sant Llorenç de Munt¹³⁷.

La superficie comarcal es de 583,2 km², lo que representa un 1.8% de la superficie total de Cataluña (<http://www.ccvoc.cat/>).

Es una comarca esencialmente urbana, con más de 800.000 habitantes, repartidos en 23 municipios (Badía del Valles, Barberá del Vallés, Castellar del Vallés, Castellbisbal, Cerdanyola del Vallés, Gallifa, Matadepera, Montcada i Reixac, Palau-solità y Plegamans, Polinyá, Rellinars, Ripollet, Rubí, Sabadell, Sant Cugat del Vallés, Sant Llorenç Savall, Sant Quirze del Vallés, Santa Perpetua de Mogoda, Sentmenat, Terrassa, Ullastrell, Vacarisses y Viladecavalls).

En el Vallés Occidental hay dos subtipos de clima mediterráneo, el litoral (zona que pertenece a la cordillera prelitoral) y el subhúmedo (zona de la llanura). En las zonas más montañosas de la comarca, las precipitaciones medias rondan los 700 mm anuales, mientras que en la llanura no llega a 500 mm y predominan los vientos de componente oeste.

El Vallés Occidental pertenece a la Región Forestal V. Su superficie forestal es de 184.090 hectáreas, de las que 133.085 corresponden a bosques. Según el Inventari Ecològic i Forestal de Catalunya, en esta región predomina el bosque mediterráneo. En tres cuartas partes de este territorio los bosques son, en orden decreciente de importancia, de pino blanco (*Pinus halepensis*), de encina (*Quercus ilex*) y de pino piñonero (*Pinus*

pinea). Destaca también, la presencia de un porcentaje de bosques mixtos del 10% (<http://www.creaf.uab.cat/iefc/pub/regions/SinopsiRF5.htm>).



Figura 10. Mapa del Vallès Occidental (<http://www.gencat.cat.con>).

JUSTIFICACIÓN

La rinoconjuntivitis alérgica por polen de ciprés representa una causa emergente de morbilidad en adultos jóvenes del área Mediterránea pero la mayoría de estudios sobre prevalencia de la sensibilización a pólenes se han realizado en base a cuestionarios o positividad en las pruebas cutáneas, con o sin la determinación concomitante de la IgE específica, y este hecho puede no reflejar la prevalencia real de la alergia a pólenes.

En el diagnóstico de la alergia a pólenes es muy importante la correlación entre la sintomatología presentada por el paciente (historia clínica) y la positividad en las pruebas cutáneas para establecer una relación causa-efecto.

Sin embargo, este diagnóstico se ve complicado por varios factores: (1) la poca fiabilidad, o la falta de precisión, en la descripción de la sintomatología, su intensidad y su estacionalidad, por parte del paciente; (2) el aumento en el número de pacientes polisensibilizados; (3) la coincidencia en el tiempo de polinización de diferentes especies alergénicas y el avance en el inicio de la polinización de algunos árboles, lo que favorece la superposición de períodos polínicos; (4) el no disponer de extractos estandarizados potentes alergénicamente para todos los pólenes; (5) la sensibilidad y especificidad de las pruebas *in vivo* (pruebas cutáneas) e *in vitro* (IgE específica) y (6) que tanto las pruebas *in vivo* como *in vitro* detectan sensibilización pero no confirman la enfermedad de alergia ni su importancia clínica, en un paciente dado.

En concreto, en la población estudiada no se conocen la sensibilidad ni la especificidad de las determinaciones de IgE específica ni de los extractos comerciales de polen de *Cupressaceae*.

Las pruebas de exposición específica al alérgeno, como la provocación nasal específica, pueden ayudarnos a realizar con más precisión el diagnóstico etiológico de la polinosis. La provocación nasal específica con alérgeno es capaz de diferenciar a los pacientes con sensibilización a un alérgeno clínicamente relevante (alergia), de los pacientes con pruebas cutáneas positivas a un alérgeno sin síntomas secundarios a su exposición (sensibilización clínicamente silente). Sin embargo, no existe suficiente experiencia en la

realización de pruebas nasales específicas con pólenes mediante rinometría acústica, y actualmente no se realizan de forma rutinaria en las Unidades de Alergia.

Por otro lado, el avance de la biología molecular nos permite la determinación de sensibilización a moléculas alergénicas y nos ayuda a discriminar entre una sensibilización genuina y una sensibilización por reactividad cruzada, lo que permite mejorar la indicación de inmunoterapia específica. El perfil de sensibilización a alérgenos varía según las distribuciones geográficas de forma que no se puede extrapolar de estudios en otras zonas geográficas y debe ser estudiado en cada población.

OBJETIVOS

- 1- Determinar la incidencia anual de la sensibilización a polen de *Cupressaceae* (Cupresáceas), en la población del Vallés Occidental con sintomatología compatible con alergia respiratoria.
- 2- Describir las características clínicas y el perfil alergénico molecular de los pacientes con sensibilización a polen de Cupresáceas en el área del Vallés Occidental.
- 3- Estudio comparativo de la detección de la sensibilización en prueba cutánea de los diferentes extractos de polen de *Cupressaceae* utilizados: *Cupressus sempervirens*, *Cupressus arizonica* y *Juniperus ashei*.
- 4- Determinar la sensibilidad y la especificidad de las determinaciones de IgE específicas a los diferentes extractos de polen de Cupresáceas probados, y de los alérgenos Cup a 1 y Cry j 1.
- 5- Determinar la capacidad predictiva de la presencia de sintomatología debida a polen de Cupresáceas mediante la provocación nasal específica con polen de *Juniperus ashei*.

MÉTODOS

7. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio prospectivo, de corte transversal, de los pacientes del Vallés Occidental con sospecha de sintomatología respiratoria sugestiva de alergia, derivados en primera visita a la Unidad de Alergia del Hospital de Terrasa (Consorti Sanitari de Terrasa).

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital de Terrasa con fecha del 30 de junio de 2009.

8. SELECCIÓN DE PACIENTES

El reclutamiento de los pacientes para el estudio se inició el 1 de febrero de 2010, y finalizó el 31 de enero de 2011. En este período se programaron para primera visita en la Unidad de Alergia del Hospital de Terrasa 1920 visitas procedentes del área de influencia del Hospital de Terrasa (Tabla 5).

Tabla 5. Centros y población de referencia del CST (datos de 2010 de la Memoria Anual del Hospital de Terrasa):

Centros	Población de referencia
ABS Sant Llátzer	40.748
ABS Est	26.617
ABS Terrasa Nord (incluye Matadepera)	43.256
ABS Anton de Borja (incluye Castellbisbal)	42.239
ABS Sant Genís	15.095
Población asignada para la Atención Especializada	
Sant Quirze del Vallés	16.630
Can Rull (barrio de Sabadell)	22.028
Población total: 206.613	

Los criterios de inclusión consistían en: (1) ser mayor de 6 años; (2) consultar por síntomas respiratorios sugestivos de alergia: rinitis (estornudos, rinorrea, obstrucción nasal, rinorrea postfaríngea), conjuntivitis (lagrimeo, hiperemia conjuntival, prurito ocular), asma (sibilantes, ahogo) y/o tos espasmódica y (3) presentar una prueba cutánea positiva a uno o más de uno de los pólenes de *Cupressaceae* probados (*Juniperus ashei*, *Cupressus sempervirens*, *Cupressus arizónica*).

El grupo control estaba contituido por los pacientes con sintomatología sugestiva de alergia respiratoria y pruebas cutáneas positivas a neumoalérgenos pero negatividad al polen de Cupresáceas.

A los pacientes de la muestra se les realizó una Historia Clínica donde se recogieron datos sobre (1) la **edad** en el momento de la inclusión en el estudio, (2) el **género**, (3) la **historia familiar de atopia**, (4) la **edad de inicio** de la sintomatología alérgica, (5) los **síntomas**, su **intensidad** y **tiempo de evolución**, (6) el número de **años residentes** en el

área del Vallés Occidental, (7) el lugar de la **vivienda** (rural o urbana) y (8) las alergias **alimentarias** concomitantes.

Se consideraron niños a los pacientes de 7 a 15 años y adultos a los mayores de 16 años.

La intensidad o gravedad de la sintomatología se valoró según los criterios ARIA para la rinitis alérgica²⁶⁵ (Tabla 6) y según los criterios GEMA para el asma²⁶⁶ (Tabla 7).

Tabla 6: Criterios ARIA para la clasificación de la gravedad de la rinitis alérgica.

<p>Síntomas intermitentes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • < 4 días a la semana • o < 4 semanas consecutivas 	<p>Síntomas persistentes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • > 4 días a la semana • y > 4 semanas consecutivas
<p>Leves:</p> <ul style="list-style-type: none"> • sueño normal • actividades diarias, deporte y ocio normales • trabajo y actividad escolar normales • síntomas presentes pero no molestos 	<p>Moderados-graves:</p> <ul style="list-style-type: none"> • alteración del sueño • interferencia en actividades diarias deportivas o de ocio • interferencia en la actividad escolar o el trabajo • síntomas molestos

Todos los pacientes dieron su consentimiento por escrito (anexo 1) para participar en el estudio.

Tabla 7: Clasificación de la gravedad del asma en adultos y niños según la Guía GEMA 2009.

Gravedad del asma en el adulto:

	Intermitente	Persistente Leve	Persistente Moderada	Persistente grave
Síntomas diurnos	No	Más de 2 días/semana	Síntomas a diario	Síntomas continuos
Medicación de alivio	No	Más de 2 días/semana pero no a diario	Todos los días	Varias veces/día
Síntomas nocturnos	No más de dos veces/mes	Más de 2 veces/mes	Más de una vez/semana	Frecuentes
Limitación de la actividad	Ninguna	Algo	Bastante	Mucha
Función pulmonar FEV1 o PEF % teórico	>80%	> 80%	> 60%- < 80%	< o igual 60%
Exacerbaciones	Ninguna	Una o ninguna/año	Dos o más /año	Dos o más/año

Gravedad del asma en el niño:

	Episódica Ocasional	Episódica Frecuente	Persistente Moderada	Persistente grave
Episodios	De pocas horas o días de duración < 1 cada 10-12/semanas Máximo 4-5 crisis/año	< 1 cada 5-6 semanas Máximo 6-8 crisis/año	< 1 cada 4-5 semanas	Frecuentes
Síntomas intercrisis	Asintomático, buena tolerancia a ejercicio	Asintomático	Leves	Frecuentes
Sibilancias	-	Con esfuerzos intensos	Con esfuerzos moderados	Con esfuerzos mínimos
Síntomas nocturnos	-	-	< 2 noches/semana	< 2 noches/semana
Medicació de alivio	-	-	< 3 días/semana	< 3 días/semana
Función pulmonar FEV1	>20%	<80%	>70%- < 80%	>30%
Variabilidad PEF	>80%	<20%	>20% -< 30%	<70%

FEV1: volumen espiratorio forzado en el primer segundo. PEF: flujo espiratorio máximo.

9. PRUEBAS CUTÁNEAS

Para realizar las pruebas cutáneas, los pacientes debían suspender la toma de antihistamínicos los 4 días anteriores a su realización.

Se realizaron las pruebas cutáneas con la batería estándar de alérgenos que habitualmente se aplica a los pacientes afectados de patología respiratoria sugestiva de alergia. Esta batería incluía los neumoaérgenos habituales en el área de estudio más los extractos de *Cupressaceae* seleccionados para el estudio, *Juniperus ashei*, *Cupressus sempervirens* y *Cupressus arizonica* (Tabla 8).

Tabla 8. Batería de alérgenos para pruebas cutáneas.

Extracto de alérgeno	Laboratorio que lo comercializa
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	LETI,SL.
<i>Dermatophagoides farinae</i>	LETI,SL.
<i>Blatella germanica</i>	LETI,SL.
<i>Alternaria alternata</i>	ALK-Abelló,SA.
<i>Cladosporium herbarum</i>	ALK-Abelló, SA.
Epitelio de gato	STALLERGENES,SA
Epitelio de perro	STALLERGENES,SA
Polen de <i>Juniperus ashei</i>	STALLERGENES,SA
Polen de <i>Cupressus sempervirens</i>	IPI-STALLERGENES,SA
Polen de <i>Cupressus arizonica</i>	IPI-STALLERGENES,SA
Polen de <i>Platanus acerifolia</i>	LETI,SL.
Polen de <i>Pinus ssp.</i>	BIAL-Arístegui,SA
Polen de <i>Olea europea</i>	BIAL-Arístegui,SA
Polen de <i>Lolium perenne</i>	BIAL-Arístegui,SA
Polen de <i>Phragmites communis</i>	BIAL-Arístegui,SA
Polen de <i>Cynodon dactylon</i>	BIAL-Arístegui,SA
Polen de <i>Artemisia vulgaris</i>	BIAL-Arístegui,SA
Polen de <i>Chenopodium álbum</i>	BIAL-Arístegui,SA
Polen de <i>Plantago lanceolata</i>	BIAL-Arístegui,SA
Polen de <i>Parietaria judaica</i>	BIAL-Arístegui,SA

Las pruebas cutáneas se realizaron mediante la técnica de prick, siguiendo las recomendaciones de la Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica^{40,267}. Como control positivo se utilizó histamina (BIAL-Arístegui, SA, Portugal) a una concentración de 10 mg/ml, y como control negativo, suero salino con glicerol (BIAL-Arístegui, SA, Portugal). Las pruebas cutáneas se realizaron en la cara volar del antebrazo, utilizando

lancetas de punta de 1 mm estériles (ALKLancet, ALK-Abelló, Dinamarca). Se utilizó una lanceta para cada extracto de alérgeno. Las pruebas se midieron según el diámetro mayor (D) y perpendicular (d) de la pápula resultante, transcurridos 15 minutos. Se consideraron positivas las pápulas cuyo diámetro $(D+d/2)$ fuese igual o superior a 3 mm.

10. EXTRACTOS DE POLEN DE *CUPRESSACEAE*

En este estudio se utilizaron tres extractos de polen de *Cupressaceae*:

1- *Juniperus ashei* 100 IR/ml.: referencia nº 716 Stallergenes S.A. Estandarizado
Concentración de alérgeno principal 100 µgr/ml de Jun a 1.

2- *Cupressus sempervirens* 100 IR/ml.: referencia nº 626. IPI-Stallergenes.
Estandarizado. No cuantificado el alérgeno principal Cup s 1.

3- *Cupressus arizonica* 100 IR/ml.: referencia nº 056 IPI-Stallergenes S.A.
Estandarizado. No cuantificado el alérgeno principal Cup a 1.

El IR (índice de reactividad) es la unidad para medir la alergenicidad de un extracto alérgico. El extracto alérgico tiene 100 IR/ml cuando la prueba cutánea realizada con un Stallerpoint® induce un diámetro de pápula de 7 mm en 30 pacientes sensibilizados a ese alérgeno (medida geométrica). La reactividad cutánea de estos pacientes se demuestra simultáneamente mediante una prueba cutánea positiva a 10 mg/ml de histamina o fosfato de codeína al 9%. La unidad de IR de Stallergenes no es comparable a las unidades usadas por otros fabricantes de alérgenos.

11. CUANTIFICACIÓN DE IgE TOTAL E IgE ESPECÍFICA

11.1 Determinación de IgE total e IgE específica a los pólenes de *Cupressaceae*

A todos los pacientes incluidos se les realizó una extracción sanguínea de 10 ml mediante Vacutainer SST® (BD, SA) para la determinación en suero de la IgE total y la IgE específica a *Cupressus arizonica*, *Cupressus sempervirens* y *Juniperus ashei*. En un subgrupo de pacientes, se extrajo además un segundo tubo que se dejaba a temperatura ambiente para coagular la sangre, durante por lo menos una hora. Posteriormente se centrifugaba a 2500 rpm durante 10 minutos (Centrifugador Megafuge 2.0). El suero sobrenadante se distribuía en 1 tubo (Microtube 2 ml PP, Sarstedt, Nümbrecht), debidamente etiquetado y almacenado a menos 75- 80°C hasta su utilización para los estudios de perfiles moleculares.

Las determinaciones de IgE total e IgE específica a *Cupressus arizonica*, *Cupressus sempervirens* y *Juniperus ashei* se realizaron en el laboratorio del Consorci Sanitari de Terrassa (CATLab), de forma automática, mediante un analizador UniCAP 250® (Phadia, Uppsala, Suecia) según especificaciones del fabricante. Se consideraron positivas las IgE específicas séricas con un valor superior a 0.10 kU/L.

11.2 Determinación de la IgE específica a un panel de alérgenos purificados por microarray

La determinación de la IgE específica sérica a un panel de de 112 alérgenos individuales se realizó mediante un ensayo semicuantitativo. Se utilizó el ensayo ImmunoCAP ISAC® sIgE 112 (Thermofisher, Uppsala, Suecia).

El procedimiento consistió en inmovilizar los componentes alérgicos individuales en un sustrato sólido en formato de micromatriz (chip). Se procedió a un prelavado del chip y cuando estuvo seco se colocó en una cámara húmeda. Se le añadió 30 µl de suero de paciente y se incubó durante 120 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente a la incubación se procedió a un lavado del chip (washing solution: Tween 20 al 0.05% en tampón fosfato salino con pH 7.4) para eliminar la IgE no específica. Se incorporó

entonces anticuerpo antihumano IgE marcado con fluorescencia y se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente y protegido de la luz. Tras la incubación, los anticuerpos antihumanos IgE marcados con fluorescencia que no se habían unido se eliminaron mediante lavado (washing solution). Se realizó medición de la fluorescencia mediante un escáner de micromatriz (Scan Array Gx Microarray Scanner, Pekin Elmer, Waltham, Massachusetts, EUA). Los resultados de la prueba se analizaron con el software Phadia Microarray Image Analysis (MIA) que realizó una curva patrón mediante la calibración del suero analizado. Con esta curva, las intensidades fluorescentes se transformaron en unidades estandarizadas ISAC para IgE específica (ISU-E).

Se considera positivos los valores de ISU-E superiores a 0.3 ISU-E.

El listado de los componentes alergénicos inmovilizados en el chip ImmunoCAP ISAC® sIgE 112 se muestra en el Anexo 2.

Este procedimiento se realizó en el laboratorio de la Unidad de Investigación de Alergología del Institut de Recerca Vall d'Hebron.

12. DEFINICIÓN DE ALERGIA A POLEN DE *CUPRESSACEAE*

Se consideró que los pacientes con síntomas por polen de *Cupressaceae* eran aquellos que presentaron clínica compatible con alergia respiratoria los meses de enero, febrero o marzo de 2011 (pico polínico).

Los pacientes con pruebas cutáneas positivas a polen de *Cupressaceae* y con sintomatología respiratoria alérgica entre los meses de enero y marzo de 2011 se consideraron **alérgicos al polen de *Cupressaceae*** (patrón oro). Los pacientes con pruebas cutáneas positivas a polen de *Cupressaceae* pero sin sintomatología respiratoria durante el pico polínico de *Cupressaceae*, se consideraron como **sensibilizados silentes o asintomáticos**.

A partir de los datos obtenidos se calculó la incidencia de la sensibilización a polen de *Cupressaceae*: los casos nuevos de pacientes con prueba cutánea positiva a lo largo de un año natural.

13. PROVOCACIÓN NASAL ESPECÍFICA CON POLEN DE *Juniperus ashei*

Se realizó una prueba de provocación nasal con extracto comercial de *Juniperus ashei* (Stallergenes, SA, París, Francia) a un subgrupo de pacientes alérgicos a polen de *Cupressaceae* y a un subgrupo de pacientes con sensibilización silente que aceptaron y firmaron la hoja de consentimiento informado (Anexo 3).

Se utilizó como pacientes controles a pacientes alérgicos a los ácaros del polvo, monosensibilizados, que aceptaron y firmaron la hoja de consentimiento informado (Anexo 3).

Las pruebas de provocación nasal específica con extracto de polen de *Juniperus ashei* se evaluaron mediante un rinómetro acústico (Rhinometrics SRE2000), siguiendo las recomendaciones del Comité de Rinoconjuntivitis de la Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica⁷⁹ (Figura 11).

Tras informar a los pacientes del estudio y explicarles la metodología de la prueba se les indicó evitar antihistamínicos desde los 4 días antes de la prueba, corticoides nasales 48-72 h antes y fumar y beber alcohol las 24 h previas a la prueba.

En ningún caso los pacientes presentaban asma bronquial inestable, perforación septal, obstrucción nasal total o muy intensa que desaconsejaran la realización de la prueba.

La habitación donde se realizaba la prueba se mantuvo a una temperatura media de 22°C, una humedad relativa del 60% y un ruido exterior inferior a los 60 decibelios. El paciente se aclimataba a dicha habitación durante 20 minutos en reposo antes de la realización de la prueba.

El extracto utilizado para la provocación nasal fue suministrado en forma de extracto liofilizado de polen de *Juniperus ashei* por los laboratorios Stallergenes, SA. El extracto en frascos era reconstituido con 3 ml de diluyente fisiológico no fenolado (extracto madre) para obtener un producto de 100 IR/ml con una cuantificación de alérgeno Jun a 1 de 100 µgr/ml. Una vez reconstituido, la caducidad era de 6 meses, conservado en

nevera entre 2 y 8 °C. Las diluciones se realizaban el mismo día de la prueba para asegurar la reproducibilidad y se desechaban cada semana. Todas las provocaciones nasales fueron realizadas con el mismo lote de frascos de liofilizado de polen de *Juniperus ashei*.

Las pruebas de provocación nasal se realizaron seguidamente de la realización de las pruebas cutáneas y las pruebas *in vitro* por lo que se realizaron de forma consecutiva a medida que los pacientes aceptaban realizarla a lo largo de todo el año.

Las concentraciones utilizadas en la PNE fueron: 0.01 IR, 0.1 IR , 1 IR, 10 IR y 100 IR. De igual manera en los pacientes controles.

En cada paciente se realizó un primera valoración clínica, una rinoscopia anterior de las fosas nasales, una espirometría forzada y una rinometria basal con diluyente (suero fisiológico con fenol al 0.4%). Si existía una reducción del volumen nasal mayor o igual al 10% después de la administración del diluyente se suspendía la prueba por hiperreactividad nasal inespecífica (pacientes con prueba de provocación nasal positiva a suero fisiológico). Partiendo de la provocación con diluyente como el estado basal, se procedía a la repetición de la prueba tras la aplicación del extracto alergénico a concentraciones crecientes a intervalos de 15 minutos.

El extracto de *Juniperus ashei* se administraba mediante una nebulización con spray nasal de 80 microlitros por nebulización en cada una de las narinas.

La respuesta nasal fue monitorizada mediante: (1) puntuación clínica con una escala visual analógica (EVA) y (2) mediante rinometría acústica (Figura 11). La EVA mide de forma subjetiva características que no pueden ser medidas directamente o de forma objetiva como la intensidad de la rinorrea, los estornudos, la obstrucción nasal o el prurito nasal. Es útil en estudios que miden síntomas de baja intensidad (floor effect) o alta intensidad (ceiling effect)²⁶⁸. La escala utilizada en este estudio consiste en una línea por síntoma a evaluar numerado de 0 a 10 cm (intensidad leve de 1 a 3 cm, moderada de 4 a 7 cm y grave de 8 a 10 cm)²⁶⁹.

La rinometría acústica se realizó con un rinómetro acústico (Rhinometrics SRE2000). Durante la realización del registro, el paciente debía estar tranquilo, con la boca

entreabierta y en apnea respiratoria en el momento de la medición. El examinador se colocaba delante del paciente aplicando el adaptador nasal a la narina. El ángulo entre adaptador y narina debía ser constante alrededor de 45°. Se realizaban varios registros (curvas) primero en la narina derecha y luego en la narina izquierda. Los valores que se obtienen son el resultado del promedio de las curvas de cada lado.

La prueba se daba por finalizada cuando se alcanzaba la dosis máxima o cuando se producía una respuesta positiva: reducción del volumen nasal entre 2 y 6 cm desde el orificio nasal igual o superior al 25% ($AT2 + AT3 \geq -25\%$)⁷⁹ y/o si la puntuación de la EVA aumentaba igual o más de 5 puntos (cm), comparada con la basal.

Al finalizar la prueba se realizaba de nuevo una rinoscopia anterior de las fosas nasales y una espirometría forzada final.

HOSPITAL DE TERRASSA

Unitat d'Al·lèrgia

Provocación nasal a _____

PACIENTE _____ H.C. _____

EDAD _____ PESO _____ TALLA _____ FECHA _____

	BASAL	S.F.	% BASAL	DOSIS 1	% DILUY	DOSIS 2	% DILUY	DOSIS 3	% DILUY	15'	% DILUY
Suma											
VOL											

	30'	% DILUY	45'	% DILUY	60'	% DILUY	75'	% DILUY	90'	% DILUY	Post-tratam.	% BASAL
Suma												
VOL												

	BASAL	FINAL	% BASAL
FEVC			
FEV ₁			
PEF			
FEFM			

	BASAL	FINAL
Rinoscopia Anterior		

ESCALA VISUAL ANALOGICA

RR 0 _____ 5 _____ 10

E 0 _____ 5 _____ 10

ON 0 _____ 5 _____ 10

PN 0 _____ 5 _____ 10

Figura 11. Prueba de Provocación Nasal Específica con la Escala Visual Analógica y la Espirometría.

14. CALENDARIO DE SÍNTOMAS

A todos los pacientes con sintomatología de alergia respiratoria y prueba cutánea positiva a polen de *Cupressaceae* (122 pacientes), se les entregó y entrenó para la cumplimentación de un calendario de sintomatología durante la época de polinización del polen de Cupresáceas, los meses de enero-febrero-marzo de 2011 (Figura 12).

El calendario (Figura 12) permitía seguir la evolución diaria de los síntomas (estornudos, picor de nariz, mucosidad, nariz tapada, picor de ojos, ojos rojos, tos, ahogo, asma) presentados por los pacientes durante un período determinado. Lo cumplimentaban por la noche y valoraban la intensidad de 0 a 3²⁷⁰:

0=sin síntomas

1=pocos síntomas

2=bastantes síntomas

3=muchos síntomas

Año _____ Mes _____ Nombre _____ Historia Clínica _____

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
ESTORNUDOS																															
PICOR DE NARIZ																															
MUCOSIDAD																															
NARIZ TAPADA																															
PICOR DE OJOS																															
OJOS ROJOS																															
TOS																															
AHOGO																															
ASMA																															

Figura 12: Calendario de síntomas.

Se consideró clínica alérgica como la presencia de síntomas 10 días o más, cada mes de polinización de *Cupressaceae*.

15. RECUENTOS POLÍNICOS DE *CUPRESSACEAE*

La Red Aerobiológica de Catalunya (Xarxa Aerobiològica de Catalunya, XAC) <http://lap.uab.cat/aerogologia/es> suministra recuentos polínicos desde 1983. En dichos recuentos, el polen de *Cupressaceae-Taxodiaceae*, por ser indistinguibles morfológicamente, se expresan como Cipreses (Xiprers). El período analizado en este estudio comprende los meses de enero a mayo, ambos incluidos, de 2011.

Según la Red Española de Aerobiología (REA), el polen de *Cupressaceae* pertenece a la categoría polínica Grupo 4. En esta categoría polínica se consideran recuentos de polen bajos entre 1 y 50 granos/m³; moderados entre 51 y 200 granos/m³ y altos los recuentos superiores a 200 granos/m³¹⁰⁷.

16. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La descriptiva de las variables se realizó mediante estadísticos resumen como número de observaciones, media, desviación típica, mediana, mínimo, máximo y percentiles 25 y 75 para las variables continuas y frecuencia y porcentaje para las variables categóricas. Se diseñaron además gráficos box-plot y de barras.

Se ajustó un modelo logístico multivariante para evaluar la posible influencia de variables sobre la positividad en prueba cutánea a polen de *Cupressaceae*. Se calcularon odds-ratios considerando interacción e intervalos de confianza para los mismos. La bondad del ajuste del modelo se comprobó mediante el área bajo la curva y el test de Hosmer – Lemeshow.

Para comparar los extractos entre sí se empleó la prueba de Kruskal-Wallis de comparación de puntuaciones de Wilcoxon. Las comparaciones dos a dos se realizaron calculando intervalos de confianza, ajustando un modelo lineal general de los rangos de los valores de la variable.

Para las comparaciones para IgE total entre sensibilizados a ciprés y controles se transformó la variable IgE total a logaritmos neperianos con el fin de conseguir centralidad y se compararon aplicando la prueba t de Student para datos independientes o apareados.

La relación entre sensibilizaciones a polen de *Cupressaceae* y a otros pólenes, la relación entre positividades a Cup a 1 y a otros pólenes y la relación entre positividades a Cry j 1 y a otros pólenes, se realizó calculando los intervalos de confianza para la diferencia mediante el método recomendado de Newcombe así como mediante la prueba de Chi cuadrado o de Fisher, dependiendo de los efectivos disponibles.

Para encontrar puntos de corte (*cut-off*) se ajustaron curvas ROC tomando como patrón oro la presencia de síntomas. La relación entre la presencia o no de síntomas (patrón oro) y el resultado de la prueba nasal específica se ha calculado mediante cocientes de verosimilitudes o probabilidades.

Todos los datos se han gestionado y analizado con SAS 9.4 y SAS Enterprise 6.1.

RESULTADOS

17. INCIDENCIA DE LA SENSIBILIZACIÓN A POLEN DE *CUPRESSACEAE*

En la figura 13 se muestra el diagrama de selección de los pacientes estudiados. En el período de inclusión de pacientes (un año natural) se visitaron 1278 pacientes mayores de 6 años en primera visita. El 53,7% (805) presentaron sintomatología respiratoria (244 niños, 561 adultos). El 80,9% (562) presentaron pruebas positivas a neumoalérgenos (192 niños, 460 adultos). El 15,1% (122) presentaron pruebas negativas a neumoalérgenos y el 3,8% (31) no se presentaron a realizar dichas pruebas.

De los 652 (80,9%) pacientes con pruebas cutáneas positivas a neumoalérgenos, 122 (18,7%) presentaron pruebas positivas por lo menos a uno de los pólenes de la familia *Cupressaceae* probados (25 niños, 97 adultos) (Figura 13).

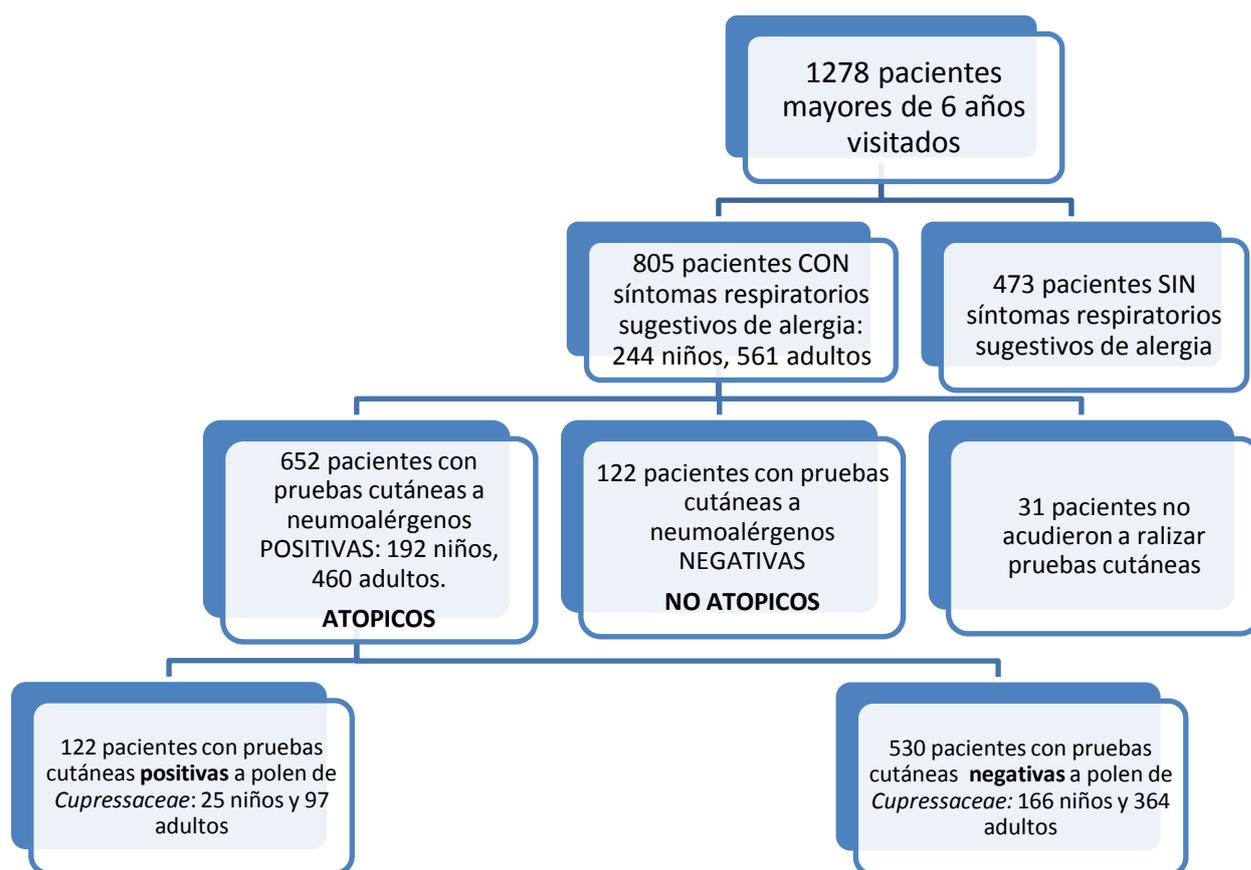


Figura 13: Pacientes visitados en el estudio. Relación de pruebas cutáneas positivas y negativas a neumoalérgenos entre los pacientes con síntomas respiratorios sugestivos de alergía.

Esto implica que la **incidencia** de sensibilización a polen de *Cupressaceae* en base a **prueba cutánea** entre los pacientes derivados a la Unidad de Alergia del Hospital de Terrassa por síntomas respiratorios es del **15,1%** (122/805): **10,2%** (25/244) en niños y **17,2%** (97/561) en adultos.

Desglosando cada uno de los pólenes de Cupresáceas analizado, la **incidencia** de sensibilización en base a **pruebas cutáneas** resultó ser en **niños** de un 9,8% (24/244) para *Juniperus ashei*, de un 1,6% (4/244) para *Cupressus sempervirens* y de un 9,8% (24/244) para *Cupressus arizonica*. Y en **adultos** resultó ser de un 15,8% (89/561) para *Juniperus ashei*, de un 11% (62/561) para *Cupressus sempervirens* y de un 16,3% (92/561) para *Cupressus arizonica*.

Respecto a la sensibilización determinada por IgE específica sérica, un 90,9% (111/122) de la muestra presentó IgE específica positiva por lo menos a uno de los pólenes de la familia *Cupressaceae* probados. Esto implica que la **incidencia** de sensibilización a polen de *Cupressaceae* en base a **IgE específica sérica** entre los pacientes derivados a la Unidad de Alergia del Hospital de Terrassa por síntomas respiratorios es del **13,7%** (111/805): **9,4%** (23/244) en niños y **15,5%** (87/561) en adultos.

La **incidencia** de sensibilización en base a IgE específica sérica resultó ser en **niños** de un 9,4% para *Juniperus ashei*, de un 6,5% para *Cupressus sempervirens* y de un 8,6% para *Cupressus arizonica*. Y en **adultos** resultó ser de un 15,5% para *Juniperus ashei*, de un 10,8% para *Cupressus sempervirens* y de un 13,9% para *Cupressus arizonica*.

Se pudo obtener una segunda alícuota para el análisis de IgE específica a componentes alérgicos mediante la plataforma ISAC®112 en 94 pacientes (77%) del total de 122 pacientes. Según los resultados obtenidos con este análisis, la **incidencia** de sensibilización a los marcadores genuinos de sensibilización a polen de *Cupressaceae* **Cup a 1** y **Cry j 1** fue del **10,6%** (7,3% en niños y 11,9% en adultos) y del **8%** (5,3% en niños y 9,2% en adultos) respectivamente.

18. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

18.1 Características demográficas

La media de edad de los pacientes con pruebas cutáneas positivas a polen de *Cupressaceae* fue de **31,1 años**: 11,2 (7-15) años en niños y 36,3 (16-67) años en adultos. En los pacientes del grupo control la media fue de **27,3 años**: 10,8 (7-15) años en niños y 34 (16-73) años en adultos.

En cuanto al **género**, de los 122 pacientes con pruebas cutáneas positivas a polen de *Cupressaceae*, 69 eran varones (18 niños y 51 adultos) y 53 eran mujeres (7 niñas y 46 adultas).

Se observó que no hay diferencia de género estadísticamente significativa entre la proporción de adultos con prueba cutánea positiva a polen de *Cupressaceae* ($p= 0.29$) pero sí en niños ($p = 0.04$), en los que había una proporción significativamente mayor de niños respecto a niñas (Figura 14).

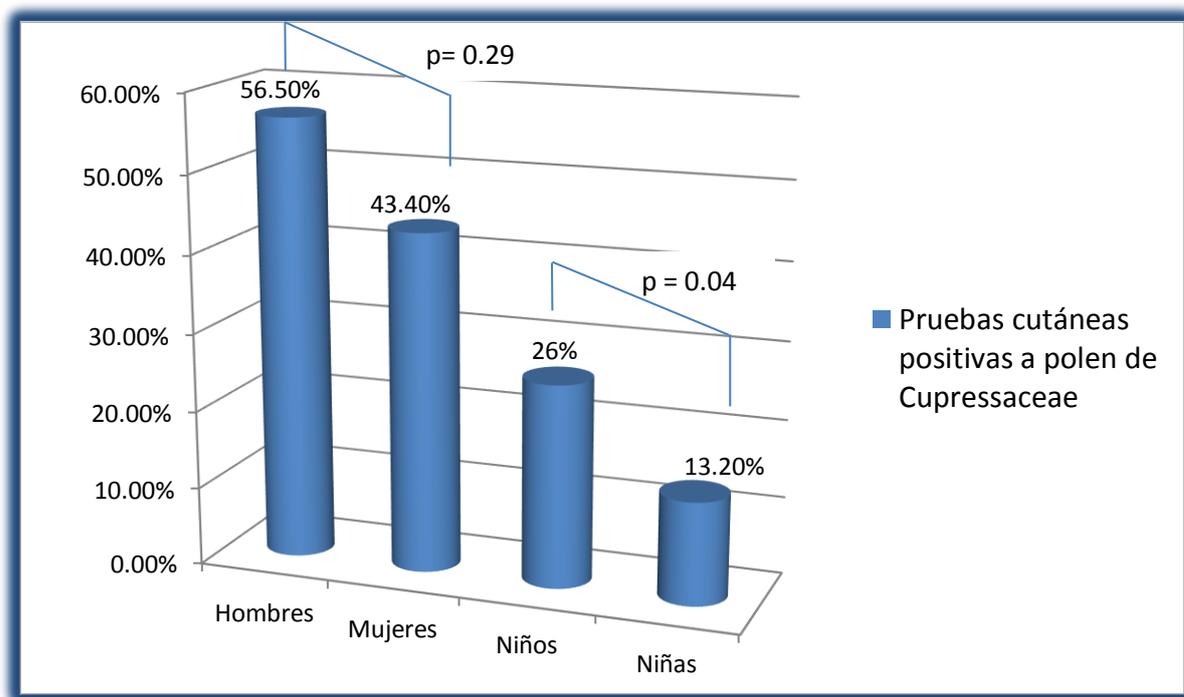


Figura 14: Distribución de pacientes según el género y la positividad de prueba cutánea a polen de *Cupressaceae*.

18.2 Antecedentes familiares de atopia

Presentaron **antecedentes familiares de atopia** el 44,2% (39 adultos, 15 niños) de los pacientes con pruebas cutáneas positivas a polen de *Cupressaceae* y el 45,2% (140 adultos, 100 niños) de los pacientes del grupo control.

Entre los pacientes adultos y niños con sensibilización a polen de *Cupressaceae* no hubo diferencias significativas respecto a la historia familiar de atopia ($p= 0.21$) (Figura 15).

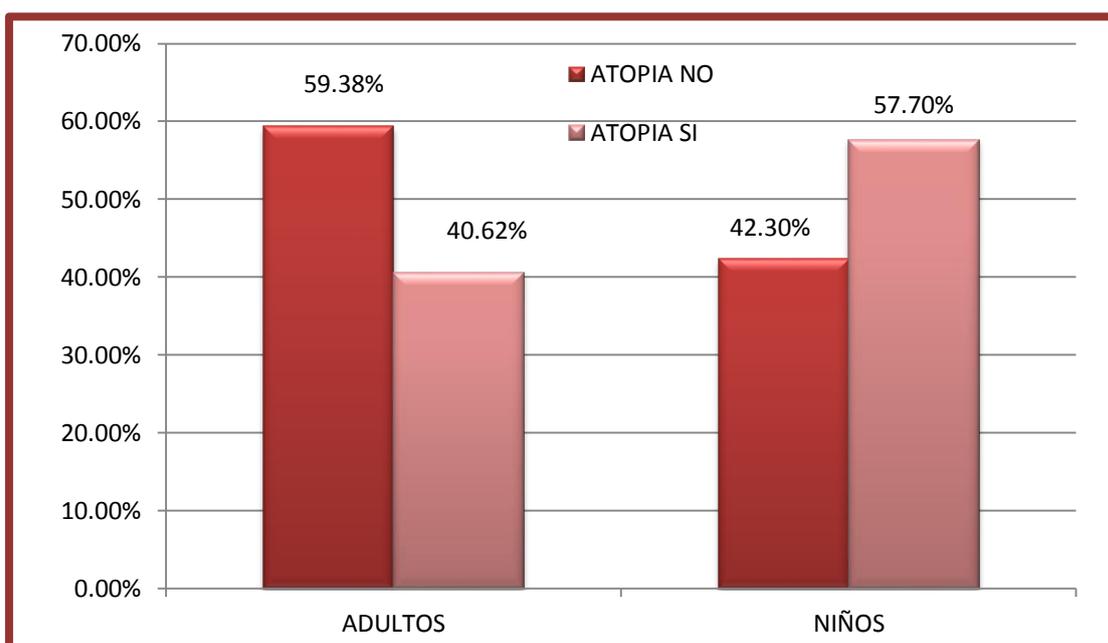


Figura 15: Distribución de pacientes según la edad y la historia familiar de atopia.

En cambio, en el análisis estadístico de los pacientes del grupo control sí se encontraron diferencias significativas. La presencia de historia familiar de atopia fue mayor en los niños respecto de los adultos de forma significativa ($p < 0.0001$) (Figura 16).

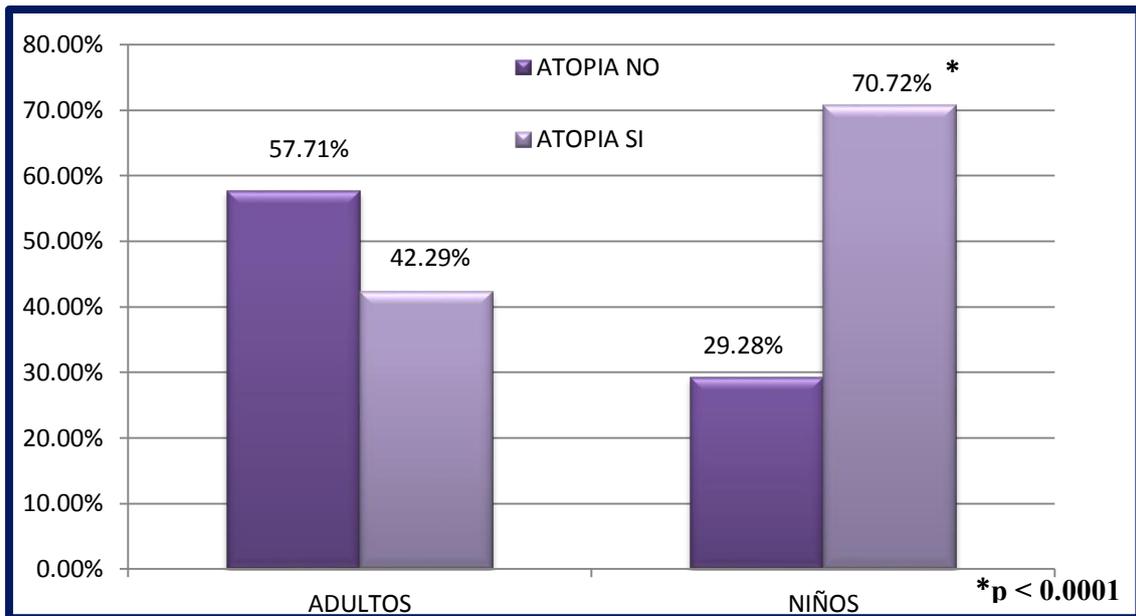


Figura 16: Distribución de pacientes según la edad y la historia familiar de atopia en los pacientes con pruebas cutáneas negativas a polen de *Cupressaceae*.

18.3. Edad de inicio de la sintomatología alérgica

La **edad de inicio** de la sintomatología alérgica de los pacientes en estudio fue de 22 años de mediana (rango 1 a 66 años). En el 10,6% no se pudo concretar la edad de inicio de los síntomas.

18.4 Sintomatología presentada en el momento de inclusión en el estudio

La sintomatología respiratoria referida por los pacientes en el momento de la inclusión en el estudio se detalla en la figura 17.

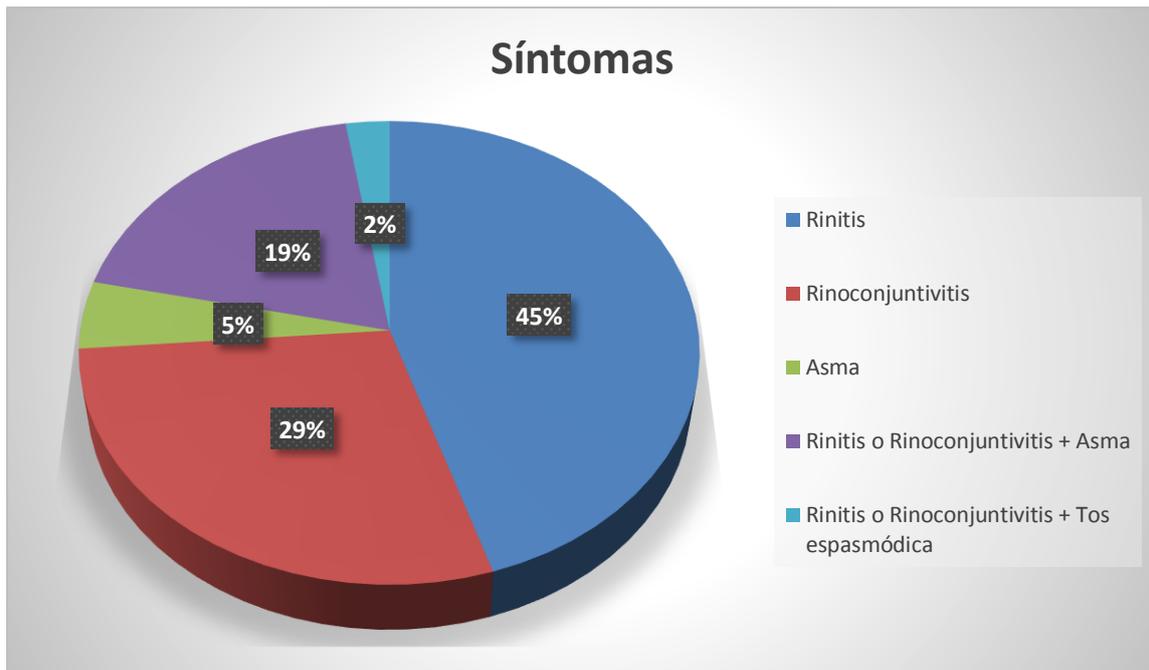


Figura 17: Síntomas referidos por los pacientes en el momento de la inclusión en el estudio.

En el momento de la inclusión en el estudio todos los pacientes referían sintomatología respiratoria sugestiva de alergia (rinitis, rinoconjuntivitis, asma y/o tos espasmódica) según las guías ARIA²⁶⁵ y GEMA²⁶⁶.

18.5 Tiempo de evolución de la sintomatología alérgica

Respecto al **tiempo de evolución**, 89 pacientes (72,9%) referían síntomas de alergia desde hacía menos de 10 años, 14 pacientes (11,4%) entre 11 y 20 años, 9 pacientes (7,37%) entre 21 y 30 años, 9 pacientes (7,37%) entre 31 y 40 años y 1 paciente (0,8%) padecía síntomas de alergia desde hacía más de 40 años.

En el análisis estadístico de los datos se observó que los adultos de la muestra referían un mayor número de años de evolución de los síntomas respiratorios alérgicos (7 años), respecto de los niños (2 años) (Tabla 9).

Tabla 9: Análisis estadístico del tiempo de evolución de alergia respiratoria según grupo de edad.

	TIEMPO DE EVOLUCIÓN (años)							
	N	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo	P25	P75
CLASE DE EDAD								
Adultos	97	11.12	11.83	7.00	1.00	55.00	2.00	16.00
Niños	25	3.36	2.34	2.00	1.00	8.00	2.00	5.00

No se encontraron diferencias significativas en el tiempo de evolución de síntomas alérgicos para el polen de *Cupressaceae* entre pacientes con síntomas y pacientes sensibilizados silentes, ni en adultos ($p= 0.781$) ni en niños ($p= 0.869$) (Tabla 10).

Tabla 10: Análisis estadístico del tiempo de evolución de alergia respiratoria entre pacientes con síntomas por polen de *Cupressaceae* y pacientes del grupo control.

	TIEMPO DE EVOLUCIÓN (años)							
	N	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo	P25	P75
CLASE DE EDAD								
Adultos con síntomas	21	12.14	12.68	8.00	1.00	39.00	2.00	18.00
Adultos asintomáticos	54	10.64	10.50	8.00	1.00	40.00	2.00	16.75
Niños con síntomas	5	3.20	2.16	2.00	2.00	7.00	2.00	5.00
Niños asintomáticos	20	3.40	2.43	2.50	1.00	8.00	1.00	5.00

18.6 Área de la vivienda

En España se considera área urbana aquella con más de 10.000 habitantes y área rural aquella con menos de 10.000 habitantes.

De los 122 pacientes con pruebas cutáneas positivas a polen de *Cupressaceae*, sólo 14 vivían en **área rural** (11,4%): 6 en Castellbisbal, 4 en Matadepera, 2 en Vacarisses, 1 en Castellar del Vallés y 1 en El Papiol. Los 108 restantes vivían en **área urbana** (88,5%): 70 en Terrassa, 19 en Rubí, 15 en Sant Quirze del Vallés, 1 en Esparraguera, 1 en Sant Cugat del Vallés, 1 en Sabadell y 1 en Cerdanyola.

18.7 Tiempo de residencia en el área de estudio

Respecto al **número de años residiendo en el área del Vallés Occidental**: se obtuvieron los datos de 94 de los 122 pacientes. Entre ellos, la mediana de años de residencia en el Vallés Occidental fue de 22,1 años (rango 1 a 63 años).

18.8 Sensibilización a alimentos

En los pacientes con pruebas cutáneas positivas a polen de *Cupressaceae* se encontró un porcentaje significativamente mayor de **pruebas cutáneas positivas a alimentos** respecto a los pacientes del grupo control (18% vs 7,5%) ($p= 0.0005$).

Entre los alérgenos de origen vegetal la sensibilización más frecuente en los pacientes del estudio fue al melocotón en el 7,3% (9/122), al melón en el 4% (5/122) y al kiwi en un 4% (5/122) de los casos.

18.9 Influencia de las variables demográficas sobre la positividad de las pruebas cutáneas a polen de *Cupressaceae*

Mediante regresión logística se analizó si la edad, la presencia o no de historia familiar de atopia, el género, la presencia o no de sensibilización a alimentos y el tiempo transcurrido hasta el inicio de la sintomatología alérgica, influían en la probabilidad de estar sensibilizado a polen de *Cupressaceae* por prueba cutánea o no (Tabla 11).

Tabla 11: Modelo de regresión logística de la influencia de las diferentes variables demográficas sobre la posibilidad de tener una prueba cutánea positiva a polen de *Cupressaceae*.

Parámetro		Estimado	Error estandar	Wald Chi²	Probabilidad de Chi² estadística
Edad	Adultos	0.8369	0.4190	3.9896	0.0458
Género	Hombre	0.3119	0.2227	1.9621	0.1613
Atopia		0.1908	0.2311	0.6820	0.4089
Alimentos		0.1525	0.2966	0.2645	0.6070
Tiempo		-0.2417	0.0759	10.1507	0.0014
Tiempo*Edad	Adultos	0.1568	0.0769	4.1542	0.0415

El modelo de regresión mostró que solo las variables de Edad y Tiempo de inicio de los síntomas se asociaban significativamente a una mayor probabilidad de prueba cutánea positiva a polen de *Cupressaceae*. Así, a mayor edad y con mayor tiempo de evolución de patología respiratoria alérgica, mayor es la probabilidad de presentar pruebas cutáneas positivas a polen de ciprés. Por cada año de aumento en el tiempo la posibilidad de presentar síntomas de alergia respiratoria en adultos se multiplica por 0.9, y en niños se multiplica por 0.7 (Tabla 12).

Tabla 12: Cálculo del Odds-Ratio para la interacción entre Tiempo de evolución (años) y Edad (adultos, niños) sobre la probabilidad de presentar síntomas de alergia respiratoria.

Estimaciones Odds Ratio e Intervalos de confianza			
Etiqueta	Estimado	95% Límites de Confianza	
Edad Adultos vs Niños en Tiempo=5	5.056	2.767	9.239
Edad Adultos vs Niños en Tiempo=10	11.073	3.722	32.938
Edad Adultos vs Niños en Tiempo=15	24.246	4.110	143.030
Edad Adultos vs Niños en Tiempo=20	53.095	4.361	646.489
Edad Adultos vs Niños en Tiempo=21	62.105	4.404	875.858
Tiempo en Edad=Adultos	0.919	0.897	0.941
Tiempo en Edad=Niños	0.785	0.677	0.911

19. PRUEBAS CUTÁNEAS

19.1 Pruebas cutáneas a pólenes de *Cupressaceae*

Todos los pacientes incluidos en el estudio presentaron positividad a una o varias de las pruebas cutáneas con los extractos de polen de *Cupressaceae* probados: *Juniperus ashei*, *Cupressus sempervirens* y *Cupressus arizonica*.

El desglose del resultado de las pruebas cutáneas según el tipo de extracto mostró que: el 50,8% (62/122) de los pacientes estaban sensibilizados a los 3 extractos de pólenes de *Cupressaceae*, el 95% (116/122) a polen de *Cupressus arizonica*, el 92,6% (113/122) a polen de *Juniperus ashei* y el 53,2% (65/122) a polen de *Cupressus sempervirens* (Figura 18). El desglose de las pruebas cutáneas positivas a pólenes de *Cupreassaceae* según niños y adultos se muestra en la Tabla 13.

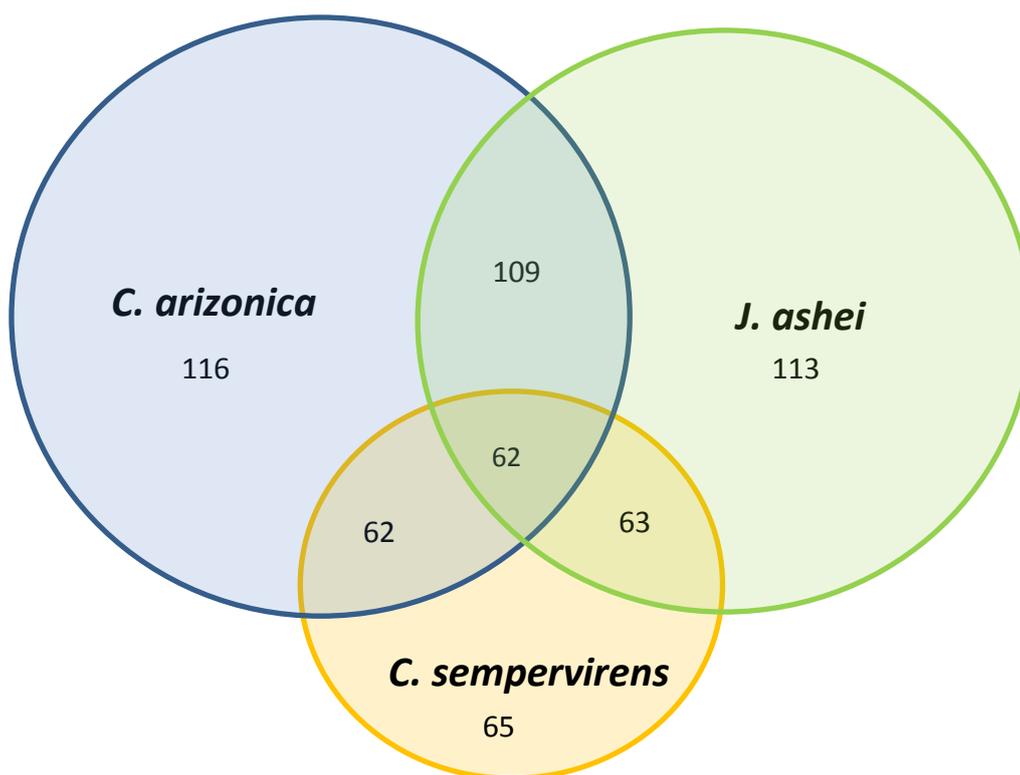


Figura 18: Positividad de las pruebas cutáneas a pólenes de *Cupressaceae*.

Tabla 13. Desglose de las pruebas cutáneas a los diferentes extractos de polen de *Cupressaceae* probados en niños y adultos.

	Niños		Adultos		Total positivos
	Positivos	Negativos	Positivos	Negativos	
<i>C. arizonica</i>	24	1	92	5	116
<i>J. ashei</i>	24	1	89	8	113
<i>C. sempervirens</i>	8	17	57	40	65

Destacan 2 pacientes adultos (1,63% de la muestra total, 2,06% de los adultos) con pruebas cutáneas positivas a extracto de polen de *Cupressus sempervirens* y negativas a polen de *Cupressus arizonica* y *Juniperus ashei*.

En cuanto al **tamaño de la púpula**, los valores de la media y la mediana de cada extracto de polen de *Cupressaceae* probado se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14: Tamaño de la púpula para los diferentes extractos de polen de *Cupressaceae*.

		TAMAÑO DE LAS PÁPULAS							
		N	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo	P25	P75
EDAD	EXTRACTO								
Todos	<i>J. ashei</i>	122	4.43	2.01	4.00	0.10	12.50	3.00	5.00
	<i>C. sempervirens</i>	122	2.00	1.92	3.00	0.10	9.50	0.10	3.50
	<i>C. arizonica</i>	122	5.34	2.24	5.00	0.10	10.00	4.00	7.00
Adultos	<i>J. ashei</i>	97	4.52	2.16	4.50	0.10	12.50	3.00	5.50
	<i>C. sempervirens</i>	97	2.21	1.96	3.00	0.10	9.50	0.10	3.50
	<i>C. arizonica</i>	97	5.54	2.30	5.00	0.10	10.00	4.00	7.00
Niños	<i>J. ashei</i>	25	4.08	1.23	4.00	0.10	6.50	3.50	5.00
	<i>C. sempervirens</i>	25	1.22	1.56	0.10	0.10	4.00	0.10	3.00
	<i>C. arizonica</i>	25	4.58	1.83	4.50	0.10	9.00	3.00	5.00

Analizando los resultados de las pápulas con el Test de Kruskal-Wallis, se observaron diferencias significativas entre los tres extractos tanto en adultos como en niños.

Se observó que en el **total de pacientes** y en **adultos** las pápulas con el extracto de *Cupressus arizonica* fueron mayores que con el extracto de *Juniperus ashei* ($p < 0.05$) y de *Cupressus sempervirens* ($p < 0.05$) y que las pápulas con el extracto de *Cupressus arizonica* y de *Juniperus ashei* fueron mayores que con el extracto de *Cupressus sempervirens* ($p < 0.05$).

En **niños**, sin embargo, no se vieron diferencias significativas entre el tamaño de pápulas con el extracto de *Cupressus arizonica* y el de *Juniperus ashei* ($p > 0.05$). El tamaño de pápulas con el extracto de *Juniperus ashei* fueron mayores que las de *Cupressus sempervirens* ($p < 0.05$) y el tamaño de pápulas con el extracto de *Cupressus arizonica* fueron mayores que el de *Cupressus sempervirens* de forma significativa ($p < 0.05$) (Figura 19).

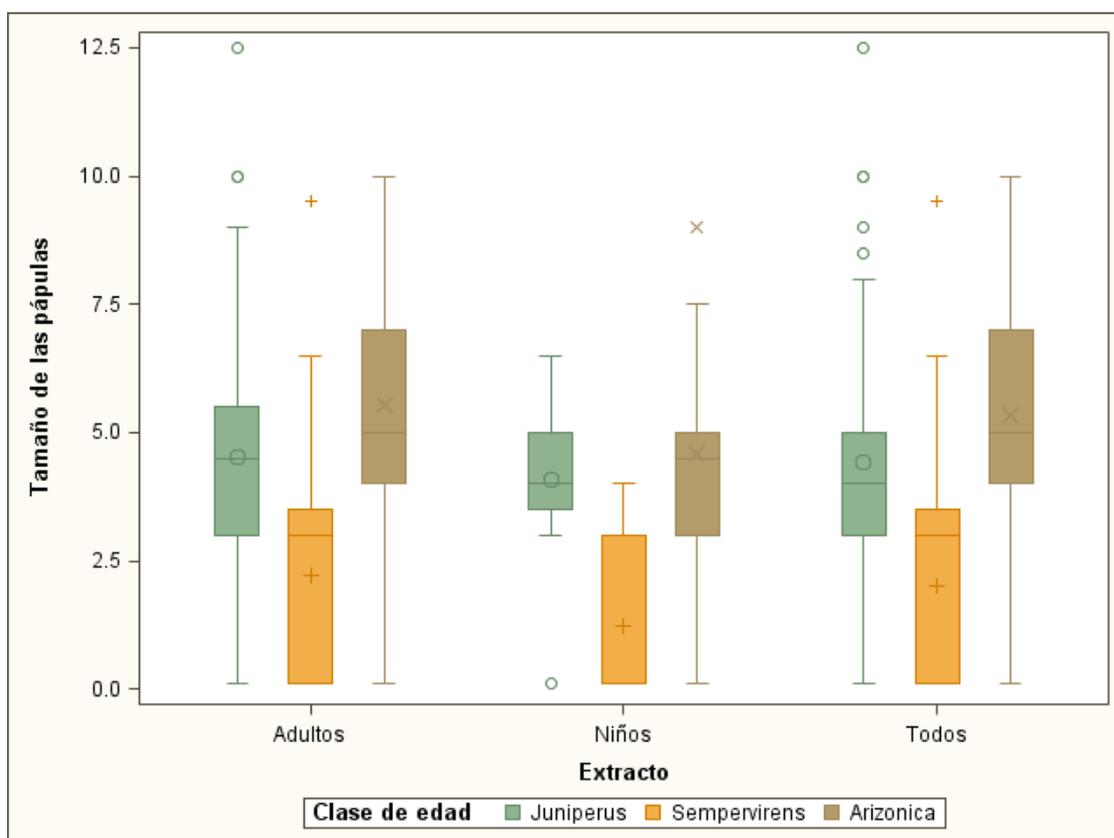


Figura 19: Comparativa del tamaño de las pápulas (en milímetros) inducidas por los extractos de polen de *C. arizonica*, *J. ashei* y *C. sempervirens*.

Cuando se realizó el mismo análisis estadístico considerando solamente las **pápulas mayores de 5 mm**, se observó que en el **total de pacientes** ($p < 0.01$) y en **adultos** ($p < 0.04$) las pápulas con el extracto de *Cupressus arizonica* eran mayores que con el extracto de *Juniperus ashei*. No hubieron diferencias significativas entre el extracto de *Juniperus ashei* o el de *Cupressus arizonica* comparando con el de *Cupressus sempervirens* ($p > 0.05$).

En **niños**, no se observaron diferencias significativas entre el tamaño de pápulas con el extracto de *Cupressus arizonica* y el de *Juniperus ashei* ($p = 0.09$). No se encontraron pápulas mayores de 5 mm con el extracto de *Cupressus sempervirens*.

19.2 Pacientes monosensibles

La monosensibilización a polen de *Cupressaceae* fue escasa entre los pacientes del estudio. Solo un 2,4% de los pacientes sensibilizados a polen de *Cupressaceae* eran **monosensibles**, dato significativamente menor que el 36,4% de monosensibilizados a otros alérgenos en el grupo control ($p < 0.0001$).

19.3 Pruebas cutáneas a otros alérgenos

El 97,5% (119/122) de los pacientes de la muestra estaban **polisensibilizados**. Entre estos, 18 (14,7%) pacientes estaban oligosensibilizados (presentaban pruebas cutáneas positivas solo a un neumoalérgeno además de a polen de *Cupressaceae*) (Figura 20).

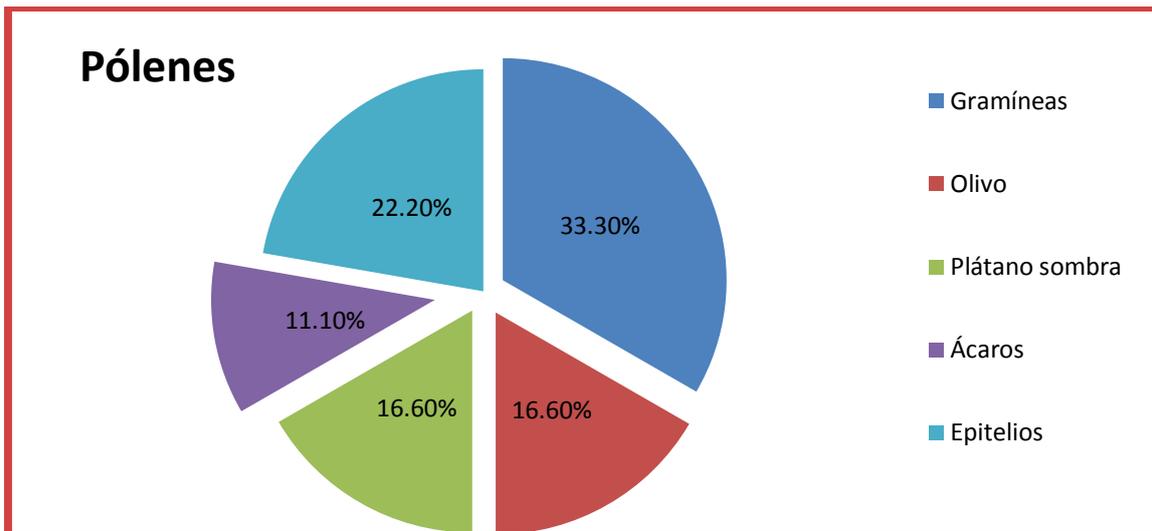


Figura 20: Pacientes oligosensibilizados.

Entre todos los pacientes con pruebas cutáneas positivas a polen de *Cupressaceae*, las sensibilizaciones concomitantes más frecuentes fueron a polen de gramíneas, seguidas del polen de olivo, epitelio de gato y ácaros del polvo (Figura 21).

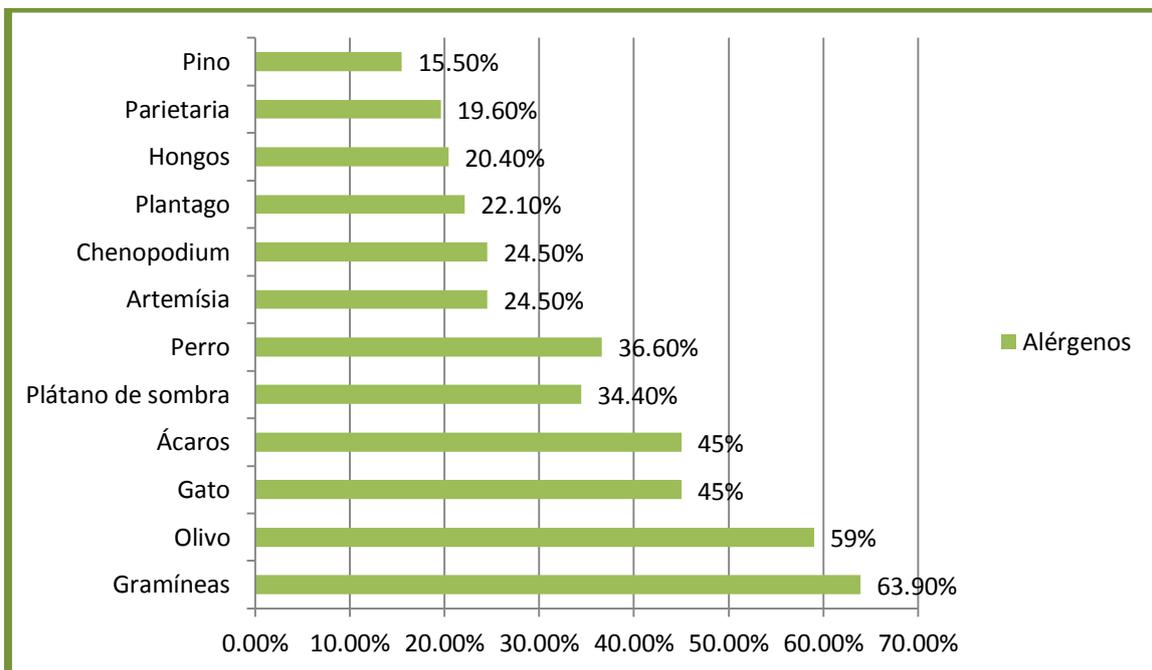


Figura 21: Distribución de las sensibilizaciones concomitantes en los pacientes con pruebas cutáneas positivas a polen de *Cupressaceae*.

La comparación entre las diferentes sensibilizaciones concomitantes en prueba cutánea entre adultos y niños con prueba cutánea positiva a polen de *Cupressaceae* se muestra en la Figura 22.

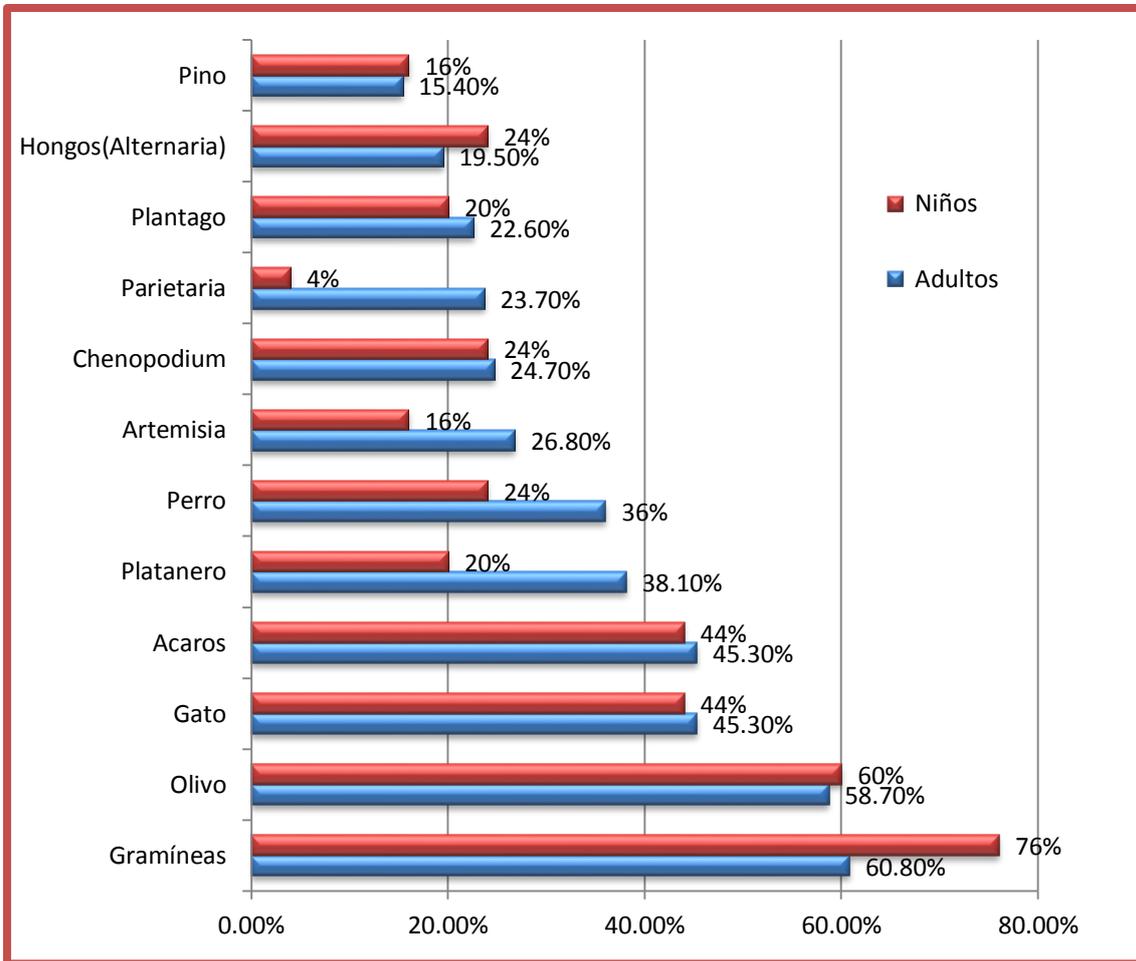


Figura 22: Comparativa entre los positivos en prueba cutánea a los diferentes alérgenos sensibilizados concomitantemente entre los adultos y niños con pruebas cutáneas positivas a polen de *Cupressaceae*.

A continuación se expone una gráfica con las sensibilizaciones a neumoaérgenos en el grupo control (Figura 23).

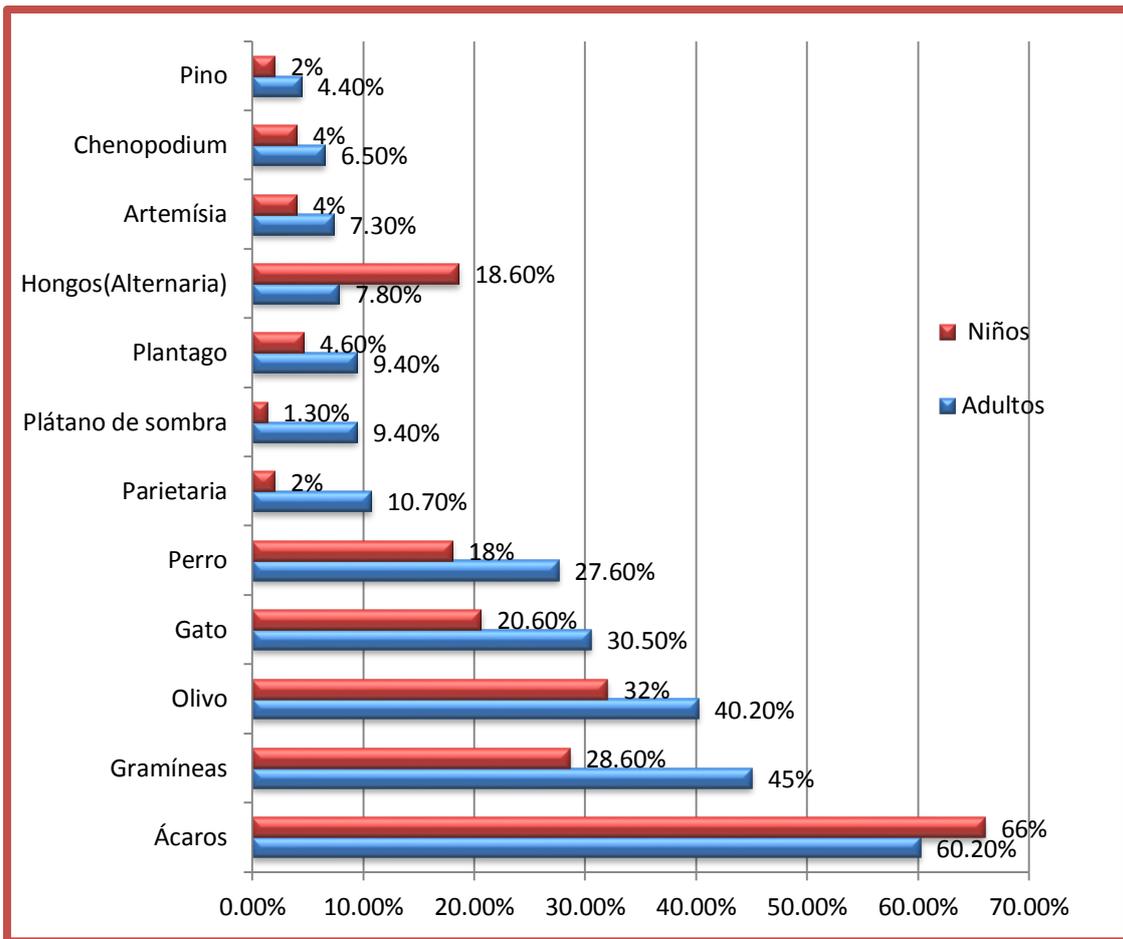


Figura 23: Comparativa entre los positivos en prueba cutánea a los diferentes alérgenos entre los adultos y niños del grupo control.

19.4 Asociación entre pruebas cutáneas positivas a pólenes

Para establecer si había un patrón de sensibilización a pólenes diferente entre los pacientes con y sin sensibilización a polen de *Cupressaceae* se realizó un análisis estadístico de comparación de porcentajes.

Tal y como demuestra la tabla 15, en los **niños** con prueba cutánea positiva a polen de *Cupressaceae* había mayor proporción de positividades a polen de gramíneas, plátano de sombra, Chenopodium, Artemisia y Plantago, que en los niños del grupo control de forma estadísticamente significativa.

Tabla 15: Asociación entre pruebas cutáneas a pólenes (niños).

Polen	Prueba	Diferencia	Intervalo de confianza	Valor P
Gramínea	Chi-2	-0.253	-0.380, -0.137	< 0.0001
Platanus	Fisher	-0.595	-0.803, -0.235	0.0007
Chenopodium	Fisher	-0.384	-0.633, -0.131	0.0024
Artemisia	Fisher	-0.273	-0.563, -0.034	0.0371
Plantago	Fisher	-0.294	-0.561, -0.063	0.0154
Parietaria	Fisher	-0.110	-0.561, 0.102	0.4613

De la misma manera, en la tabla 16 se observó que en los **adultos** había mayor proporción de positivos a polen de gramíneas, plátano de sombra, Chenopodium, Artemisia, Plantago y Parietaria en el grupo sensibilizado a polen de *Cupressaceae* respecto del grupo control.

Tabla 16: Asociación entre pruebas cutáneas a pólenes (adultos).

Polen	Prueba	Diferencia	Intervalo de confianza	Valor P
Gramínea	Chi-2	-0.102	-0.174, -0.029	0.0054
Platanus	Chi-2	-0.357	-0.473, -0.239	< 0.0001
Chenopodium	Chi-2	-0.318	-0.458, -0.179	< 0.0001
Artemisia	Chi-2	-0.313	-0.447, -0.179	< 0.0001
Plantago	Chi-2	-0.199	-0.332, -0.079	0.0004
Parietaria	Chi-2	-0.177	-0.306, -0.066	0.0009

20. DETERMINACIÓN DE IGE TOTAL

No se encontraron diferencias significativas en el valor de **IgE total** entre los pacientes sensibilizados a polen de *Cupressaceae* y el grupo control (Figura 24).

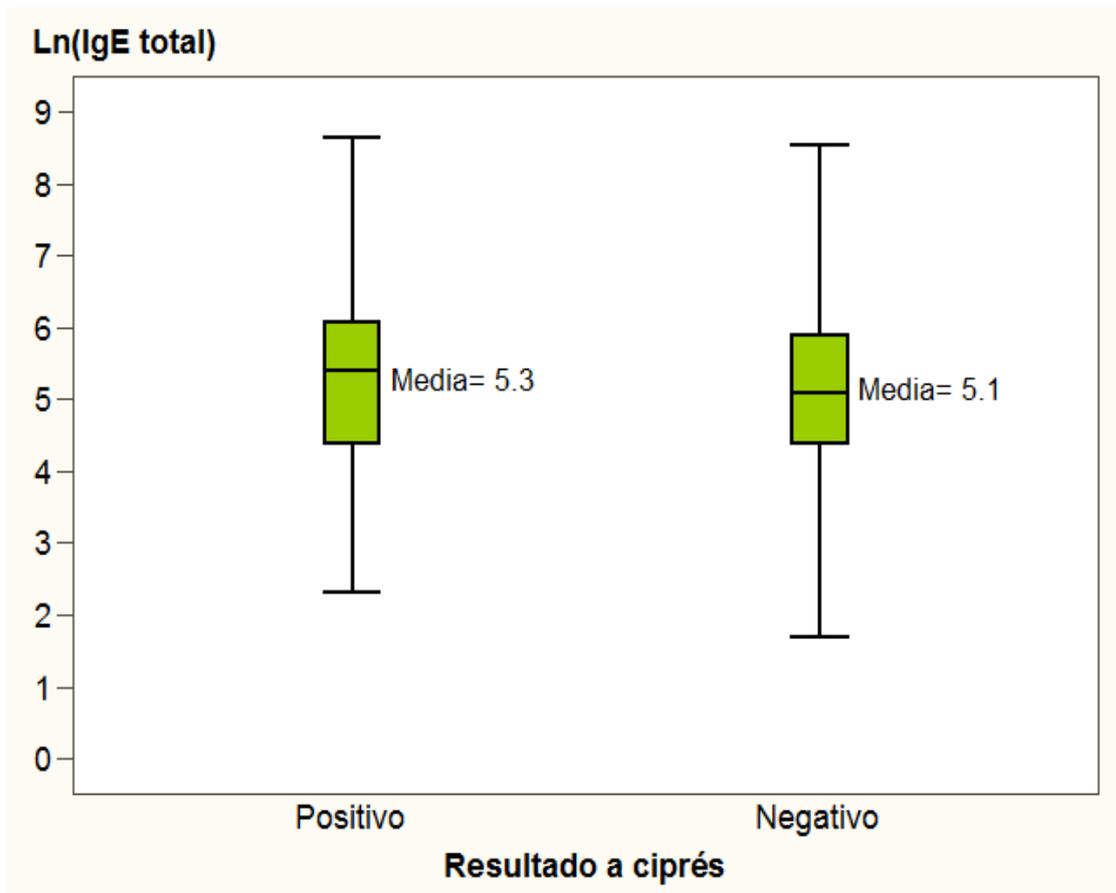


Figura 24: Resultado expresado en medias de IgE total en el total de pacientes.

21. DETERMINACIÓN DE IgE ESPECÍFICA A EXTRACTOS COMPLETOS DE POLEN DE *CUPRESSACEAE*

21.1. IgE específica a pólenes de *Cupressaceae*

Se obtuvieron resultados positivos de IgE específica sérica a *Juniperus ashei* en 119 pacientes, a *Cupressus arizonica* en 115 y a *Cupressus sempervirens* en 105 pacientes. Se consideraron positivas las IgE específicas séricas con un valor superior a 0.10 kU/ml.

Los resultados se muestran en la tabla 17.

Tabla 17. Resultado de los valores de las IgE específicas séricas para los diferentes extractos de polen de *Cupressaceae*.

		IgE ESPECÍFICA							
		N	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo	P25	P75
EDAD	EXTRACTO								
Todos	<i>J. ashei</i>	119	9.03	13.17	4.41	0.09	89.10	1.53	11.40
	<i>C. sempervirens</i>	105	1.97	3.11	0.75	0.01	19.10	0.33	2.31
	<i>C. arizonica</i>	115	5.05	7.19	2.47	0.09	44.80	0.83	5.43
Adultos	<i>J. ashei</i>	95	8.12	10.32	4.33	0.09	56.10	1.36	11.40
	<i>C. sempervirens</i>	84	1.70	2.12	0.81	0.01	10.60	0.33	2.33
	<i>C. arizonica</i>	91	5.08	7.29	2.52	0.09	44.80	0.78	6.03
Niños	<i>J. ashei</i>	24	12.65	20.92	4.65	0.18	89.10	2.00	11.37
	<i>C. sempervirens</i>	21	3.06	5.50	0.63	0.09	19.10	0.45	2.10
	<i>C. arizonica</i>	24	4.94	6.96	2.39	0.16	28.20	1.50	4.93

En el análisis estadístico realizado mediante Test de Kruskal-Wallis se evidenciaron diferencias significativas entre los niveles medios de IgE específica sérica a los tres extractos para **todos los pacientes** y para **adultos** ($p < 0.0001$). Se observó que la media de la IgE específica a *Juniperus ashei* era mayor que la media de la IgE específica a *Cupressus arizonica* y *Cupressus sempervirens*, y que la media de la IgE específica a

Cupressus sempervirens era menor que la media de la IgE específica a *Cupressus arizonica* (Tabla 18).

Tabla 18: Comparativa de las medias de IgE específica sérica para cada uno de los extractos de *Cupressaceae*. Estadístico en todos los pacientes (a), adultos (b) y niños (c).

(a)				
Extracto Comparación	Diferencia entre Medias	95% Límite de confianza		
Juniperus - Arizonica	33.03	9.81	56.24	***
Juniperus - Sempervirens	94.63	70.86	118.40	***
Sempervirens - Arizonica	61.60	37.64	85.56	***

*** Comparaciones con significancia al nivel 0.05. Test de Kruskal-Wallis.

(b)				
Extracto Comparación	Diferencia entre Medias	95% Límite de confianza		
Juniperus - Arizonica	24.57	3.75	45.39	***
Juniperus - Sempervirens	74.26	53.00	95.52	***
Sempervirens - Arizonica	49.69	28.21	71.17	***

*** Comparaciones con significancia al nivel 0.05

(c)				
Extracto Comparación	Diferencia entre Medias	95% Límite de confianza		
Juniperus - Arizonica	9.042	-1.602	19.685	
Juniperus - Sempervirens	20.812	9.795	31.830	***
Sempervirens - Arizonica	11.771	0.754	22.788	***

*** Comparaciones con significancia al nivel 0.05

En **niños** no se observaron diferencias significativas entre la media de la IgE específica a *Juniperus ashei* y la de *Cupressus arizonica*. En cambio, la media de la IgE específica a

Juniperus ashei fue mayor que la media de la IgE específica a *Cupressus sempervirens* y la media de la IgE específica a *Cupressus sempervirens* fue menor que la de *Cupressus arizonica* de forma estadísticamente significativa ($p= 0.0024$) (Figura 25).

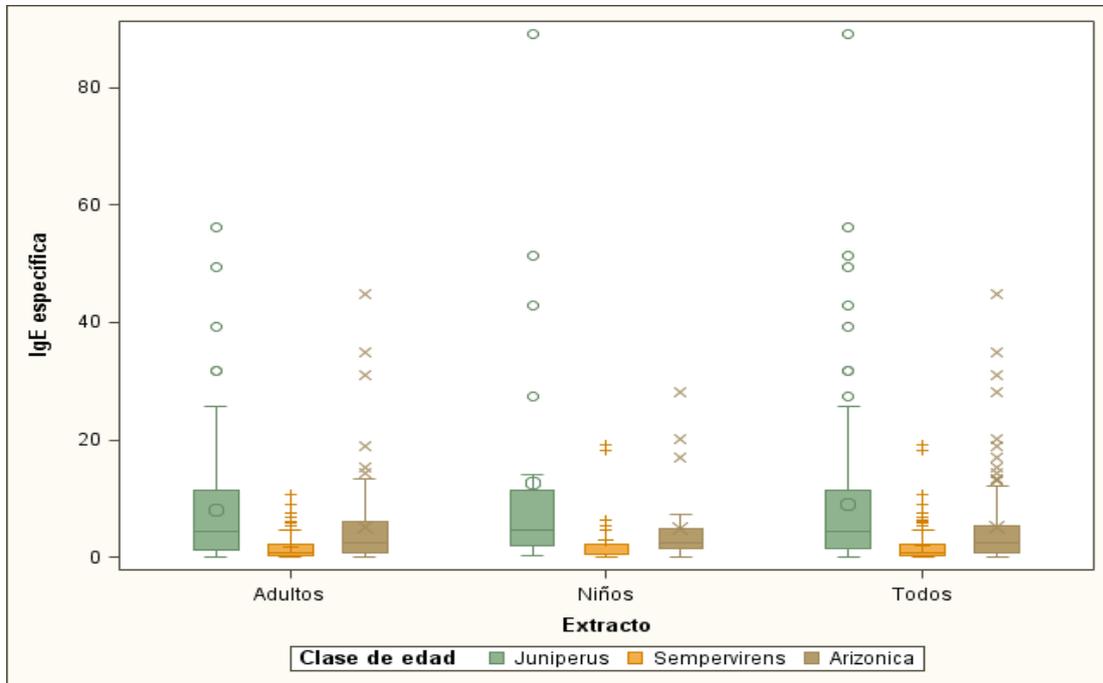


Figura 25: Diferencias entre las IgE específicas para los diferentes extractos de *Cupressaceae*. Resultados de IgE específica expresados en kU/l.

21.2 Relación entre los niveles de IgE específica y la presencia de alergia a polen de *Cupressaceae*

Se realizó un análisis estadístico para comprobar si había diferencias entre los niveles de IgE específica en pacientes alérgicos respecto de los pacientes sensibilizados asintomáticos (silentes).

Se comprobó que en los pacientes con síntomas los valores de IgE específicas son significativamente mayores que en los pacientes sin síntomas por polen de *Cupressaceae* (Tabla 19).

Tabla 19: Comparativa entre los niveles de IgE específica sérica a los diferentes extractos de *Cupressaceae* y la presencia de síntomas.

	Síntomas SI			Síntomas NO			P
	(n=26)			(n=72)			
	Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo	
<i>C. arizonica</i>	4.855	0.8	44.8	2.300	0.2	20.1	< 0.001
<i>J. ashei</i>	11.90	0.7	56.1	3.640	0.2	27.4	< 0.0001
<i>C. sempervirens</i>	1.320	0.3	19.1	0.660	0.1	6.1	< 0.034
Cup a 1	13.500	2.7	46.0	6.900	0.0	46.0	< 0.015
Cry j 1	1.550	0.0	10.0	0.800	0.0	16.0	< 0.034

21.3 Sensibilidad y Especificidad de las IgE específicas a pólenes de *Cupressaceae*

Considerando como prueba patrón la presencia de síntomas durante la estación polínica, se calcularon la sensibilidad y especificidad de las IgE específicas a los diferentes extractos de pólenes de *Cupressaceae* probados mediante curvas ROC (Figuras 26, 27 y 28).

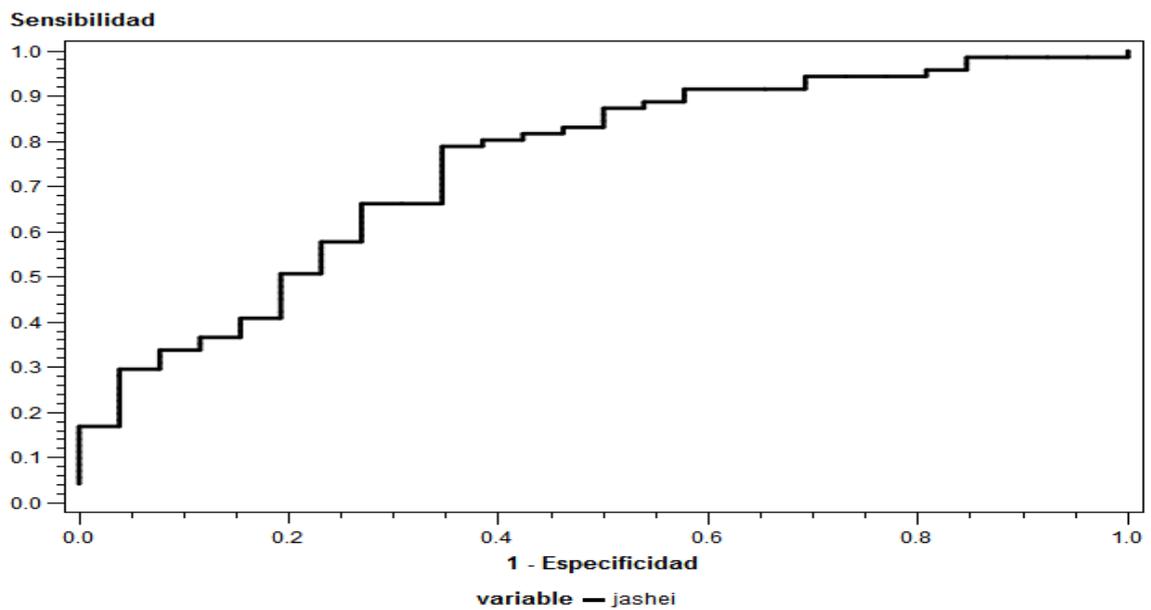


Figura 26: Curva ROC para la IgE específica de *Juniperus ashei*. Punto de corte: 5,36 kU/l para una sensibilidad del 66% y una especificidad del 69%.

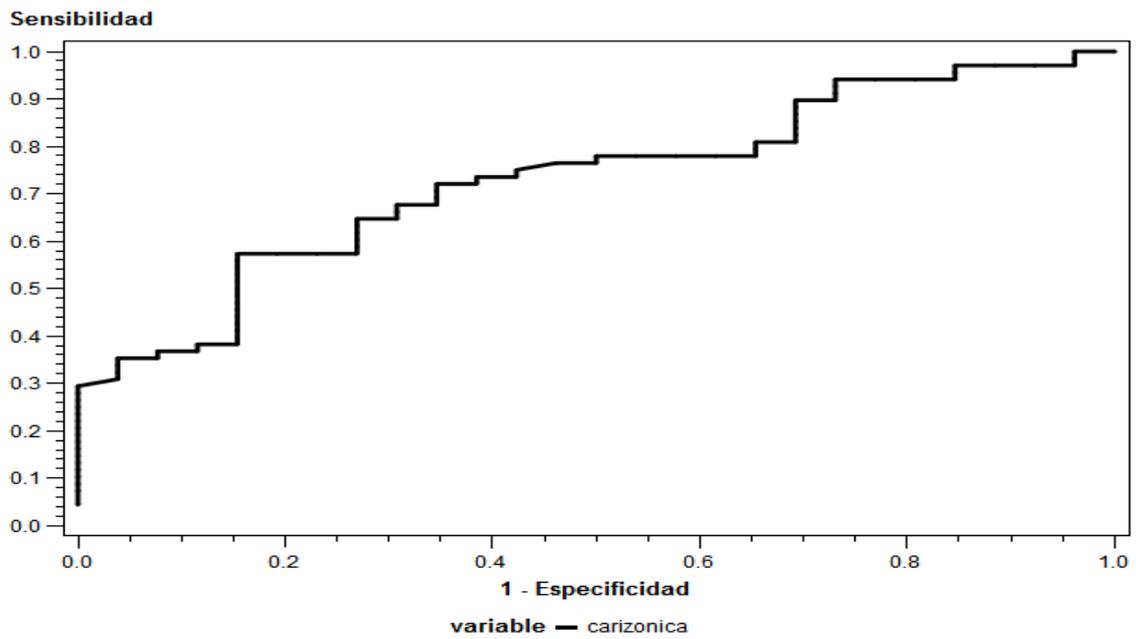


Figura 27: Curva ROC para la IgE específica de *Cupressus arizonica*. Punto de corte: 3,76 kU/l para una sensibilidad del 69% y una especificidad del 65%.

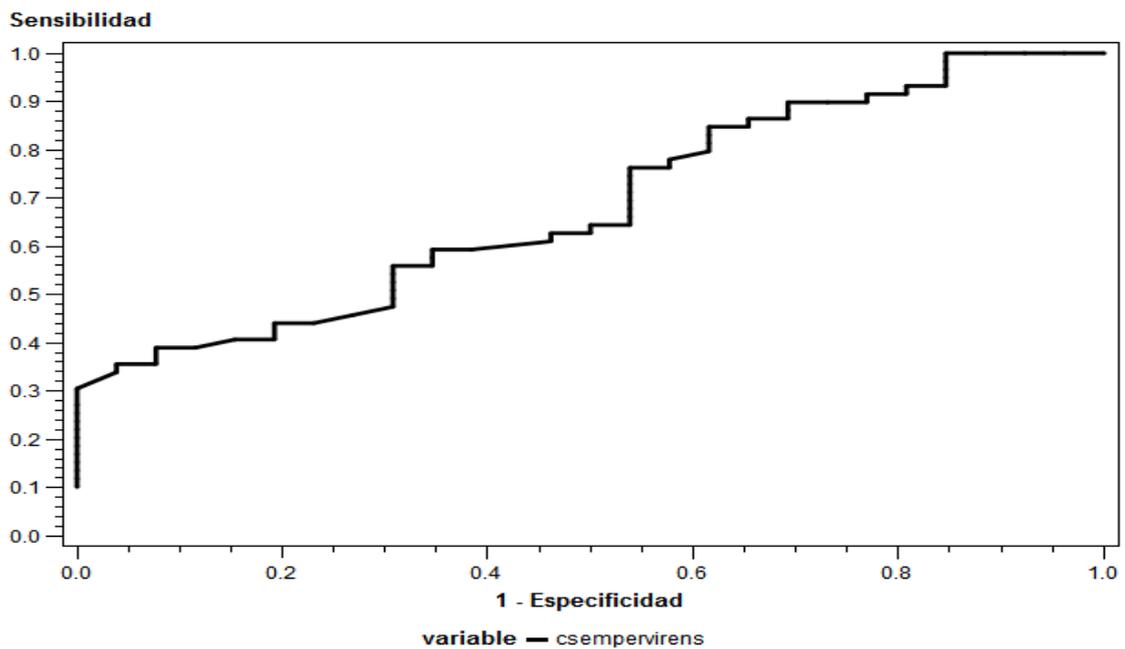


Figura 28: Curva ROC para la IgE específica de *Cupressus sempervirens*. Punto de corte: 0,82 kU/l para una sensibilidad del 60% y una especificidad del 62%.

22. DETERMINACIÓN DE IgE ESPECÍFICA A ALÉRGENOS INDIVIDUALES DE *CUPRESSACEAE*

El estudio de alergia molecular se realizó en 94 pacientes (76 adultos y 18 niños).

Se consideraron positivas las IgE específica séricas con un valor superior a 0.3 ISU-E según especificaciones del fabricante.

22.1 IgE específica a Cup a 1 y Cry j 1.

Respecto al porcentaje de positividad de IgE específica a Cup a 1 y Cry j 1: un 91,5 % de los pacientes estaban sensibilizados a Cup a 1 y un 69,1% a Cry j 1. En la mayoría de los casos los pacientes reconocían ambos marcadores de sensibilización genuina, pero el 22,3% de los pacientes con Cup a 1 positivo no estaban sensibilizados a Cry j 1. Todos los pacientes sensibilizados a Cry j 1 lo estaban también a Cup a 1. Un 8,5% de los pacientes no estaban sensibilizados a ninguno de los dos alérgenos.

Los resultados de los valores de IgE específica a Cup a 1 y Cry j 1 se muestran en la Tabla 20.

Tabla 20: Resultados de las positividades a Cup a 1 y Cry j 1.

CLASE DE EDAD	Cup a 1 ISU-E							
	N	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo	P25	P75
Adultos	69	14.09	12.23	9.10	0.00	46.00	4.20	21.00
Niños	18	11.56	15.13	5.55	0.40	45.00	2.62	12.25
Todos	86	13.72	12.82	8.00	0.40	46.00	3.82	21.00

CLASE DE EDAD	Cry j 1 ISU-E							
	N	Media	DT	Mediana	Mínimo	Máximo	P25	P75
Adultos	52	2.45	2.33	1.40	0.30	10.00	0.82	4.17
Niños	13	3.23	4.83	0.90	0.30	16.00	0.75	4.25
Todos	65	2.60	2.96	1.30	0.30	16.00	0.80	4.15

Se comprobó que existía una diferencia estadísticamente significativa entre los valores de IgE específica a los diferentes extractos completos de polen de *Cupressaceae* y la positividad o negatividad a Cry j 1. Cuando Cry j 1 era negativo, los valores de IgE específica a extractos completos de *Cupressaceae* eran significativamente más bajos (Tabla 21).

Tabla 21: Relación entre los valores medios de IgE específica a los diferentes extractos completos de polen de *Cupressaceae* y Cry j 1.

IgE específica	Cry j 1	Pacientes	Media	Significancia
<i>C. arizonica</i>	Positivo	40	10.45	P < 0.0001
	Negativo	23	2.70	
<i>J. ashei</i>	Positivo	41	15.87	P < 0.0001
	Negativo	24	4.15	
<i>C. sempervirens</i>	Positivo	39	3.90	P < 0.003
	Negativo	22	1.13	

Además, en el análisis estadístico no se observaron diferencias en los valores de IgE específicas a alérgenos completos e individuales en función de la presencia o no de antecedentes familiares de atopia.

Los valores de IgE específica sérica para cada uno de los extractos completos y alérgenos individuales de cada paciente se muestran en el Anexo 4.

22.2 Sensibilidad y especificidad de Cup a 1 y Cry j 1.

Se calculó la sensibilidad y especificidad de las IgE específicas séricas a los diferentes alérgenos individuales de *Cupressaceae* (Cup a 1 y Cry j 1) comparado con el patrón oro. (Figuras 29 y 30).

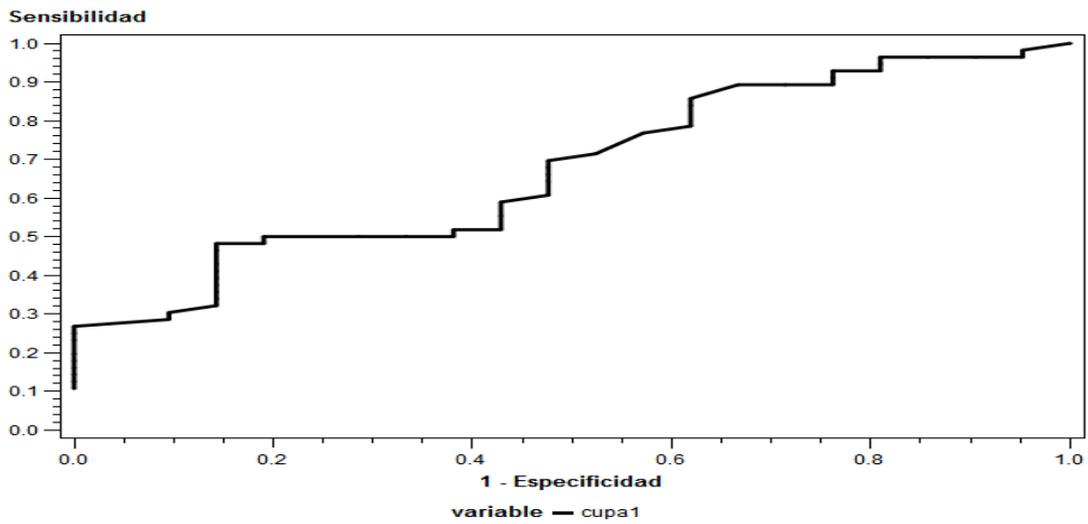


Figura 29: Curva ROC para la IgE específica de Cup a 1. Punto de corte: 6,9.1 ISU-E para una sensibilidad del 55% y una especificidad del 57%.

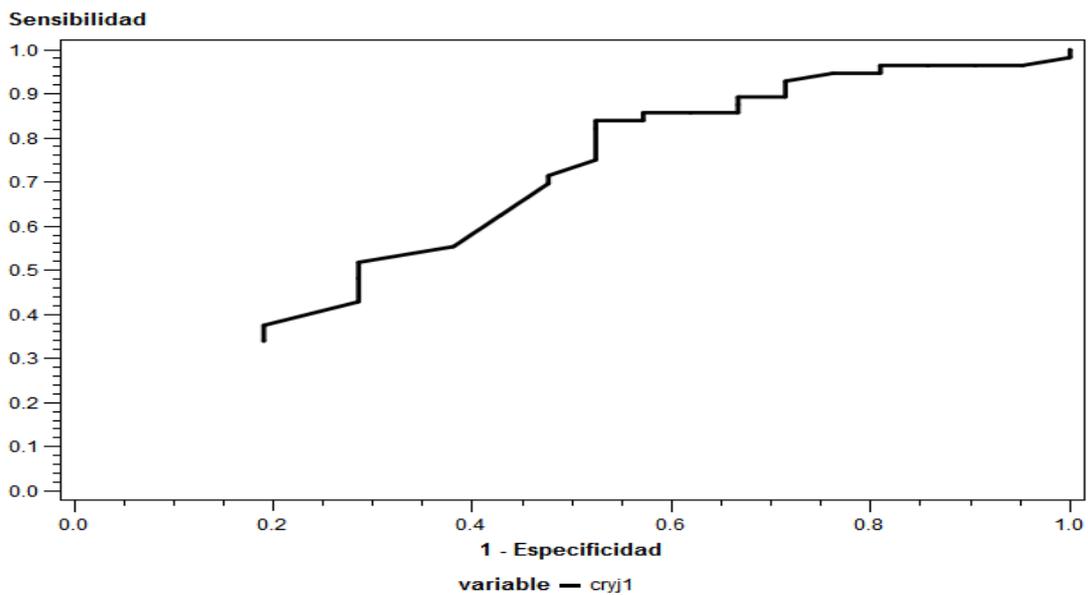


Figura 30: Curva ROC para la IgE específica de Cry j 1. Punto de corte: 0,9 ISU-E para una sensibilidad del 60% y una especificidad del 60%.

23. PERFILES MOLECULARES DE LA MUESTRA EN ESTUDIO

23.1 Sensibilización a componentes especie-específicos

23.1.1 Sensibilización a alérgenos ambientales

En las **co-sensibilizaciones a nivel molecular** se observó una elevada sensibilización de alérgenos especie específicos de otras fuentes polínicas, especialmente de gramíneas y de olivo además de a epitelios y a ácaros del polvo (Figura 31).

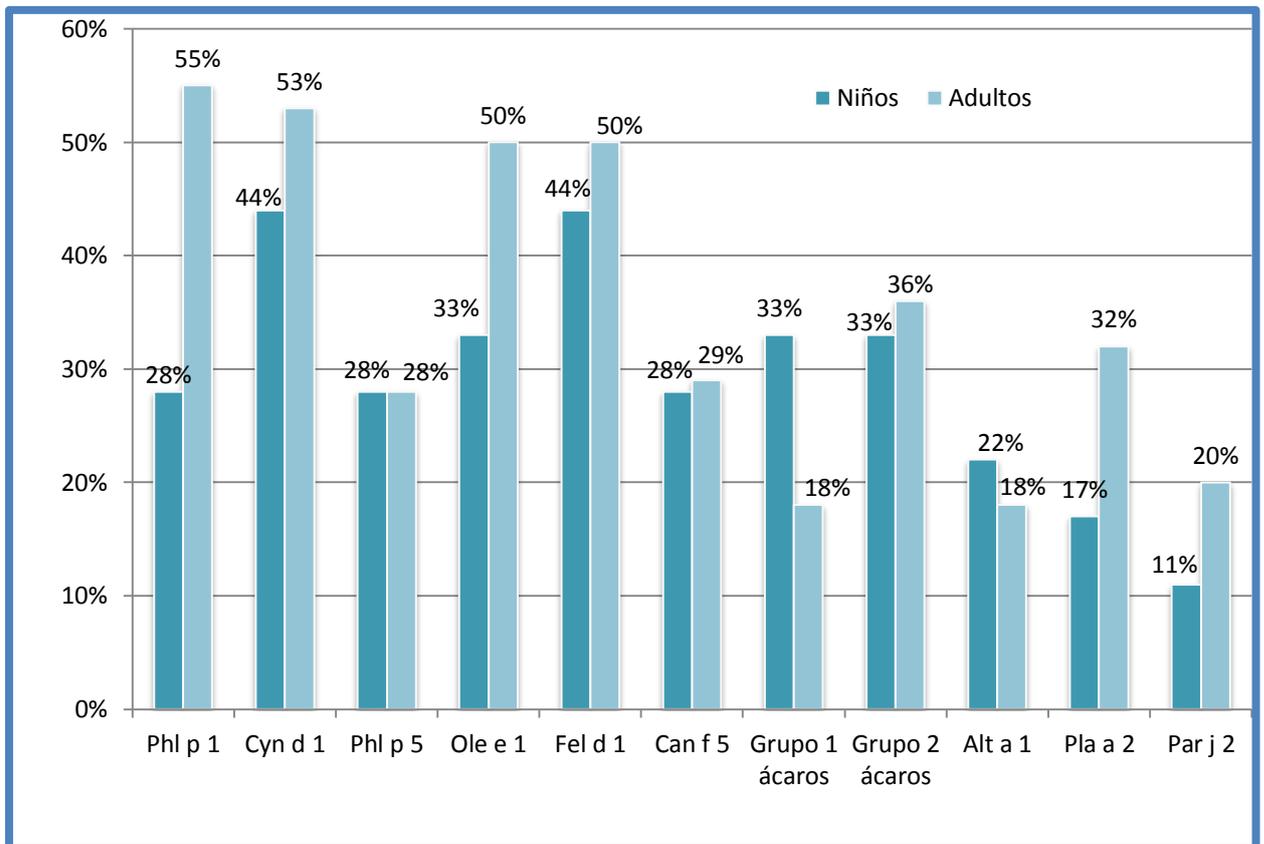


Figura 31: Distribución de las co-sensibilizaciones más frecuentes a nivel molecular en la población estudiada.

23.1.2 Sensibilización a alérgenos de alimentos

En 20 de los 24 pacientes que referían alergia a alimentos se realizó un ISAC112®. Se encontraron las siguientes **co-sensibilizaciones a alimentos**: 8 positivities a LTP, 1 positivo a proteínas de almacenamiento, 1 positivo a Taumatina (Act d 1), 1 positivo a arginina kinasa (Pen m 2) y 1 positivo a la proheveína del Látex (Hev b 6).

En 6 pacientes que no referían síntomas de alergia con alimentos se encontraron las siguientes positivities a alérgenos alimentarios especie-específicos: 1 positivo a Nuez (Jug r 1), 1 a leche (Bos d lactoferrina), 2 a Kiwi (Act d 1, Act d 5), 1 a trigo (Tri a 14) y 2 Anisakis (Ani s 1).

23.2 Sensibilización a componentes panalérgenos

En la figura 32 se muestran los porcentajes de positividad a panalérgenos en la población estudiada (94 pacientes, 18 niños, 76 adultos).

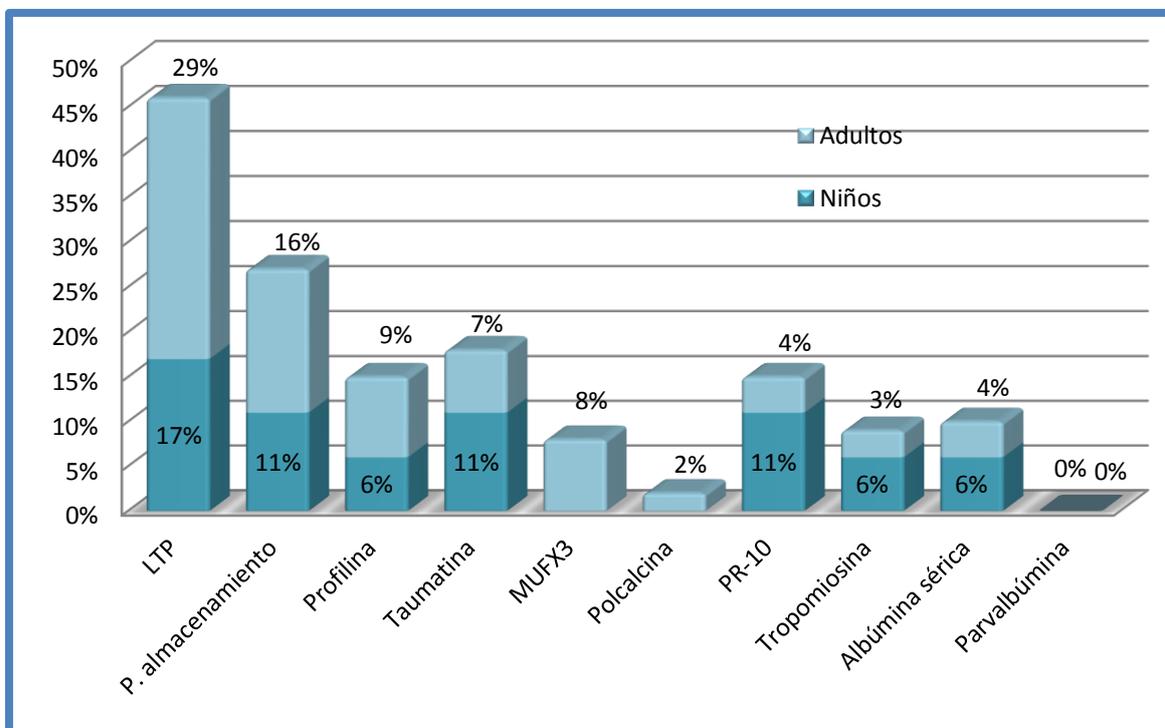


Figura 32: Relación de positivities a panalérgenos en niños y adultos.

De los 8 casos de sensibilización a profilinas: 6 resultaron positivos a las 4 profilinas presentes en el ISAC® (Bet v 2, Hev b 8, Mer a 1 y Phl p 12). Todos ellos estaban sensibilizados también a polen de gramíneas.

Es conocido el elevado porcentaje de determinantes carbohidratados en el polen de *Cupressaceae*, por ese motivo se realizó un análisis de cuántos pacientes en la muestra del estudio (94 pacientes) eran positivos a proteínas portadoras de determinantes carbohidratados (*CCD bearing proteins*) (Tabla 22). En el momento del estudio, el alérgeno individual del polen de olivo Ole e 1 se encontraba en su forma nativa en la micromatriz ISAC, por lo que también se analizó en el conjunto de las *CCD-bearing proteins*.

Tabla 22: Porcentaje de positividad a *CCD bearing proteins* en la muestra del estudio.

Alérgeno	Frecuencia	Porcentaje
Cup a 1	86	91,4
Cry j 1	63	67
Cyn d 1	48	51
Ole e 1	44	46,8
Phl p 4	29	30,8
Pla a 2	27	28,7
Jug r 2	11	11,7
MUXF3	6	6,3

Debido a que se ha descrito que los determinantes carbohidratados pueden ser responsables de fenómenos de reactividad cruzada a múltiples fuentes alérgicas sin relevancia clínica, se analizó el porcentaje de pacientes con sensibilización a marcadores de sensibilización genuina y cuando fue posible, la relevancia clínica de dicha sensibilización, en aquellos pacientes con IgE específica a *CCD bearing proteins*.

Destaca que ninguno de los pacientes con positividad a Jug r 2 (n=11) presentaba síntomas con la ingesta de nuez ni estaban sensibilizados a Jug r 1. Un 63,6% reconocían la LTP de nuez, Jug r 3, con valores medios globalmente más bajos.

Asimismo, se evaluó las positividades para marcadores de sensibilización genuina para pólenes de los pacientes con IgE específicas positivas para las *CCD bearing proteins* de pólenes. Así, se comprobó que de todos los pacientes con positividad a Pla a 2 (n=27), un 70,3% no presentaban sensibilización a Pla a 1. Respecto a los alérgenos de gramíneas con CCD, un 13,7% de los pacientes con IgE específica positiva para Phl p 4 (n=29) y un 6,2% de los pacientes con IgE específica positiva para Cyn d 1 (n=48) no presentaban sensibilización a Phl p 1.

Los valores medios de IgE específica para cada uno de los alérgenos con determinantes carbohidratados (CCD) se muestra en la tabla 23.

Tabla 23 . Valores medios de IgE específica para los alérgenos con CCD en unidades ISU-E).

	Cup a 1	Cry j 1	Cyn d 1	Ole e 1	Phl p 4	Pla a 2	Jug r 2	MUXF3
N	94	94	94	94	94	94	94	94
Media	13.14	2.66	8.98	10.8	4.24	4.60	2.71	1.71
Mediana	7.87	1.33	5.03	4.50	1.78	1.92	1.3	1.25
Desviación típica	12.45	3.05	10.63	14.57	5.10	7.96	3.03	1.77
Rango	0.43- 46.10	0.32- 16.30	0.35-48	0.32- 47.70	0.33-16	0.31- 37.90	0.32- 10.30	0.34- 5.20
Percentil 25	3.26	0.79	1.81	1.42	0.49	0.55	0.67	0.55
Percentil 75	20.4	4.19	12.1	14.7	5.39	3.83	4.37	2.53

Destaca que mientras los valores medios de Cup 1 eran de 13,14 ISU-E para el resto de *CCD bearing proteins* los valores medios resultaron inferiores.

De los 3 pacientes monosensibles en prueba cutánea a polen de *Cupressaceae* se obtuvo el estudio molecular de 2 de ellos (Tabla 24).

Tabla 24. Características moleculares de los pacientes monosensibilizados en prueba cutánea a polen de *Cupressaceae*.

ID	Síntomas por <i>Cupressaceae</i>	Cry j 1	Cup a 1	Co- sensibilizaciones
72 niño	RCMP	1,3	6,2	NO
61 adulto	NO	4,6	36	Ole e 1 (0,5 ISU-E), Pla a 2 (3,1 ISU-E), Cyn d 1 (2,1 ISU-E), Phl p 1 (17 ISU-E), Phl p 4 (4,4 ISU-E), MUXF3 (1,2 ISU-E), Act d 5 (0,8 ISU-E)

RCMP: Rinoconjuntivitis moderada persistente, ID: Identificación.

Destaca que el paciente monosensible sin síntomas por polen de *Cupressaceae* presentaba positividad a proteínas portadoras de determinantes carbohidratados (*CCD bearing proteins*) y al marcador genuino del polen de gramíneas Phl p 1.

En la tabla 25 se muestran los pacientes que presentaron positividad a *CCD-bearing proteins* y síntomas durante la polinización del polen de ciprés. La positividad frente a Ole e 1 y Jug r 2 se asociaba de manera estadísticamente significativa con ausencia de síntomas con la exposición a polen de ciprés.

Tabla 25. Pacientes con positividad a *CCD bearing proteins* y presencia de síntomas por polen de *Cupressaceae*.

	Cup a 1	Cry j 1	Cyn d 1	Ole e 1	Phl p 4	Pla a 2	Jug r 2	MUXF3
Síntoma Si	21	16	9	9	6	5	2	0
Síntoma no	50	36	28	22	14	14	4	3
Perdido	15	11	11	13	9	8	5	3
P(Chi²)	0.28	0.59	0.39	0.025	0.08	0.18	0.04	0.07

24. PRUEBA DE PROVOCACIÓN NASAL ESPECÍFICA CON POLEN DE *JUNIPERUS ASHEI*

En total se realizaron 57 pruebas de provocación nasal específica con polen de *Juniperus ashei* cuyos resultados se muestran en la Figura 33.



Figura 33: Resultados de la PNE con polen de *Juniperus ashei*.

Los resultados de las provocaciones nasales realizadas y la presencia de sintomatología presentada por los pacientes o no durante la estación polínica del polen de *Cupressaceae* se muestran en el Anexo 5. En ningún paciente se constataron cambios significativos en la función pulmonar durante la realización de la prueba.

Se realizó un cálculo del cociente de verosimilitud (modelo estadístico que permite calcular inferencias acerca de su valor a partir de un conjunto de observaciones) para aquellos valores (mostrados como CP) que indicarían una mayor capacidad para diagnosticar la presencia de síntomas (Tabla 26).

La sensibilidad de la PNE fue del 100% pero la especificidad fue del 15%. Los valores positivos con la concentración 1 IR y 10 IR discriminaron mejor la probabilidad de tener

síntomas ($P_{\text{post Corr}} = 0,52$). Para la concentración en PNE de 1 IR la sensibilidad fue del 50% y la especificidad fue del 69% (Tabla 26).

Tabla 26: Cocientes de verosimilitud de las PNE positivas y negativas realizadas.

RESULTADO	Sensibilidad	Especificidad	CP	PpostCorr
NEGATIVA	0.0000	0.84615	0.00000	0.00000
POSITIVO 0,01 IR	0.0625	0.92308	0.81250	0.35135
POSITIVO 0,1 IR	0.1875	0.80769	0.97500	0.39394
POSITIVO 1 IR	0.5000	0.69231	1.62500	0.52000
POSITIVO 10 IR	0.1875	0.88462	1.62500	0.52000
POSITIVO 100 IR	0.0625	0.84615	0.40625	0.21311

25. RECUENTOS POLÍNICOS DE *CUPRESSACEAE*

Según el calendario de polinización de *Cupressaceae* en 2011 (Figura 34), se pudo observar que desde finales de enero hasta mediados de marzo de 2011, se captaron niveles de polen de *Cupressaceae* considerados moderados y altos solo en los meses de febrero y marzo, con la excepción del día 9 de enero. El resto de la temporada de polinización de *Cupressaceae*, hasta mayo, los niveles fueron bajos (Anexo 6).

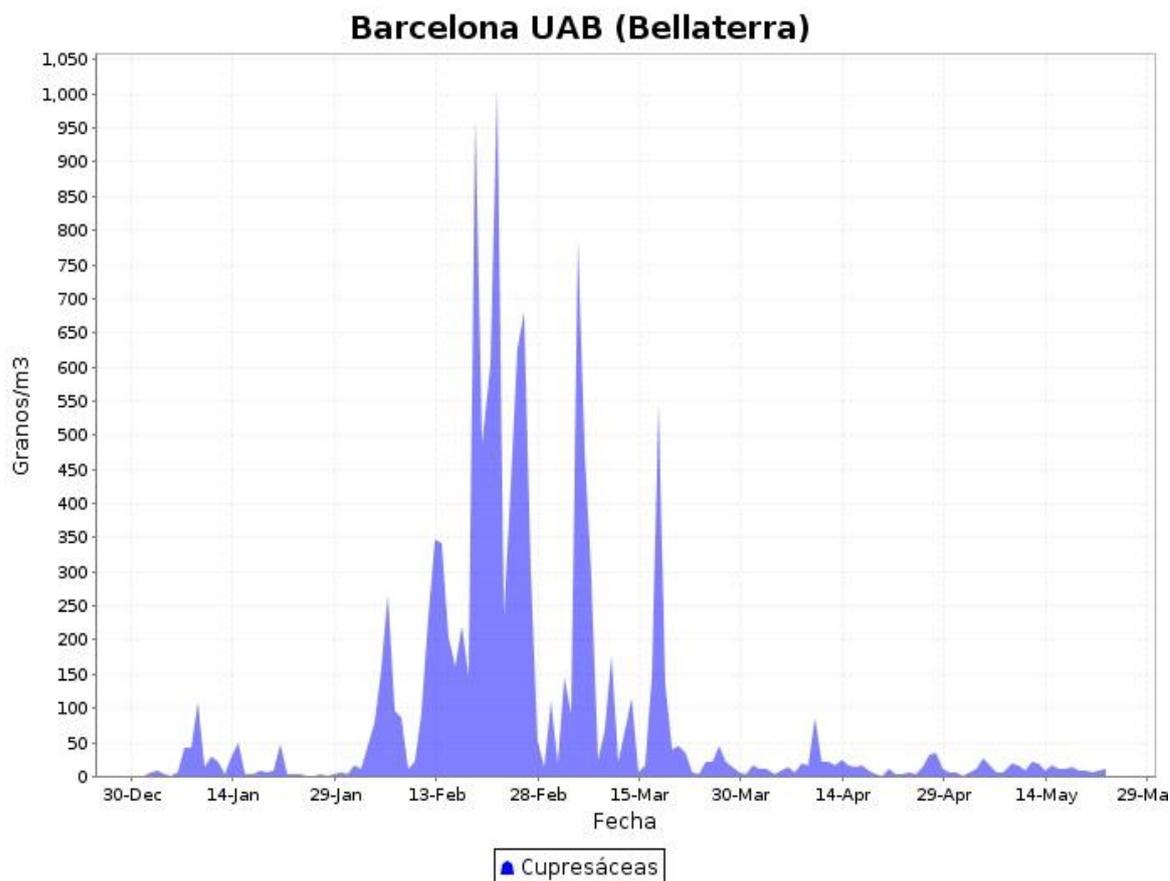


Figura 34: Calendario de polinización de *Cupressaceae* en 2011. Datos de la estación aerobiológica de Bellaterra (Xarxa Aerobiològica de Catalunya). (<http://www.lap.uab.cat/aerobiologia/general/pdf/calendaris>).

Como se puede observar en la Figura 35, durante los meses de febrero y marzo de 2011 los recuentos de *Cupressaceae* representaron el 50% del total de polen, seguido del polen de *Pinus* (19%), *Populus* (11%) y *Plátano de sombra* (10%).

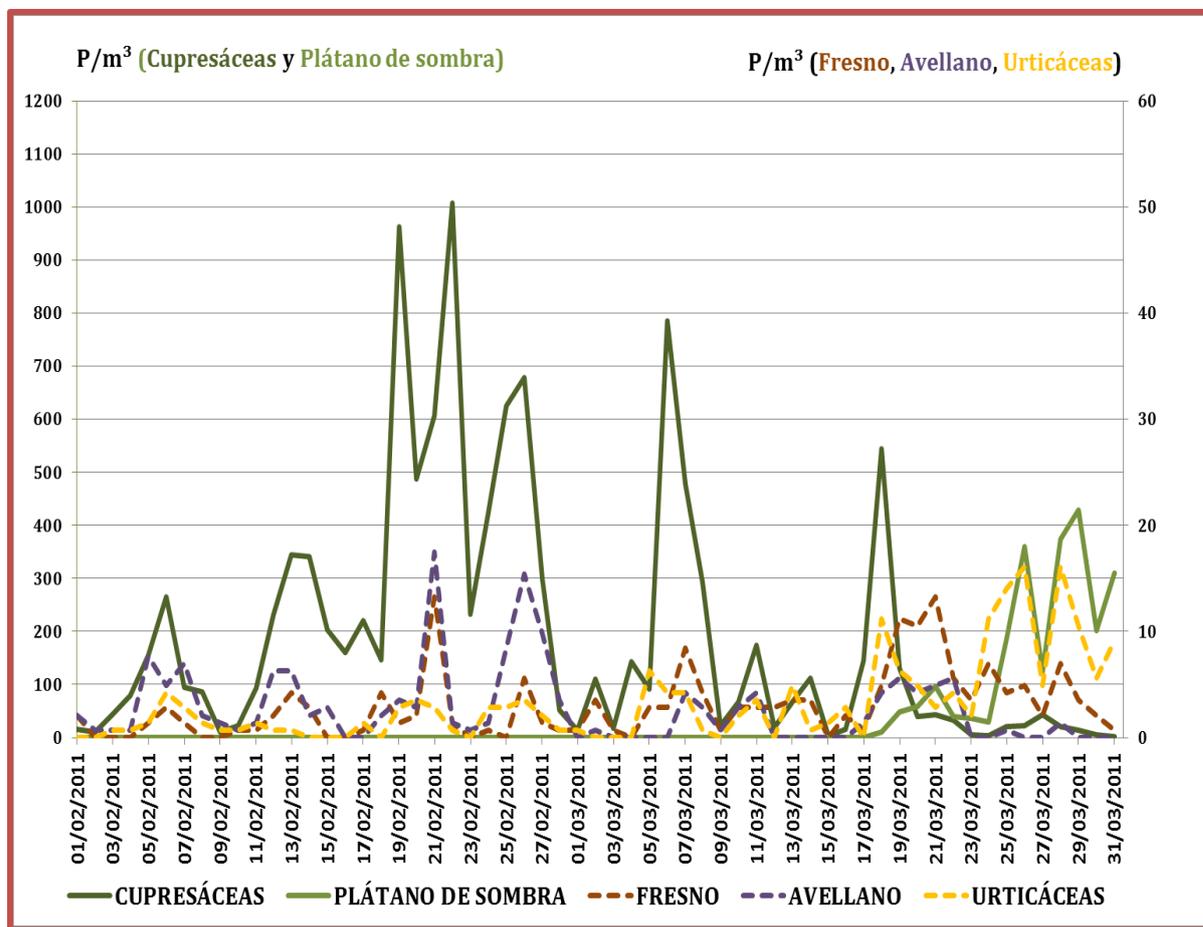


Figura 35: Concentraciones medias diarias de los pólenes en la estación de Bellaterra durante los meses de febrero y marzo de 2011. Datos de la *Xarxa Aerobiològica de Catalunya*, XAC (<http://lap.uab.cat/aerobiologia>). Las concentraciones medias diarias (P/m³) se han obtenido mediante un captador Hirst y aplicando la metodología de análisis de la REA¹⁰⁷.

26. CALENDARIO DE SÍNTOMAS

De los 122 pacientes, entregaron el calendario 58 pacientes (47,5%), acudieron a las visitas pero no entregaron el calendario 40 pacientes (32,7%) , y dejaron de asistir a una, varias o a todas las visitas posteriores de seguimiento 24 pacientes (19,6%).

De los 98 pacientes que reportaron los síntomas bien por calendario o anamnesis durante la estación polínica de *Cupressaceae*, 72 estaban asintomáticos. La clínica más frecuente entre los 26 pacientes que sí presentaron síntomas fue la rinoconjuntivitis seguida de la rinitis (Figura 36).

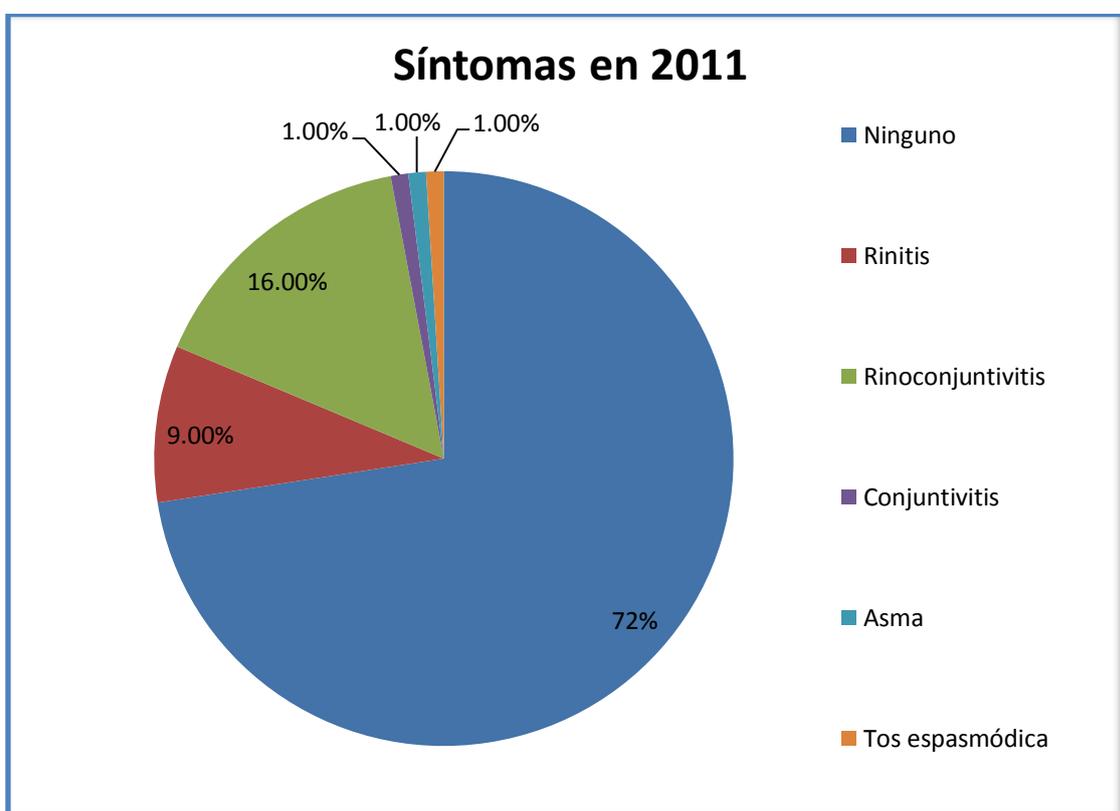


Figura 36. Distribución de la sintomatología objetivada mediante calendario de síntomas durante la polinización de *Cupressaceae* en 2011.

La intensidad de la sintomatología presentada se muestra en la Figura 37.

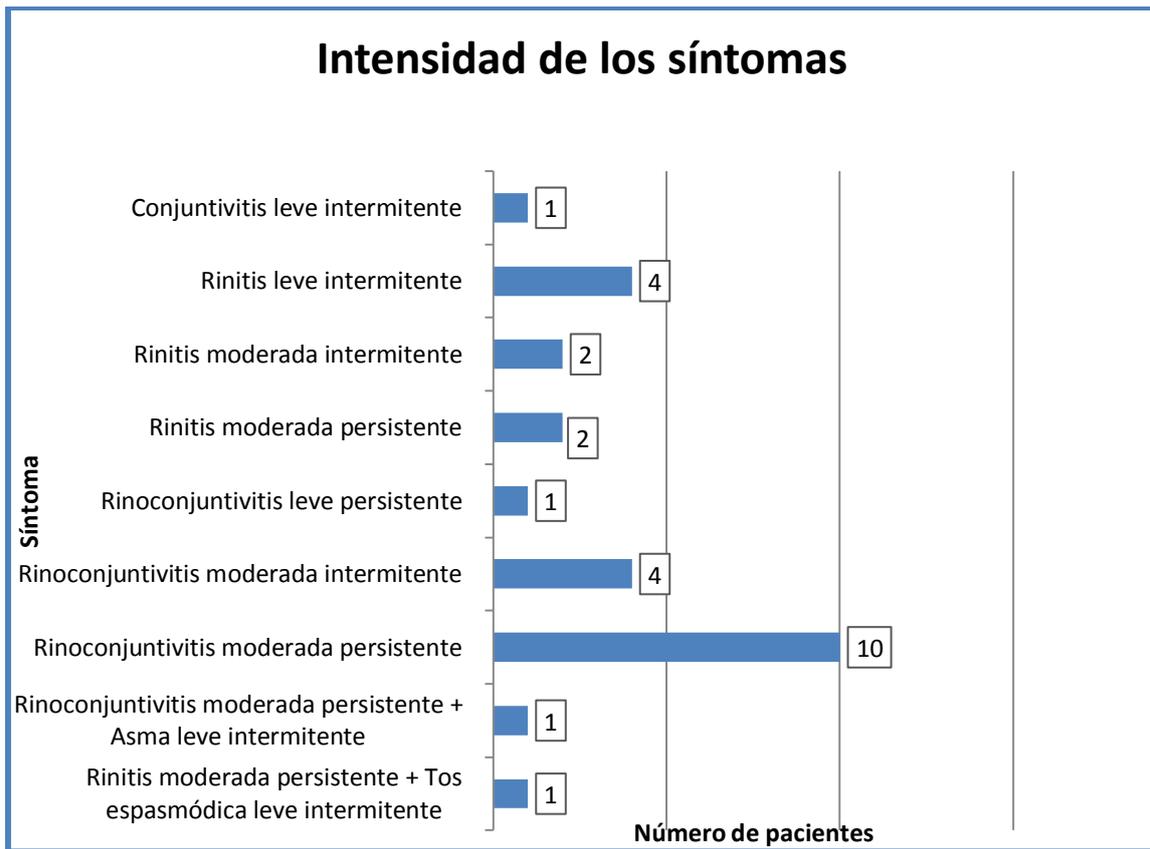


Figura 37: Intensidad de los síntomas de rinoconjuntivitis y/o asma de acuerdo con las clasificaciones ARIA y GEMA.

Los resultados pormenorizados de los datos relativos a la sintomatología presentada por los pacientes con pruebas cutáneas positivas a polen de *Cupressaceae* durante la polinización del año 2011 se muestran en el Anexo 7.

DISCUSIÓN

El trabajo de la presente tesis se ha planteado para establecer la incidencia anual de la sensibilización a polen de *Cupressaceae* en el área del Vallés Occidental (Barcelona) en la actualidad y describir las características clínicas y moleculares de los pacientes con dicha sensibilización.

El diseño del estudio ha comprendido varias fases: primero la inclusión de los pacientes (niños y adultos) durante un año natural, segundo la realización de las pruebas cutáneas *in vivo* y las pruebas *in vitro* con determinación de IgE específicas y alérgenos individuales, y, en tercer lugar, la realización de una prueba específica de exposición nasal con el polen de *Juniperus ashei*.

A continuación se discuten los resultados de cada uno de los aspectos del estudio.

INCIDENCIA DE LA SENSIBILIZACIÓN A POLEN DE *CUPRESSACEAE*

La incidencia de sensibilización en base a pruebas cutáneas a polen de *Cupressaceae* fue del 15,1% en la muestra analizada (10,2% niños , 17,2% adultos).

La incidencia y la prevalencia son medidas de la frecuencia de una enfermedad. La prevalencia describe la proporción de la población que padece la enfermedad en un momento determinado mientras que la incidencia contabiliza el número de casos nuevos en un período de tiempo determinado. En este trabajo se realizó por primera vez un estudio de la incidencia anual de la sensibilización a polen de *Cupressaceae* en el área del Vallés occidental. La mayoría de publicaciones epidemiológicas sobre sensibilización a polen de ciprés han calculado prevalencia en sus respectivas áreas geográficas mientras que en este estudio se han incluido los casos nuevos de sensibilización a polen de *Cupressaceae*, por lo que no se dispone de datos previos con los que comparar.

En estudios publicados se observa un aumento de la prevalencia de sensibilización a polen de *Cupressaceae* en los últimos años. Así, en el estudio epidemiológico Alergológica 2005 se describió una prevalencia de rinitis por *Cupressaceae* en Cataluña del 5,7%³⁴ mientras que un estudio realizado en 2012 se detectó una prevalencia de sensibilización a *Cupressus arizonica* por prueba cutánea del 14,4%²⁷¹. Con las salvedades en lo que

respecta a la diferente metodología de ambos estudios, se podría concluir que la prevalencia de sensibilización a polen de ciprés se ha duplicado o incluso triplicado en los últimos 10 años.

Esto ha sido reflejado también en Palermo, donde se ha detectado un aumento en la prevalencia de sensibilización a polen de *Cupressus sempervirens* del 17% en 2005 al 29% en 2010¹⁸² y en Japón, donde han detectado un aumento de casi el doble en la prevalencia de sensibilización a polen del ciprés japonés *Cryptomeria japonica*, que fue de un 19,4% en el año 2001 y de un 36,7% en el año 2007²⁷².

En el presente estudio, la incidencia de sensibilización a *Cupressaceae* resultó ser algo inferior cuando se calculó en base a IgE específica sérica a extracto completo (13,7% de la muestra) o a componentes alergénicos individuales (inferior al 11%).

Estos datos son inferiores a lo publicado en estudios de prevalencia de otras áreas geográficas como Salamanca (Cup s 1: 19,1%²⁷³), Madrid (Cup s 1:20,9%²⁷⁴), Italia (Cup a 1: 42,7%²⁷⁵ en adultos, 15% en niños²⁷⁶), zona este de Europa (Cup a 1/Cry j 1 del 14,1%²⁷⁷) y Japón (Cry j: 13,7%²⁷⁸ en niños) probablemente debido a una mayor presencia de árboles de ciprés en estas áreas geográficas. En este sentido, es conocido que una elevada exposición a pólenes se considera un factor de riesgo para el desarrollo de rinitis alérgica¹⁷⁰.

CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

En este estudio la **edad media** de los pacientes adultos (36,3 años) fue similar a la descrita para pacientes polínicos polisensibilizados en Madrid en 2010 (34 años)⁶⁷. Sin embargo, esta media de edad es superior a la descrita para pacientes españoles con rinoconjuntivitis (29,9 años)³⁴ y para pacientes monosensibles a ciprés en población francesa²⁰¹ (28,5 años). Es probable que las diferencias sean atribuibles a la elevada frecuencia de polisensibilización en nuestra muestra. No se pudo analizar si la edad media era inferior en el grupo de pacientes monosensibilizados por el escaso número de pacientes de este grupo.

En cuanto al **género**, no se encontraron diferencias en la población adulta pero sí en población pediátrica donde hay una mayor proporción de niños sensibilizados a *Cupressaceae* respecto de niñas. Estos datos contrastan con estudios previos de pacientes monosensibles a pólenes de la familia *Cupressaceae* donde se ha descrito una mayor afectación de las mujeres (57,6%²⁰⁰- 65%²⁰³) y también en Alergológica 2005, donde la frecuencia de rinoconjuntivitis es mayor en mujeres que en hombres (55,4% vs 44,6%)³⁴. En cambio en estudios pediátricos es un dato conocido la mayor prevalencia de asma²⁷⁹ u otras enfermedades en niños²⁸⁰ respecto de las niñas. Estos datos sugieren que en población adulta polisensibilizada, la sensibilización a polen de *Cupressaceae* ocurre de manera similar en hombres y mujeres.

Tampoco parece, a la luz de nuestros resultados, que la **historia familiar de atopia** juegue un papel relevante en la sensibilización a polen de *Cupressaceae*, con un porcentaje de antecedentes familiares de atopia similar entre el grupo control y los pacientes sensibilizados a polen de ciprés entorno al 44%. Estos datos son muy similares a los descritos por Azea en el año 2002 en población italiana, en el que el 40,3% de los pacientes sensibilizados a polen de *Cupressus arizonica* o *Cupressus sempervirens* tenía antecedentes familiares de atopia²⁸¹. Al igual que en los estudios de Guerra¹⁷³ en población andaluza o de Tanaka en población japonesa²⁸², en los que no encuentran diferencias significativas en cuanto a la historia personal o familiar de atopia en pacientes con pruebas cutáneas positivas y negativas a pólenes de la familia *Cupressaceae*.

Parecería que en el caso de la polinosis por *Cupressaceae*, la carga genética de atopia es menos importante que en la descrita para otras polinosis.

En este estudio la **edad de inicio** de la sintomatología alérgica de los pacientes (en su mayoría polisensibilizados) fue de 22 años, lo que está en consonancia con la edad de inicio de la rinitis alérgica estacional según datos publicados por la Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica (www.seaic.org).

Cuando se analizó la **influencia de las diferentes variables demográficas sobre la sensibilización a polen de *Cupressaceae*** se observó que la posibilidad de estar sensibilizado al polen de *Cupressaceae* es siempre mayor en adultos que en niños. Estos datos concuerdan con lo encontrado por Guerra en 1996, donde las tasas de polinosis por

Cupressaceae son mayores en adultos a partir de los 25 años, que en niños menores de 14 años (37% vs. 24%)¹⁷³. Los resultados, vienen por tanto a confirmar que la polinosis por *Cupressaceae* es una patología de aparición en edades más avanzadas que la causada por otros pólenes.

Respecto a la **sintomatología presentada en el momento de inclusión en el estudio** predominan los síntomas de rinoconjuntivitis, lo que concuerda con los síntomas descritos para pacientes monosensibles a polen de *Cupressaceae* donde predominan los síntomas de rinitis y conjuntivitis con tasas de asma bajas^{200,203}.

En el presente estudio, hemos inferido que el tiempo de residencia en el área de estudio se corresponde, en la mayoría de pacientes, con el **tiempo de exposición al polen de *Cupressaceae***. De acuerdo con nuestros resultados, los adultos de la muestra precisarían más años de exposición al polen de *Cupressaceae* (7 años) para iniciar síntomas respiratorios alérgicos que los niños (2 años). En norte-américa, en zonas con elevada exposición a polen de *Juniperus*, se describió en la década de los 80 en una muestra de pacientes polisensibilizados, que precisaban 5,7 años de exposición al polen de *Juniperus ashei* para desarrollar síntomas alérgicos, mientras que los los pacientes monosensibilizados requerían prácticamente el doble de tiempo (14,4 años)²⁰³. En el caso de los niños, en el año 2000 se apuntó que eran necesarias por lo menos dos estaciones de exposición a pólenes alérgicos para desarrollar síntomas de rinitis alérgica³².

Parecería que en adulto es necesaria una mayor carga de exposición al polen para que se inicien los síntomas y que la polisensibilización aceleraría este proceso. Posiblemente la sensibilización a otros pólenes podría ejercer un efecto de cebado que favorece un inicio de los síntomas por ciprés más precoz que en el caso de monosensibilización¹⁰⁴.

Se ha descrito que la frecuencia de presentación de enfermedades alérgicas como la rinitis/conjuntivitis y el asma bronquial varía según el hábitat residencial del paciente, y se encuentra una mayor prevalencia de rinitis/conjuntivitis en áreas urbanas y zonas residenciales con amplias zonas verdes³⁴. Como en otros estudios, la mayoría de los pacientes del presente estudio residen en un **área urbana**.

La media de **años de residencia en el área del Vallés occidental** fue de 21,2 años. Este dato concuerda con lo descrito por Ramirez²⁰³, en un estudio en el que los pacientes nativos de una zona poblada de cipreses precisaban una media de 22 años de exposición al polen para sensibilizarse, comparado con los 9,9 años de exposición que precisaban los no nativos. Estos datos confirman que el lugar geográfico de residencia es muy determinante en el desarrollo de la sensibilización a pólenes.

Atribuimos la elevada **sensibilización a alimentos** en la muestra de este estudio al elevado porcentaje de polisensibilización y no tanto al hecho de estar sensibilizado a polen de *Cupressaceae* por prueba cutánea.

La sensibilización a melocotón en este estudio es similar a la descrita en una muestra de pacientes sensibilizados a polen de ciprés del sur de Francia¹⁷⁵. En diferentes estudios se ha apuntado que ni la sensibilización a profilinas (Cup s 8, Pru p 4) ni a taumatinas (Cu p s3, Pru p 2) explicaría una asociación entre la sensibilización a polen de ciprés y el melocotón^{175,283,262} y se ha sugerido aunque no confirmado, que podría deberse a reactividad cruzada por LTP de *Cupressus arizonica*²¹⁴. En otro estudio se ha demostrado una correlación significativa entre la sensibilización a proteínas de bajo peso molecular del polen de *Cupressus sempervirens* (14 kDa) y la sensibilización a melocotón en población francesa²⁶³.

En el presente estudio, de los 65 pacientes con prueba cutánea positiva a polen de *Cupressus sempervirens* se pudo analizar el perfil de sensibilización a alérgenos individuales en 51. De ellos, el 92,15% estaban sensibilizados a Cup a 1 y el 8,51% a Pru p 3, la LTP del melocotón. Llama la atención el elevado porcentaje de sensibilización a un alérgeno alimentario en una población seleccionada por polinosis. Barber y colaboradores²⁸⁴ ya habían descrito en 2008 que en España el porcentaje de sensibilización a Pru p 3 es del orden del 12% en una población estudiada también por polinosis, con variaciones en función de las distintas regiones de la península. No encontraron relación entre la sensibilización a Pru p 3 y la polinosis por olivo, gramíneas y malezas como salsola, chenopodium o artemisia. En nuestro estudio no se han realizado ensayos de inmunodetección para determinar si los pacientes sensibilizados a Pru p 3 estaban también sensibilizados a una LTP de polen de *Cupressus sempervirens* que pudiera explicar reactividad cruzada entre ambas fuentes.

En resumen, las características de los pacientes sensibilizados a ciprés en la muestra del presente estudio muestran algunas diferencias con las descritas por otros autores, lo que probablemente sea atribuible a las diferencias metodológicas (éste es un estudio de incidencia y no de prevalencia), las diferencias de exposición en función del área geográfica²⁵⁹, y en el porcentaje de pacientes polisensibilizados frente a monosensibilizados.

PRUEBAS CUTÁNEAS

Para valorar si la reactividad cutánea era equiparable con los diferentes extractos de polen de *Cupressaceae* probados se comparó el tamaño de las pápulas. Se observó que el tamaño de la pápula del extracto de *Cupressus sempervirens* fue inferior al de los extractos de *Cupressus arizonica* y *Juniperus ashei*, lo que coincide con datos publicados anteriormente^{187,200}. Este hecho puede explicarse porque el extracto de *Cupressus sempervirens* no es suficientemente potente^{187,206}.

Se ha descrito en la bibliografía una discordancia entre el resultado de la prueba cutánea y el resultado de la IgE específica para la mayoría de los pólenes. En concreto, para el polen de *Cupressus arizonica* esta discordancia sería del 11,8%. Asimismo se ha descrito inconsistencia entre el resultado de la prueba cutánea y el resultado del diagnóstico por componentes y que un 15% de los pacientes con pruebas cutáneas positivas a extracto de polen de *Cupressus arizonica* presentan IgE específica negativa frente a Cup a 1. Para disminuir estas inconsistencias y aumentar la especificidad diagnóstica, se ha propuesto considerar positiva una pápula superior a 5 mm²⁷⁶.

Así, en este estudio, cuando se consideró la positividad a partir de 5 mm, encontramos que el tamaño de la pápula para *Cupressus arizonica* es mayor que con el extracto de *Juniperus ashei* o *Cupressus sempervirens*.

No hay estudios previos que comparen extractos comercializados de polen de *Cupressaceae* para la realización de pruebas cutáneas. En estudios con extractos IHRS (in-house reference extract) el tamaño de las pápulas para *Cupressus arizonica* es mayor que para *Cupressus sempervirens*²⁸⁵ y el tamaño de las pápulas para *Juniperus ashei* es

mayor que para *Cupressus arizonica* o *Cupressus sempervirens*^{286,287}. Estos datos dieron pie a que se propusiera al extracto de *Juniperus ashei* como el patrón oro para el diagnóstico de la sensibilización a polen de ciprés en el área Mediterránea^{286,287} aunque *Juniperus ashei* no es endémico en Europa y pudiera no ser realmente representativo de las especies de ciprés mediterráneas²⁸⁸.

Estos resultados son importantes a la hora de seleccionar qué extracto/s de polen de *Cupressaceae* se escoje para realizar las pruebas cutáneas diagnósticas y decidir el tratamiento con inmunoterapia, pues es complicado en la rutina habitual probar los tres extractos disponibles comercialmente. Según los resultados de esta tesis, usando únicamente el extracto de polen de *Cupressus arizonica* se pierden un 3,27% de los diagnósticos, mientras que si se utiliza el extracto de polen de *Juniperus ashei* se pierden un 5,73%. Para aumentar la sensibilidad del diagnóstico sería recomendable utilizar ambas especies, *Cupressus arizonica* y *Juniperus ashei*. De esta manera se incrementaría en un 9% el número de pacientes con sensibilización a polen de Cupresáceas detectados.

Como limitación de este estudio se debe mencionar que los tres extractos alérgicos de polen de *Cupressaceae* utilizados provenían de un solo fabricante, y por lo tanto, es posible que los resultados no sean extrapolables a productos de otras casas comerciales.

La **monosensibilización** a polen de ciprés es excepcional en el presente estudio, tanto en niños como en adultos, siendo la polisensibilización la circunstancia más habitual. Estos datos coinciden con estudios previos. En concreto, un estudio realizado en Turquía mostró que el 98,4% de los pacientes con prueba cutánea positiva a polen de *Cupressus sempervirens* estaban polisensibilizados²⁰². Posteriormente, un estudio observacional con 2415 pacientes con rinitis alérgica detectó a un 25,7% de pacientes monosensibles, pero solo uno de ellos (0,16% de la muestra de 621 pacientes) estaba monosensibilizado a polen de ciprés²⁸⁹.

Actualmente, hay múltiples estudios describiendo que la polisensibilización es común en la población mundial, dependiendo los porcentajes de la población y de la región en estudio⁴⁴. En Europa entre un 12,8% y un 25,3% de la población general²⁹⁰ y en USA, un 38,8% de la población general, está polisensibilizada²⁹¹. De hecho, cuando se estudian poblaciones de pacientes alérgicos, la polisensibilización se sitúa en cifras entorno al 70-

80%^{289 292}. También se ha demostrado que la polisensibilización aumenta con la edad. Así, entre un 20 y un 50% de niños de 3 a 4 años están polisensibilizados²⁹³ frente a más del 50% en pacientes adultos⁴⁴. En nuestro estudio un 50,8% de pacientes estaban sensibilizados a 2-4 alérgenos, y un 31,9% estaban sensibilizados a 5 o más. Estos resultados concuerdan con un estudio reciente, donde la sensibilización a 2 hasta 4 alérgenos resultó ser de un 47,4%, y los pacientes sensibilizados a 5 o más alérgenos resultó ser de un 21,5%²⁹³.

Las **sensibilizaciones concomitantes** más frecuentes resultaron ser a polen de gramíneas (63,9%) y a polen de olivo (59%), datos que coinciden con un estudio previo realizado en Turquía en pacientes con prueba cutánea positiva a *Cupressus sempervirens* donde la co-sensibilización más frecuente fue a polen de gramíneas (86%) seguida del polen de olivo (72%)²⁰². Además, estos resultados van en consonancia con lo descrito a nivel nacional sobre las características clínicas de la población que acude a las consultas de alergología realizado en 2005 donde se observó que los pólenes más frecuentemente implicados en la rinitis alérgica eran los pólenes de gramíneas (24,8%) y de olivo (29,7%)³⁴.

En el **estudio estadístico sobre la asociación entre pruebas cutáneas a pólenes** se observó que tanto los niños como los adultos sensibilizados a polen de *Cupressaceae* presentan mayor probabilidad de estar sensibilizados a otros pólenes, tanto de árboles como de malezas, datos que coinciden con estudios previos¹⁷³ y se deben tanto a fenómenos de co-sensibilización como de reactividad cruzada.

En cuanto a fenómenos de co-sensibilización se ha descrito que es bastante común entre polen de gramíneas, olivo, *Parietaria judaica*, Plantago, *Artemisia* y *Chenopodiaceae*²⁹⁴. Se ha demostrado reactividad cruzada parcial entre polen de plátano de sombra, de gramíneas (*Lolium perenne*) y de olivo en pacientes polisensibilizados, pero no en pacientes monosensibilizados a polen de plátano de sombra. Se ha demostrado cierta reactividad cruzada entre el polen de plátano de sombra y el polen de *Cupressaceae*, debido a la presencia de poligalacturonasas⁵⁴. Se ha descrito una elevada reactividad cruzada mediante estudios de inhibición con ELISA entre pacientes alérgicos a polen de plátano de sombra y el polen de gramíneas²⁹⁵. También se ha demostrado que la enzima beta-galactosidasa del polen de olivo presenta reactividad cruzada con la beta-galactosidasa del polen de ciprés (*Cupressus arizonica* y *Cupressus sempervirens*), pero

que esta actividad se perdería en el momento del almacenamiento de los granos de polen y no estaría presente en los extractos disponibles para diagnóstico o tratamiento²¹⁹. Por último, en un estudio realizado en Santiago de Compostela sobre una población mayoritariamente sensibilizada a los ácaros del polvo se demostró una mínima interferencia de los CCD, detectada mediante el marcador MUXF3, en el diagnóstico de la alergia respiratoria²⁹⁶.

En el presente estudio, la elevada polisensibilización de la muestra se explicaría más por fenómenos de co-sensibilización que de reactividad cruzada posiblemente debido a una mayor presión alérgica de los ácaros del polvo que de los pólenes.

DETERMINACIÓN DE IGE TOTAL

Tal como era de esperar no se encontraron diferencias significativas en el valor de **IgE total** entre los pacientes sensibilizados o no al polen de *Cupressaceae*. Estos datos concuerdan con los descritos anteriormente para pacientes polisensibilizados. Sin embargo, tanto Ramírez como Bousquets detectaron que los pacientes monosensibles a *Cupressaceae* presentaban valores de IgE total normales o bajos comparados con los pacientes polisensibilizados^{200,203}. Dado el bajo número de monosensibles a *Cupressaceae* en la muestra del estudio, este hallazgo no se ha podido replicar.

DETERMINACIÓN DE IgE ESPECÍFICAS

En cuanto a los valores de **IgE específica sérica a los diferentes extractos de polen de *Cupressaceae***, en adultos, la sensibilidad de los métodos *in vitro* para detectar la IgE específica es superior para *Juniperus ashei* con respecto a *Cupressus arizonica* y *Cupressus sempervirens*, coincidiendo con otros autores^{187,215,297}. Sin embargo en niños, no se observaron diferencias significativas entre las determinaciones de IgE específica a *Juniperus ashei* y de *Cupressus arizonica*.

En cuanto a la **sensibilidad y especificidad** de cada una de las IgE específicas a los diferentes pólenes de *Cupressaceae* probados los datos obtenidos en este estudio no coinciden con la sensibilidad (91,7%) y especificidad (80,4%) de la IgE específica de *Cupressus arizonica* demostrada por el fabricante de la técnica de CAP para un punto de corte de 0.35 kU/l y tampoco para un punto de corte más óptimo propuesto por Cabrera-Freitag et al. en población alérgica a polen de cipres con prueba cutánea positiva a *Cupressus arizonica* de 0.66 kU/l (S=91,7%, E=89,1%)²⁹⁸. La explicación de estas discordancias podría deberse a las características de las diferentes poblaciones. En los estudios publicados los valores de sensibilidad y especificidad se calculan en muestras de pacientes alérgicos monosensibilizados u oligosensibilizados al polen de *Cupressaceae*, mientras que en el presente estudio la población estudiada se encuentra mayoritariamente polisensibilizada.

Por tanto, en esta población se han detectado unos valores de corte superiores a los descritos en estudios previos realizados con pacientes monosensibilizados, además de presentar una sensibilidad y especificidad menor.

DETERMINACIÓN DE IgE ESPECÍFICAS A ALÉRGENOS INDIVIDUALES DE CUPRESSACEAE

Los resultados de **sensibilidad y especificidad** de Cup a 1 en este estudio son relativamente bajos para un punto de corte de Cup a 1 alto comparado con lo publicado anteriormente. Cabrera-Freitag et al. realizaron un estudio en 2011 en 104 pacientes alérgicos a polen de *Cupressus arizonica* donde para un punto de corte de 0.82 ISU-E, la sensibilidad de Cup a 1 era de un 91,7% y la especificidad de un 95,6%²⁹⁸. Es probable que la discrepancia de resultados radique, de nuevo, en las características de las muestras. En este estudio los pacientes están polisensibilizados, mientras que en el estudio de Cabrera-Freitag los pacientes incluidos eran en su mayoría monosensibles al polen de *Cupressaceae*.

Respecto a Cry j 1, la sensibilidad y especificidad para un punto de corte de 0.9 ISU-E fue del 60% en nuestra muestra. Este el primer resultado analizado hasta la fecha sobre Cry j 1, por lo que no se ha podido contrastar con estudios previos en población española.

Los resultados de este estudio sugieren que los valores de corte de 0.3 ISU-E propuestos por el fabricante de la micromatriz ImmunoCAP-ISAC® tanto para Cup a 1 como para Cry j 1 detectarían sensibilización pero son insuficientes para detectar alergia clínicamente relevante en población polisensibilizada. En base a los resultados obtenidos recomendaría en poblaciones polisensibilizadas como la del estudio, aumentar el punto de corte a 0,9 ISU-E para Cry j 1 y a 6,9 ISU-E para Cup a 1 para aumentar la sensibilidad y especificidad, por otro lado, inferiores al 70%.

En conclusión, las pruebas analíticas para determinación de IgE específica sérica a componentes individuales no son útiles para predecir alergia clínicamente relevante por polen de *Cupressaee* y es necesaria una sintomatología clínica compatible y/o la realización de pruebas de provocación específicas para un adecuado diagnóstico alérgico.

PERFILES MOLECULARES DE LA MUESTRA EN ESTUDIO

En adultos, las **co-sensibilizaciones** más frecuentes por orden decreciente fueron a los marcadores de sensibilización genuina de polen de gramíneas (Phl p 1), polen de olivo (Ole e 1), epitelio de gato (Fel d 1) y polen de plátano de sombra (Pla a 1/Pla a 2). En niños fueron a gato y a polen de gramíneas, polen de olivo, ácaros (alérgenos del grupo 1) y perro (Can f 5). Estos datos concuerdan con los resultados del estudio de la Red Europea Global de Alergia y Asma (GA²LEN) sobre una muestra de 3451 participantes de entre 18 y 75 años en 13 zonas europeas, donde se comprueba que la sensibilización a los ácaros del polvo, polen de gramíneas, epitelio de gatos y perros son las más frecuentes²⁹⁹.

Sin embargo, el perfil de sensibilización de nuestra muestra es diferente al descrito en población del centro de la península en 187 niños donde la sensibilización más frecuente fue a Phl p 1 (46%), Ole e 1 (36,4%), Cup s 1 (20,9%), Alt a 1 (19,8%), Phl p 5 (19,33%)

y Cyn d 1 (17,7)²⁷⁴. Estos datos vienen a reforzar la necesidad de conocer los perfiles de sensibilización local, ya que varían en función de las zonas geográficas y en función de los diferentes niveles de exposición a pólenes.

En este estudio la sensibilización detectada en prueba cutánea para *Alternaria alternata* fue de un 19,5% en adultos y de un 24 % en niños. Sin embargo solo se detectó el alérgeno principal Alt a 1 en el 15,3% de los casos. Estos datos concuerdan con lo descrito por Nieto et al. donde el 3,1% de los pacientes con prueba cutánea positiva e IgE positiva a *Alternaria alternata* son negativos para Alt a 1, indicando que otros alérgenos de *Alternaria alternata* como Alt a 6 o 9 pueden ser importantes en una proporción de pacientes³⁰⁰.

Siguiendo en la línea de los perfiles de sensibilización local, a diferencia de otras áreas geográficas de España, como Madrid o Toledo³⁰¹, la sensibilización a **profilinas y polcalcinas** de la muestra del presente estudio ha sido muy baja y solo podría explicar una pequeña proporción de las polisensibilizaciones encontradas.

La frecuencia de sensibilización a profilinas de nuestra muestra ha sido del 8,5% mientras que la de LTP es alta (26,6%) en comparación con estudios previos como el realizado en Madrid sobre 430 pacientes no seleccionados con enfermedades alérgicas donde encontraron que el 12,1% se encontraban sensibilizados a profilina y el 12,3% a LTP³⁰². En Italia, Asero y colaboradores, detectaron un 20% de positividades a profilina y un 8% de positivos a polcalcina en 200 pacientes polínicos polisensibilizados⁶⁷. También en Italia se han detectado un 39% de sensibilizaciones a profilina y/o polcalcina en pacientes con pruebas cutáneas positivas a *Cupressus arizonica*²⁷⁶.

Los resultados de este estudio coinciden sin embargo con lo descrito en otras áreas geográficas como Murcia, donde Huertas y colaboradores detectaron un 5,9% de pacientes polínicos sensibilizados a profilina³⁰³. Este dato se puede explicar porque tanto Murcia como la zona geográfica del estudio son de elevada presión alérgica respecto a los ácaros del polvo y de baja presión alérgica respecto a los pólenes.

En el análisis de las diferentes profilinas disponibles para determinación de IgE específica se observó que un 2,12% de los pacientes sensibilizados, tenían resultados positivos para

Bet v 2, Hev b 8 y Mer a 1 sin positividad a Phl p 12, lo que apoya la hipótesis de que Hev b 8 y Mer a 1 en la micromatriz ISAC son los alérgenos más sensibles para detectar la sensibilización a profilinas²²⁰.

El hecho de que la frecuencia de sensibilización a profilinas sea baja en este estudio está en relación con (i) la fuente alérgica, (ii) los niveles de exposición y (ii) el área geográfica³⁰⁴. La sensibilización al polen de gramíneas explica un elevado porcentaje de positividad a profilina, por lo que en las áreas geográficas con mayor prevalencia de alérgicos a polen de gramíneas pueden presentar una mayor prevalencia de sensibilización a éste panalérgeno.

Las polcalcinas son responsables de reactividad cruzada entre pólenes, pero no están implicadas en fenómenos de Rc con alimentos vegetales²⁵⁸. Se ha demostrado que las polcalcinas de pólenes de ciprés comparten epítomos con polcalcinas del polen de gramíneas y polen de betuláceas y que presentan homología con polcalcinas del polen de olivo y de gramíneas²¹³. La sensibilización a polcalcina en el presente estudio es baja (5,3%) por lo que podría deducirse que los fenómenos de reactividad cruzada debidos a Rc entre polcalcinas de pólenes están poco presentes en la población estudiada.

La sensibilización a polen de olivo es mayoritariamente debida a sensibilización genuina, con un 50% de los adultos de la muestra estudiada sensibilizados a Ole e 1. La sensibilización a moléculas relacionadas con Ole e 1 (*Ole e 1-like*) como Phl p 11, Che a 1 o Pla l 1 resultó muy inferior, no superando el 20% y es probable que fuera debida a un fenómeno de Rc por sensibilización primaria a polen de olivo. Aproximadamente una cuarta parte de los pacientes sensibilizados a Cup a 1 (el 26,4% de los adultos y el 22,2% de los niños) estaban también sensibilizados a Ole e 1 nativo purificado. Teniendo ambos alérgenos un alto contenido en CCD (*CCD bearing proteins*) no puede excluirse algún fenómeno de Rc debido a CCD, hipótesis que no se pudo confirmar porque no se realizaron ensayos de inhibición.

En este estudio se detecta un porcentaje bajo de sensibilización a Bet v 1, lo que concuerda con que en el Vallés occidental no se detecta apenas polen de abedul, ni de especies que presenten alérgenos homólogos de Bet v 1. Estos datos son diferentes a lo descrito en diferentes regiones de Italia con elevada exposición a polen de abedul, donde detectan un

predominio de alérgenos homólogos de Bet v 1, seguido de positividades a LTP y profilinas³⁰⁵.

La sensibilización a la poligalacturonasa de polen de plátano de sombra, Pla a 2, fue del 34,6%, prácticamente el doble de lo descrito en población centroeuropea con polinosis (15,5%)²⁷⁷. Este hecho puede ser debido tanto a una sensibilización genuina a polen de platanus, en una región con alta carga de exposición, como a fenómenos de reactividad cruzada con poligalacturonasa de *Cupressaceae*²⁴⁹, o con proteínas portadoras de CCD.

Los determinantes carbohidratados (CCD) son epítomos glucídicos responsables de reactividad cruzada entre diferentes familias de proteínas. Actualmente, dentro de la micromatriz comercial ISAC sólo se incluye MUXF-3 como marcador de sensibilización a CCD, pero hay que tener en cuenta que los alérgenos con alto contenido en glicoproteínas (*CCD bearing proteins*) que se encuentran en forma nativa purificada en dicha micromatriz también pueden constituir marcadores relevantes de sensibilización a CCD y no a la parte proteica del alérgeno.

La utilización de MUXF3 como único marcador de sensibilización a CCD es poco sensible, su negatividad no descarta la totalidad de los marcadores a determinantes carbohidratados^{306,307} ya que sólo identifica una de las estructuras más comunes de N-glicanos presentes en los pólenes. En el presente estudio el porcentaje de sensibilización a MUXF3 fue menor que el de todas las *CCD-bearing proteins* analizadas, con valores (6,3%) muy similares a los descritos en población española con polinosis (5,6%)²⁹⁶.

La prevalencia de sensibilización a los CCD varía según la población estudiada. Varios estudios han descrito una prevalencia de sensibilización entre el 20 y el 37% de los pacientes con alergia a polen de gramíneas y a venenos de himenópteros⁵⁷. La prevalencia a CCD varía de pacientes no alérgicos a pacientes alérgicos no polínicos^{296,308} y pacientes polínicos, aumentando en pacientes polisensibilizados (71%)³⁰⁸.

La sensibilización a CCD carece de expresión clínica^{61,309,310}. En el caso de la muestra estudiada destaca que ninguno de los pacientes sensibilizados a Jug r 2, alérgeno nativo purificado que forma parte de las *CCD-bearing proteins*, tenía síntomas con la ingesta de nuez lo que viene a apoyar lo descrito anteriormente por Villata y cols³¹¹. Una

comunicación reciente de López Salgueiro y colaboradores³¹² apuntaba que Jug r2 podría ser mejor marcador de sensibilización a CCD.

En el caso de sensibilización a pólenes, observamos que un porcentaje importante de pacientes con sensibilización a Pla a 2 no reconocían el otro alérgeno especie-específico de platanus, Pla a 1, lo que podría deberse a una sensibilización a CCD sin relevancia clínica y no una sensibilización genuina a polen de platanus. Se requerirán estudios con pruebas de provocación y ensayos de inhibición para verificar esta hipótesis.

Los pacientes de la muestra sensibilizados a polen de ciprés pero sin síntomas con la exposición tenían globalmente un mayor porcentaje de sensibilización a alérgenos de la familia de las CCD bearing proteins que los pacientes con síntomas, aunque la diferencia entre ambos grupos sólo alcanzó significación estadística para los alérgenos Ole e 1 y Jug r 2.

Respecto a la reactividad cruzada entre los alérgenos principales de polen de *Cupresaceae*, en un estudio sobre población italiana sensibilizada a polen de ciprés se realizaron ensayos de inhibición que demostraron que la sensibilización a alérgenos del polen de ciprés (Cup a 1) es primaria, que presenta una elevada reactividad cruzada con Jun a 1 debido a su elevada homología (91%), una reactividad cruzada limitada con Cry j 1 debido a una identidad de secuencia de solo el 75% y una nula reactividad cruzada con el polen de Artemisia⁵². En nuestro estudio todos los pacientes sensibilizados a Cry j 1 lo estaban también a Cup a 1 lo que está en consonancia con la elevada reactividad cruzada descrita entre ambos alérgenos. A pesar de que no se pudo determinar la presencia de IgE específica a Jun a 1, el hecho de que el 96% de los pacientes con prueba cutánea positiva a extracto de *Juniperus ashei* estuviera también sensibilizado por prueba cutánea a *Cupressus arizonica* apoya también la elevada Rc entre los alérgenos principales de ambas fuentes. El bajo grado de sensibilización al alérgeno individual de polen de Artemisia Art v 1 (3,77% en adultos y 7,69% en niños) también está en consonancia con la nula Rc entre el polen de ciprés y de Artemisia³¹³.

En la población estudiada se detectó que casi una cuarta parte de pacientes con alergia a alimentos estaban sensibilizados a LTP (24%), lo que esta en concordancia con un estudio

previo realizado en Madrid en 2011 donde el 37% de los pacientes sensibilizados a LTP refieren síntomas en relación con alimentos vegetales³⁰².

Asimismo se detectó un elevado porcentaje de positividades a proteínas de almacenamiento de semillas (14,8%), de los que casi una tercera parte (28,5%) presentaban alergia alimentos. Se puede concluir que en la población estudiada, la alergia a alimentos se asocia mayormente a positividad a LTP y/o proteínas de almacenamiento de semillas y no a la sensibilización a profilinas.

Al contrario de en otras regiones como la zona centro de Europa, donde la elevada frecuencia de polisensibilización se debe a fenómenos de Rc por sensibilización a panalérgenos⁹⁴, en nuestra muestra parece deberse a co-sensibilización genuina a diferentes fuentes alérgicas más que a fenómenos de reactividad cruzada. Así lo apoyan la escasa frecuencia de sensibilización a los panalérgenos más frecuentemente involucrados en fenómenos de reactividad cruzada en pacientes polínicos (profilina, polcalcina, homólogos de Bet v 1) y una baja presencia de sensibilización a alimentos vegetales³¹⁴. La diferente carga de exposición a pólenes influye notablemente en los perfiles de sensibilización molecular, conocer el perfil local en nuestra zona es de especial importancia tanto para la interpretación de los estudios diagnósticos como para la indicación de tratamientos específicos.

PRUEBA NASAL ESPECÍFICA CON POLEN DE JUNIPERUS ASHEI

Se ha sugerido que la prueba nasal específica correlaciona mejor con los síntomas nasales que las pruebas cutáneas en el caso del diagnóstico de la rinitis alérgica, pero su utilización no es factible en la práctica clínica habitual ya que son pruebas que requieren mucho tiempo y dedicación³¹⁵.

Estudios previos han descrito una buena correlación entre la historia clínica, las pruebas cutáneas, las IgE específicas²⁷³, la prueba nasal específica (PNE)³¹⁶⁻³²⁰ y la provocación conjuntival específica³²⁰. Pero no es igual para todos los pólenes. La combinación de la historia clínica con unas pruebas cutáneas e IgE específicas positivas a polen de abedul son suficientes para el diagnóstico de alergia a polen de abedul considerándose las

pruebas de provocación inecesarias³²⁰. En el caso del polen de gramíneas la historia clínica, las pruebas cutáneas y las IgE específicas positivas a polen de gramíneas (*Phleum pratense*) no discriminan entre la alergia clínicamente relevante y la clínicamente silente, precisando realizar una PNE para llegar a un diagnóstico preciso³²⁰. Así, Petersson et al. encontraron un 9% de PNE negativas en pacientes con historia clínica, prueba cutánea e IgE específica positivas a polen de *Phleum pratense*, similar a la encontrada en el presente estudio con polen de *Juniperus ashei* (11,1% de PNE negativas)³²⁰.

En el caso de *Taxodiaceae*, se ha demostrado que la prueba cutánea positiva a polen de *Taxodium distichum* predice una positividad en la prueba nasal específica en el 71% de los casos¹⁶⁷.

Las pruebas de provocación nasal específica se realizaron con el extracto del polen de *Juniperus ashei* debido a que: (1) su alérgeno mayor Jun a 1 presenta una elevada reactividad cruzada (75-90% de homología) con el alérgeno mayor de *Cupressus arizonica* Cup a 1²²¹, (2) porque es un alérgeno estandarizado²⁸⁷, mientras que los de *Cupressus* no y, (3) finalmente, debido a su elevada potencia alérgica²⁸⁶. Fueron realizadas con dos protocolos de concentraciones diferentes (1,10 y 100 IR y 0.01,0.1 y 1 IR) para disminuir la posibilidad de falsos positivos en el caso de estar aplicando una alta concentración del extracto alérgico.

Se observó que la prueba de provocación nasal específica con polen de *Juniperus ashei* tiene una elevada sensibilidad (100%) pero una muy baja especificidad (15%) excepto para la concentración de 1 IR (sensibilidad del 50% y especificidad del 69%). Esta baja especificidad puede ser debida a que un elevado número de pacientes estaban polisensibilizados, pudiendo no ser realmente “alérgicos” (sensibilización sin expresividad clínica) al polen de ciprés.

En los estudios sobre rinitis alérgica se ha descrito una presencia de hiperreactividad nasal inespecífica elevada (63%)³²¹, lo que va en consonancia con el resultado de las PNE en este estudio, donde la positividad al suero fisiológico ocurrió en el 25% de las pruebas realizadas.

De hecho, se han descrito una serie de limitaciones de la PNE, entre las que destacan: (1) la hiperreactividad nasal inespecífica presente en pacientes con rinitis alérgicas y no alérgicas³²¹, (2) el conservante presente en los extractos que también puede dar lugar a resultados falsamente positivos, (2) existe poca estandarización y reproducibilidad de la prueba con algunos extractos alergénicos y (3) el modo de exposición al alérgeno no es natural, pues es aplicado directamente en la nariz a concentraciones muy altas en poco tiempo³²².

En este estudio, la realización de la PNE presentó y la interpretación de los resultados se ven afectados por los siguientes problemas: (1) la muestra final de pacientes al que se realizó la PNE era pequeña, y (2) el extracto alergénico utilizado (Jun a 1 purificado) puede no representar al alérgeno nativo pues es predominantemente monomérico, pudiendo comportar una reactividad clínica diferente³²³.

En definitiva, a pesar de las recomendaciones de guía clínica de incluir la PNE como método diagnóstico no se ha podido demostrar su utilidad en este estudio probablemente debido las limitaciones comentadas y probablemente debido a la elevada polisensibilización de la población estudiada.

RECUEENTOS POLÍNICOS DE *CUPRESSACEAE*

Los recuentos de polen identifican los tipos de polen presentes en la atmósfera, y que por tanto, pueden desencadenar síntomas alérgicos en una determinada área local. Los calendarios polínicos sirven para establecer la duración e intensidad de las estaciones polínicas locales³²⁴. En el caso del polen de *Cupressaceae* no es posible distinguir entre géneros, especies o familias, en base a la morfología del polen^{132,135,156} y estos pólenes se identifican al microscopio como *Cupressaceae-Taxaceae*¹³².

Los niveles de polen de *Cupressaceae-Taxaceae* en la atmósfera durante el año 2011 se ajustaron a las estacionalidad media de la polinización, es decir, no se detectó una adelanto ni un retraso en la polinización de *Cupressaceae-Taxaceae*. También se observa

que se alcanzaron máximos absolutos en las concentraciones polínicas en el mes de febrero de 2011 (Figura 33).

Aunque de forma global se considera que los recuentos polínicos son de gran utilidad para interpretar la relación entre la sensibilización y los síntomas de alergia, no siempre existe correlación absoluta entre los recuentos de polen atmosféricos y la expresividad clínica, así como tampoco la hay entre los recuentos polínicos y la frecuencia de sensibilización a pólenes³²⁵. La falta de correlación se debe a varios factores:

- 1) la gravedad de la polinosis es variable de unos pacientes a otros.
- 2) muchos pacientes son alérgicos a múltiples especies que florecen y polinizan al mismo tiempo.
- 3) el efecto “priming” o de cebado en el que el umbral de respuesta de la mucosa nasal y bronquial disminuye a medida que avanza la estación polínica, de manera que cada vez es necesaria una exposición al alérgeno menos intensa para desencadenar síntomas¹⁰⁴.
- 4) las concentraciones de pólenes obtenidas dependen de la localización de los captadores de polen. En zonas cercanas a la fuente polínica los recuentos de polen pueden exceder a los registrados en las estaciones captadoras³²⁶.
- 5) la exposición humana a los pólenes varía dependiendo de la actividad¹¹⁰ (cortar el césped, trabajar en lugares climatizados y cerrados, etc).
- 6) la presencia de partículas alérgicas de pequeño tamaño puede provocar que los pacientes más sensibles inicien los síntomas de alergia hasta dos semanas antes del inicio de la polinización detectable¹²⁷.
- 7) los niveles de polen atmosférico necesarios para desencadenar síntomas son variables de un polen a otro. Por ejemplo 50 granos de polen/m³ para los pólenes de gramíneas³²⁷ y 400 granos de polen/m³ para el polen de olivo³²⁸.
- 8) la concentración de los aeroalérgenos específicos puede ser independiente de los recuentos del polen de donde proceden, como se ha demostrado para el polen de *Platanus acerifolia* donde las concentraciones de la proteína Pla a 1 no siguen la misma distribución que las concentraciones de polen²⁹⁴.

En el caso concreto de la polinización de *Cupressaceae-Taxaceae* en el año 2011 se puede observar una buena relación entre los recuentos polínicos y la presencia de sintomatología compatible con el polen de ciprés, lo que permitió establecer un patrón oro. Se observa en la gráfica con doble eje (Figura 35) que no hay superposición polínica de envergadura que pueda solaparse a la polinización de *Cupressaceae-Taxaceae*. Los recuentos polínicos de *Fraxinus*, *Corylus* y *Urticaceas* son inferiores a 20 granos de polen/m³ mientras que los recuentos de polen de *Cupressaceae-Taxaceae* están por encima de los 100 a 200 granos de polen/m³ la gran mayoría de días excepto un día en febrero (día 28) y 13 días de marzo de 2011 (Anexo 6).

CALENDARIO DE SÍNTOMAS

Los pacientes incluidos en este estudio no fueron monitorizados sino que siguieron la rutina de la práctica clínica habitual en una consulta externa de un Hospital, donde el porcentaje de no presentados en primeras visita y visitas de seguimiento es elevado. Por ello el seguimiento de la sintomatología de los pacientes de una manera objetiva se alcanzó en menos del 50% de los pacientes.

En base al modelo de polinización de *Juniperus ashei*, se requieren por lo menos 3 días consecutivos de 50 granos/m³ para la aparición de síntomas suficientes de alergia, pero no excesivos³²⁹. Así que, en base al calendario polínico del polen de *Cupressaceae* en 2011, se consideró que los pacientes con síntomas por polen de *Cupressaceae* eran aquellos que presentaron síntomas compatibles con alergia respiratoria los meses de enero o febrero y marzo de 2011, pero no aquéllos que iniciaban la sintomatología en marzo, pues en marzo inician la polinización otras especies relevantes como *Parietaria judaica*, el pino o el fresno.

El 74% de la muestra no presentó síntomas durante la temporada de polinización de *Cupressaceae*, y de los que sí presentaron síntomas, la mayoría fueron en forma de rinoconjuntivitis (16%) y rinitis (9%). Este hecho pone de manifiesto la relevancia de la sensibilización asintomática en esta población.

Este porcentaje de pacientes sensibilizados sin síntomas de alergia es superior a estudios previos. En general, se había descrito que alrededor del 43% de los pacientes con una IgE positiva a alérgenos inhalados no presentaban síntomas respiratorios³³⁰. En el caso del ciprés, se ha detectado que solamente entre un 36,5% y un 46,4%^{281 175 331} de pacientes con IgE específica positiva y prick test positivo presentan síntomas. En población pediátrica, en una cohorte de 651 niños con rinitis alérgica por pólenes se vió que mientras el 96% de los sensibilizados a polen de gramíneas presentaban síntomas de alergia, solo el 64% de los pacientes sensibilizados a polen de *Cupressus arizonica* presentaban síntomas durante la estación polínica²⁷⁶. De nuevo, este hecho podría explicarse por la elevada polisensibilización de la muestra tanto en niños como en adultos lo que provoca que los pacientes consulten al médico por síntomas relacionados con otros pólenes antes de aparecer la sintomatología por polen de *Cupressaceae*, y que por lo tanto, a pesar de constatarse sensibilización, esta se halla en una fase preclínica o se trata de una sensibilización sin expresividad clínica (sensibilización inocente).

Se demuestra que la mayoría de las sensibilizaciones a polen de ciprés en la muestra del estudio son asintomáticas, por lo que son pacientes sensibilizados no alérgicos. En cuanto a la expresividad clínica, destaca la rinoconjuntivitis persistente moderada y la casi ausencia de asma, lo que coincide con publicaciones anteriores^{203,281,332}. Posteriormente, un estudio francés mostró que la alergia a ciprés se caracteriza por una alta prevalencia de tos seca y una baja prevalencia de conjuntivitis en comparación con los pacientes alérgicos a polen de gramíneas³³³. Sin embargo en este estudio la tos espasmódica representa solamente un 1% de la sintomatología total.

Se han propuesto varios factores para explicar la diferencia entre pacientes sensibilizados asintomáticos y pacientes alérgicos: la historia familiar de atopia, los niveles de IgE, IgE específica e IgG, el grado de policlonalidad de los epítomos específicos de la IgE, factores serológicos todavía no identificados, el equilibrio de las células T reguladoras y las células Th1/Th2, los polimorfismos del receptor de alta afinidad de la IgE y otros factores que regularían su actividad en las células³³⁴. En este sentido se ha comprobado en la población estudiada que los valores de las IgE específicas a los diferentes extractos probados de polen de *Cupressaceae* y a los alérgenos moleculares son más elevados en

los pacientes alérgicos que en los pacientes asintomáticos de forma significativa (Tabla 19) y que no se encuentran diferencias en cuanto a los antecedentes familiares de atopía.

Otro factor sería el nivel de exposición de los pacientes al polen, ya que en áreas con elevada exposición a alérgenos del polen aumenta el riesgo de desarrollar rinitis alérgica¹⁷⁰, aumentan los niveles de IgE específica³³⁵ y se facilita la sensibilización a alérgenos menores y la tolerancia hacia alérgenos principales. Además, esto tiene implicaciones en los patrones de reactividades cruzadas detectados en los pacientes³³⁶.

Las recomendaciones derivadas de este estudio para la práctica clínica serían: realizar el diagnóstico *in vivo* de la sensibilización a polen de ciprés con 2 extractos (*Cupressus arizonica* y *Juniperus ashei*) para aumentar la sensibilidad, realizar determinaciones *in vitro* de las IgE específicas a polen de *Cupressus arizonica*, del alérgeno individual Cup a 1 y de los alérgenos considerados *CCD bearing-proteins* como Phl p 4, Pl a 2 o Jug r 2. Por último, a pesar de la baja especificidad mostrada, se puede plantear la realización de pruebas de PNE en los casos en los que la sintomatología clínica y los resultados *in vitro* no concluyan el diagnóstico.

Para finalizar, aunque esta tesis es básicamente descriptiva, contribuye a valorar de forma crítica las herramientas disponibles para el diagnóstico clínico de la alergia a polen de *Cupressaceae* en nuestra área de estudio.

CONCLUSIONES

Los resultados de la presente tesis permiten concluir que:

1- La incidencia anual de la sensibilización a polen de *Cupressaceae*, por pruebas cutáneas, en la población del Vallés Occidental con sintomatología compatible con alergia respiratoria es de un 15,1%.

2- Los pacientes sensibilizados a polen de ciprés del estudio se caracterizaron por ser mayoritariamente asintomáticos, presentar una elevada frecuencia de polisensibilización, una predominancia del género masculino en la población pediátrica y un tiempo de exposición al polen de ciprés prolongado para desarrollar la sensibilización.

El perfil de sensibilización a alérgenos individuales reveló que los pacientes estaban mayoritariamente sensibilizados a Cup a 1 y Cry j 1 y que la polisensibilización era principalmente a expensas de sensibilización genuina a otras fuentes polínicas. La sensibilización a profilinas y polcalcinas fue baja.

3- Las pápulas inducidas por extracto de polen de *Cupressus sempervirens* son inferiores a las inducidas por *Cupressus arizonica* y *Juniperus ashei* y, en adultos, el extracto de *Cupressus arizonica* induce pápulas mayores que *Juniperus ashei*.

4- La sensibilidad y especificidad de las concentraciones de IgE específicas a los diferentes extractos probados y alérgenos moleculares es inferior al 70% en la población estudiada.

5- La prueba de provocación nasal específica con polen de *Juniperus ashei* tiene una elevada sensibilidad pero una muy baja especificidad excepto para la concentración de 1 IR en la población estudiada.

ANEXOS

ANEXO 1 : Consentimiento informado para pacientes.

FORMULARIO DE INFORMACIÓN

(Ejemplar para el paciente)

Apreciado/a Sr/a:

Nos gustaría invitarle a participar en el estudio “Prevalencia de la sensibilización a polen de ciprés en el Vallés Occidental” que se está realizando en el Hospital de Terrassa.

El estudio se llevará a cabo mediante recogida de los datos del estudio Alergológico que se realice a los pacientes con sintomatología respiratoria sugestiva de alergia a pólenes.

El estudio de la alergia respiratoria consiste en la realización de unas pruebas en la piel, unos análisis, radiografías y unas pruebas de exposición conjuntival y/o nasal, si es preciso, para decidir el tratamiento de la alergia.

Si usted está de acuerdo en participar, tiene que firmar el consentimiento informado.

Si tras leer esta información y hablar con el equipo médico, no desea participar en el estudio, su decisión no afectará en modo alguno a la atención médica que usted reciba.

La información recogida en el estudio será totalmente confidencial, siendo sólo comunicable al equipo médico que le atiende. Sus respuestas se introducirán en una base de datos protegida que imposibilitará su identificación mediante un sistema de disociación, de acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal.

HOJA DE CONSENTIMIENTO POR ESCRITO

Título del estudio: "Prevalencia de la sensibilización a polen de ciprés en el Vallés Occidental".

Yo,

He leído la hoja de información al paciente que se me ha entregado.

He podido realizar preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mi atención médica.

Doy libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fecha

Firma del participante

Firma del investigador principal

ANEXO 2 : Componentes alérgicos en el ImmunoCAP ISAC112®.

ImmunoCAP ISAC 112 Componentes alérgicos			
Componente alérgico	Fuente del alérgeno		
	NOMBRE COMÚN	NOMBRE LATINO	GRUPO PROTEICO
Alérgenos Alimentarios			
nGal d 1	Clara de huevo	<i>Gallus domesticus</i>	Ovomucoide
nGal d 2	Clara de huevo	<i>Gallus domesticus</i>	Ovoalbúmina
nGal d 3	Clara de huevo	<i>Gallus domesticus</i>	Conalbúmina/Ovotransferrina
nGal d 5	Yema de huevo/Pollo	<i>Gallus domesticus</i>	Livetina/Albúmina sérica
nBos d 4	Leche de vaca	<i>Bos domesticus</i>	Alfa-lactoalbúmina
nBos d 5	Leche de vaca	<i>Bos domesticus</i>	Beta-lactoglobulina
nBos d 6	Leche de vaca/Tenera	<i>Bos domesticus</i>	Albúmina sérica
nBos d 8	Leche de vaca	<i>Bos domesticus</i>	Caseína
nBos d lactoferrin	Leche de vaca	<i>Bos domesticus</i>	Transferrina
rGad e 1	Bacalao	<i>Gadus callarias</i>	Parvalbúmina
nPen m 1	Gamba	<i>Penaeus monodon</i>	Tropomiosina
nPen m 2	Gamba	<i>Penaeus monodon</i>	Arginina quinasa
nPen m 4	Gamba	<i>Penaeus monodon</i>	Proteína de unión a calcio
rAna 02	Anacardo	<i>Anacardium occidentale</i>	Proteína de almacenamiento, 11S globulina
rBer e 1	Nuez de Brasil	<i>Bertholletia excelsa</i>	Proteína de almacenamiento, 2S albumina
rCor a 1.0401	Avellana	<i>Corylus avellana</i>	PR-10
rCor a 8	Avellana	<i>Corylus avellana</i>	LTP
nCor a 9	Avellana	<i>Corylus avellana</i>	Proteína de almacenamiento, 11S globulina
nJug r 1	Avellana	<i>Juglans regia</i>	Proteína de almacenamiento, 2S albumina
nJug r2	Avellana	<i>Juglans regia</i>	Proteína de almacenamiento, 7S globulina
nJug r 3	Avellana	<i>Juglans regia</i>	L TP
nSes i 1	Sésamo	<i>Sesamum indicum</i>	Proteína de almacenamiento, 2S albumina
rAra h 1	Cacahuete	<i>Arachis hypogaea</i>	Proteína de almacenamiento, 7S globulina
rAra h 2	Cacahuete	<i>Arachis hypogaea</i>	Proteína de almacenamiento, Conglutina
rAra h 3	Cacahuete	<i>Arachis hypogaea</i>	Proteína de almacenamiento, 11S globulina
nAra h 6	Cacahuete	<i>Arachis hypogaea</i>	Proteína de almacenamiento, Conglutina
rAra h 8	Cacahuete	<i>Arachis hypogaea</i>	PR-10
rAra h 9	Cacahuete	<i>Arachis hypogaea</i>	LTP
rGlym4	Soja	<i>Glycinemax</i>	PR-10
nGlym 5	Soja	<i>Glycinemax</i>	Proteína de almacenamiento, Beta-conglicina
nGly m 6	Soja	<i>Glycinemax</i>	Proteína de almacenamiento, Glicina
nFag e 2	Alforfón	<i>Fagopyrum esculentum</i>	Proteína de almacenamiento , 2S albúmina
rTri a 14	Trigo	<i>Triticum aestivum</i>	L TP
rTri a 19.0101	Trigo	<i>Triticum aestivum</i>	Omega-5 gliadina
nTri a ATI	Trigo	<i>Triticum aestivum</i>	
nAct d 1	Kiwi	<i>Actinidia deliciosa</i>	
nActd 2	Kiwi	<i>Actinidia deliciosa</i>	Taumatina

nActd 5	Kiwi	<i>Actinidia deliciosa</i>	
rAct d 8	Kiwi	<i>Actinidia deliciosa</i>	PR-10
rApi g 1	Apio	<i>Apium graveolens</i>	PR-10
rMal d 1	Manzana	<i>Malus domestica</i>	PR-10
rPru p 1	Melocotón	<i>Prunus persica</i>	PR-10
rPru p 3	Melocotón	<i>Prunus persica</i>	L TP
Aeroalérgenos			
nCyn d 1	Gramma	<i>Cynodon dactylon</i>	Gramínea grupo 1
rPhl p 1	Timotea	<i>Phleum pratense</i>	Gramínea grupo 1
rPhl p 2	Timotea	<i>Phleum pratense</i>	Gramínea grupo 2
nPhl p 4	Timotea	<i>Phleum pratense</i>	
rPhl p 5	Timotea	<i>Phleum pratense</i>	Gramínea grupo 5
rPhl p 6	Timotea	<i>Phleum pratense</i>	
rPhl p 7	Timotea	<i>Phleum pratense</i>	Polcalcina
rPhl p 11	Timotea	<i>Phleum pratense</i>	
rPhl p 12	Timotea	<i>Phleum pratense</i>	Profilina
rAln g 1	Aliso	<i>Alnus glutinosa</i>	PR-10
rBet v 1	Abedul	<i>Betula verrucosa</i>	PR-10
rBet v 2	Abedul	<i>Betula verrucosa</i>	Profilina
rBet v 4	Abedul	<i>Betula verrucosa</i>	Polcalcina
rCor a 1.0101	Avellano	<i>Corylus avellana</i>	PR-10
nCry j 1	Cedro japonés	<i>Cryptomeria japonica</i>	
nCup a 1	Ciprés	<i>Cupressus arizonica</i>	
nOle e 1	Olivo	<i>Olea europaea</i>	
nOle e 7	Olivo	<i>Olea europaea</i>	LTP
rOle e 9	Olivo	<i>Olea europaea</i>	
rPla a 1	Plátano de sombra	<i>Platanus acerifolia</i>	
nPla a 2	Plátano de sombra	<i>Platanus acerifolia</i>	
rPla a 3	Plátano de sombra	<i>Platanus acerifolia</i>	L TP
nAmb a 1	Ambrosía	<i>Ambrosia artemisifolia</i>	
nArt v 1	Artemisa	<i>Artemisia vulgaris</i>	
nArt v 3	Artemisa	<i>Artemisia vulgaris</i>	LTP
rChe a 1	Céñigo	<i>Chenopodium album</i>	
rMer a 1	Mercurial	<i>Mercurialis annua</i>	Profilina
rPar j 2	Hierba de muro	<i>Parietaria judaica</i>	L TP
rPla 11	Llantén	<i>Plantago lanceolata</i>	
nSal k 1	Barrilla borde	<i>Salsola kali</i>	
rCan f 1	Perro	<i>Canis familiaris</i>	Lipocalina
rCan f2	Perro	<i>Canis familiaris</i>	Lipocalina
nCan f3	Perro	<i>Canis familiaris</i>	Albúmina sérica
rCan f 5	Perro	<i>Canis familiaris</i>	Arginina esterasa
rEqu e 1	Caballo	<i>Equus caballus</i>	Lipocalina
nEqu c3	Caballo	<i>Equus caballus</i>	Albúmina sérica
rFel d 1	Gato	<i>Felis domesticus</i>	Uteroglobina
nFel d 2	Gato	<i>Felis domesticus</i>	Albúmina sérica
rFel d 4	Gato	<i>Felis domesticus</i>	Lipocalina
nMus m 1	Ratón	<i>Mus musculus</i>	Lipocalina
rAlt a 1	Alternaria	<i>Alternaria alternata</i>	
rAlt a 6	Alternaria	<i>Alternaria alternata</i>	Enolasa

rAsp f 1	Aspergillus	<i>Aspergillus fumigatus</i>	
rAsp f3	Aspergillus	<i>Aspergillus fumigatus</i>	
rAspf6	Aspergillus	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Mn superóxido dismutasa
rCla h 8	Cladosporium	<i>Cladosporium herbarum</i>	
rBlo t 5	Ácaros del polvo	<i>Blomia tropicalis</i>	
nDerf 1	Ácaros del polvo	<i>Dermatophagoides farinae</i>	
rDerf 2	Ácaros del polvo	<i>Dermatophagoides farinae</i>	
nDer p 1	Ácaros del polvo	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	
rDer p 2	Ácaros del polvo	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	
rDer p 10	Ácaros del polvo	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	Tropomiosina
rLep d 2	Ácaros de almacenamiento	<i>Lepidoglyphus destructor</i>	
rBla 9 1	Cucaracha	<i>Blattella germanica</i>	
rBla 9 2	Cucaracha	<i>Blattella germanica</i>	
rBla 9 5	Cucaracha	<i>Blattella germanica</i>	
nBla 9 7	Cucaracha	<i>Blattella germanica</i>	Tropomiosina
Otros			
rApi m 1	Veneno de Abeja	<i>Apis mellifera</i>	Fosfolipasa A2
nApim4	Veneno de Abeja	<i>Apis mellifera</i>	Melitina
rPol d 5	Veneno de Avispa	<i>Polistes dominulus</i>	Antígeno 5
rVes v 5	Veneno de Avispa común	<i>Vespula vulgaris</i>	Antígeno 5
rAni s 1	Anisakis	<i>Anisakis simplex</i>	
rAni s 3	Anisakis	<i>Anisakis simplex</i>	Tropomiosina
rHev b 1	Látex	<i>Hevea brasiliensis</i>	
rHev b 3	Látex	<i>Hevea brasiliensis</i>	
rHev b 5	Látex	<i>Hevea brasiliensis</i>	
rHev b 6.01	Látex	<i>Hevea brasiliensis</i>	
rHev b 8	Látex	<i>Hevea brasiliensis</i>	Profilina
nMUXF3	Epítipo de la Bromelina		CCD

ANEXO 3: Consentimiento informado para pacientes controles.

HOJA INFORMATIVA PARA CONSENTIMIENTO INFORMADO

(Ejemplar para el paciente)

Apreciado/a Sr/a:

Solicitamos su colaboración para participar en el estudio “Prevalencia de la sensibilización a polen de ciprés en el Vallés Occidental” que se está realizando en el Hospital de Terrassa.

El estudio ya se ha realizado en las personas con pruebas de alergia positivas a polen de ciprés. Se les realizó pruebas en la piel, análisis, radiografías y pruebas de exposición nasal con polen de ciprés.

Precisamos por tanto personas sin alergia a polen de ciprés para realizar pruebas de exposición nasal con extracto comercial de polen de ciprés para comparar los resultados que ya tenemos (grupo control).

Si usted decide participar en el estudio, se le practicará una prueba de provocación nasal con polen de ciprés, totalmente indolora. La prueba consiste en aplicar el extracto de polen de ciprés en forma de spray en la nariz y esperar 15 minutos. Se valora si usted tiene síntomas de rinitis (estornudos, picor de nariz, obstrucción nasal...) y mediante un rinómetro acústico, valoramos la obstrucción nasal. Colocamos una sonda en una narina de la nariz mientras usted respira normalmente durante unos segundos y posteriormente en la otra narina. La prueba se repite con 3 concentraciones diferentes de polen de ciprés. La prueba finaliza cuando hay obstrucción de nariz o cuando hemos finalizado todas las concentraciones de polen. Posteriormente a la prueba usted puede hacer vida normal.

Los efectos adversos de ésta prueba consisten en síntomas de rinitis (estornudos, picor de nariz, mucosidad o nariz tapada), y en ocasiones lagrimeo. Excepcionalmente puede provocar síntomas de ahogo o tos por lo que antes de iniciar la prueba se le realizara un espirometría. Como usted forma parte de un grupo control, puede ser que no presente ninguno de estos efectos adversos.

La participación en éste estudio es totalmente voluntaria, pudiendo usted abandonar en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones. Su decisión no afectará en modo alguno a la atención médica que usted reciba.

La información recogida en el estudio será totalmente confidencial, siendo sólo comunicable al equipo médico que le atiende. Sus resultados se introducirán en una base de datos protegida que imposibilitará su identificación mediante un sistema de disociación, de acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal.

HOJA DE CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO

Título del estudio: "Prevalencia de la sensibilización a polen de ciprés en el Vallés Occidental".

Yo,

He leído la hoja de información al paciente que se me ha entregado.

He podido realizar preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mi atención médica.

Doy libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fecha

Firma del participante

Firma del investigador principal

ANEXO 4. Relación de los valores de IgE específica sérica para los extractos completos de *Cupressaceae* y los valores de IgE a Cry j 1 y Cup a 1.

NR: no realizado. En azul se representan los pacientes pediátricos.

Paciente	<i>J. ashei</i>	<i>C. sempervirens</i>	<i>C. arizonica</i>	Cry j 1	Cup a 1
1	2,38	NR	NR	NR	NR
2	1,53	0,27	0,78	0	2,3
3	2,69	0,16	1,4	NR	NR
4	3,82	0,53	2,17	2,4	7,9
5	8,64	NR	4,44	NR	NR
6	12,1	1,86	4,29	NR	NR
7	31,8	3,7	9,94	7	37
8	14,7	0,41	4,62	1,7	17
9	17,1	0,56	4,94	0	23
10	24	2,34	10,1	1,7	34
11	1,03	< 0,1	0,32	0	2,3
12	10,4	0,39	3,42	NR	NR
13	3,57	0,66	1,98	0,6	7,1
14	0,18	< 0,1	0,16	0	0,4
15	0,65	< 0,1	0,37	0,7	1,8
16	3,71	1,19	2,98	2,7	11
17	0,33	< 0,1	< 0,1	0	0
18	10,8	0,79	3,23	0	21
19	25,7	2,61	6,03	NR	NR
20	3,64	0,64	2,03	0,9	8,1
21	1,22	0,19	0,55	0,3	3
22	12,4	0,97	4,77	0,4	22
23	1,53	0,2	0,64	0,4	3,3
24	2,37	0,36	1,6	0	4,1
25	5,36	0,97	2,12	0	6,3
26	8,52	0,45	2,83	NR	NR
27	14,1	0,59	5,32	0	2,7
28	4,82	0,54	2,63	1,4	7,1
29	51,3	19,1	17,1	10	42
30	1,7	0,32	1,33	0	3,6
31	10,6	8,95	7,29	6,7	17
32	8	1	4,01	NR	NR
33	31,7	5,36	13	2,4	34
34	5,82	0,98	2,11	1,1	14
35	8,19	0,75	4,68	0,8	14
36	6,93	2,1	7,25	0,4	13
37	<0,1	NO	<0,1	0	0
38	6,01	5,41	1,72	NR	NR
39	2,15	1,15	13,4	2,9	5,7
40	< 0,1	NR	0,13	NR	NR
41	8,18	1,55	6,34	0	0
42	7,81	1,35	3,76	1	14
43	14,4	1,69	4,46	NR	NR

44	3,35	NR	1,71	NR	NR
45	5,87	0,63	2,57	1,4	9,1
46	0,75	< 0,1	0,55	1,4	3,1
47	1,9	0,44	1,24	NR	NR
48	6,29	1,13	5,43	NR	NR
49	3,15	0,55	2,23	1	6,8
50	9,14	2,31	8,37	8	21
51	0,49	0,13	0,26	0	1,1
52	11,4	2,63	3,46	0,8	13
53	0,87	0,28	0,76	0	3,2
54	27,4	4,73	20,1	16	45
55	4,89	0,81	3,93	NR	NR
56	3,07	0,59	2,41	0	8,8
57	0,36	0,12	0,31	0	1,4
58	6,61	1,82	2,39	0,9	12
59	1,93	0,48	1,44	0	5
60	0,22	< 0,1	0,22	0	0,8
61	19,5	3,79	8,77	4,6	36
62	0,66	0,12	0,54	0	2
63	15,4	3,78	9,55	NR	NR
64	10,2	1,45	5,4	1,3	17
65	0,9	0,24	0,36	1	46
66	1,16	0,33	0,86	0	3,9
67	2,89	0,65	2,3	0,8	6,9
68	4,41	1,44	2,75	1,4	5,9
69	5,88	1,25	5,22	1,4	12
70	13,7	3,11	9,38	2,8	20
71	1,92	0,59	1,46	0,7	5,1
72	14,1	6,29	4,64	1,3	6,2
73	4,33	1,76	2,52	1	9,4
74	10,7	NR	NR	NR	NR
75	0,15	0,16	0,83	0	0
76	1,44	0,21	0,6	0	2,7
77	56,1	6,8	44,8	5,1	46
78	1,36	0,38	1	0	2,7
79	11,6	2,42	8,59	4,2	24
80	49,3	10,6	31	6,6	45
81	25,3	6,05	18,8	10	35
82	0,78	0,22	0,7	0	2,1
83	1,87	0,45	1,39	0,9	5,2
84	6,97	1,2	3,9	0,4	7,9
85	2,61	0,32	1,84	NR	NR
86	42,9	18,3	28,2	7,1	44
87	0,42	0,17	0,19	0	0
88	16,8	3,01	14,2	4,3	23
89	19,8	3,88	15,4	4,6	30
90	18,5	4,71	10,4	2,3	16
91	2,28	0,71	2,04	0,4	4,5
92	0,26	< 0,1	0,31	0	0
93	5,7	1,49	4,41	0,9	6,2
94	39,2	7,57	34,8	4,1	33

95	6,41	2,29	5,7	1,3	6,9
96	1,98	0,33	1,79	0,6	5,1
97	12,7	3,02	13	6,5	26
98	0,73	0,33	0,78	1,8	6,4
99	14,6	4,04	11,8	2,1	21
100	8,49	1,69	6,46	1	16
101	0,7	NR	0,47	NR	NR
102	1,64	0,82	1,34	0,4	3,1
103	14,4	4,33	12,1	5,6	31
104	< 0,1	NO	< 0,1	0	0
105	1,54	0,54	1,88	0,3	4,7
106	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0	0
107	4,6	1,16	4,17	0,3	8,1
108	6,61	5,74	5,11	0,6	17
109	2,31	0,56	2,47	0,8	6,5
110	5,35	0,97	4,46	NR	NR
111	1,17	NR	NR	0,9	2,5
112	0,38	NR	0,27	NR	NR
113	NR	NR	0,13	NR	NR
114	NR	NR	< 0,1	NR	NR
115	3	0,41	1,08	NR	NR
116	89,1	NR	NR	NR	NR
117	2,31	NO	NO	4,2	14
118	2,13	0,63	1,66	0,9	3
119	1,05	NR	NR	NR	NR
120	3,78	NR	NR	NR	NR
121	1,16	0,29	0,92	0	2,4
122	NR	NR	0,29	NR	NR

ANEXO 5. Tabla de los resultados de las pruebas de provocación nasal específica con polen de *Juniperus ashei* y la presencia de síntomas o no durante la estación polínica de 2011.

NP: no presentado a sintomatología. SF: positivo al suero fisiológico. NP y SF en rojo. En azul los paciente pediátricos.

PACIENTE	RESULTADO	SINTOMAS
2	SF	NO
4	POSITIVO 0,1 IR	SI
7	POSITIVO 0,01 IR	SI
8	SF	NO
9	SF	SI
10	SF	NP
11	POSITIVO 0,1 IR	NO
20	POSITIVO 100 IR	NO
22	SF	SI
25	POSITIVO 1 IR	SI
26	POSITIVO 1 IR	SI
28	POSITIVO 1 IR	NO
30	POSITIVO 100 IR	NO
32	POSITIVO 100 IR	SI
33	SF	NP
34	POSITIVO 1 IR	SI
36	POSITIVO 1 IR	NO
39	POSITIVO 10 IR	SI
41	SF	NO
46	POSITIVO 1 IR	NO
47	POSITIVO EVA 1 IR	SI
49	POSITIVO EVA 10 IR	SI
50	SF	SI
51	SF	NO
53	POSITIVO 10 IR	NO
57	NEGATIVO 100 IR	NP
61	POSITIVO 1 IR	NO
64	POSITIVO 1 IR	NO
65	SF	NO
67	POSITIVO 0.1 IR	NO
68	POSITIVO 0,01 IR	NO
70	POSITIVO 10 IR	NO

71	POSITIVO 1 IR	NO
72	POSITIVO 1 IR	SI
73	NEGATIVA	NO
75	NEGATIVA	NO
76	POSITIVO 0.1 IR	NO
77	SF	SI
78	POSITIVO 1 IR	SI
81	POSITIVO 10 IR	NO
82	POSITIVO 0,1 IR	NO
86	POSITIVO 0,1 IR	SI
87	POSITIVO 1 IR	NO
89	POSITIVO 10 IR	SI
90	POSITIVO EVA 1 IR	SI
91	POSITIVO 100 IR	NO
92	NEGATIVA	NO
93	SF	SI
95	POSITIVO 100 IR	NO
96	POSITIVO 1 IR	NO
97	SF	NO
98	POSITIVO 1 IR	SI
102	POSITIVO 0,1 IR	SI
107	POSITIVO 0,1 IR	NO
108	SF	NO
111	POSITIVO 0,01 IR	NO
121	NEGATIVA	NO

Anexo 6: Recuentos de polen de *Cupressaceae* hasta marzo de 2011. En rojo los recuentos moderados y altos.

FECHA	Concentración media diaria polen/m ³	FECHA	Concentración media diaria polen/m ³
01/01/2011	0,7	15/02/2011	203,7
02/01/2011	4,9	16/02/2011	159,6
03/01/2011	7,0	17/02/2011	219,8
04/01/2011	1,4	18/02/2011	145,6
05/01/2011	0,7	19/02/2011	963,2
06/01/2011	5,6	20/02/2011	486,5
07/01/2011	39,9	21/02/2011	605,5
08/01/2011	42,0	22/02/2011	1007,3
09/01/2011	109,2	23/02/2011	233,1
10/01/2011	12,6	24/02/2011	422,8
11/01/2011	28,0	25/02/2011	624,4
12/01/2011	21,0	26/02/2011	678,3
13/01/2011	3,5	27/02/2011	300,3
14/01/2011	28,7	28/02/2011	51,1
15/01/2011	49,0	01/03/2011	14,0
16/01/2011	1,4	02/03/2011	109,9
17/01/2011	1,4	03/03/2011	16,8
18/01/2011	8,4	04/03/2011	143,5
19/01/2011	4,2	05/03/2011	91,0
20/01/2011	7,7	06/03/2011	784,7
21/01/2011	45,5	07/03/2011	478,1
22/01/2011	2,8	08/03/2011	291,9
23/01/2011	2,1	09/03/2011	23,1
24/01/2011	1,4	10/03/2011	67,9
25/01/2011	0,7	11/03/2011	174,3
26/01/2011	0,0	12/03/2011	19,6
27/01/2011	1,4	13/03/2011	67,9
28/01/2011	0,7	14/03/2011	112,7
29/01/2011	3,5	15/03/2011	4,2
30/01/2011	4,2	16/03/2011	14,7
31/01/2011	2,8	17/03/2011	144,2
01/02/2011	14,7	18/03/2011	543,9
02/02/2011	10,5	19/03/2011	130,9
03/02/2011	44,1	20/03/2011	39,2
04/02/2011	78,4	21/03/2011	42,7
05/02/2011	154,7	22/03/2011	32,9
06/02/2011	264,6	23/03/2011	4,9
07/02/2011	94,5	24/03/2011	3,5
08/02/2011	85,4	25/03/2011	21,0
09/02/2011	9,8	26/03/2011	21,7
10/02/2011	21,7	27/03/2011	42,7
11/02/2011	93,8	28/03/2011	20,3
12/02/2011	231,0	29/03/2011	14,0
13/02/2011	345,1	30/03/2011	4,9
14/02/2011	340,9	31/03/2011	1,4

ANEXO 7. Síntomatología de los pacientes durante la polinización del polen de *Cupressaceae* en 2011.

Síntomas: NP= no presentado a visita; NO= sin síntomas. RLI: Rinitis leve intermitente; RMI: Rinitis moderada intermitente; RMP: Rinitis moderada persistente; RCMP: Rinoconjuntivitis moderada persistente; ALI: Asma leve intermitente; TELI: Tos espasmódica leve intermitente.

En azul: pacientes pediátricos.

Paciente nº	Síntomas en 2011
1	NP
2	NO
3	NP
4	RMI
5	NO
6	NP
7	RCMP
8	NO
9	RMI
10	NP
11	NO
12	NP
13	NO
14	NO
15	NO
16	NO
17	NP
18	NO
19	NP
20	NO
21	NP
22	RLI
23	NP
24	NO
25	RLI
26	RLI
27	RLI
28	NO
29	RCMP
30	NO
31	NP
32	RCMP + ALI
33	NP
34	NO
35	RCMI
36	NO
37	NP
38	NO
39	RCMP
40	NO
41	NO
42	NO

43	RCLP
44	NO
45	NP
46	NO
47	RCMP
48	NP
49	RCMI
50	RCMI
51	NO
52	RCMP
53	NO
54	NO
55	NO
56	NP
57	NP
58	NP
59	NP
60	NP
61	NO
62	NO
63	RCMP
64	NO
65	NO
66	NO
67	NO
68	NO
69	NO
70	NO
71	NO
72	RCMP
73	NO
74	NO
75	NO
76	NO
77	RCMP
78	RCMP
79	NO
80	NP
81	NO
82	NO
83	NO
84	NO
85	NO
86	CLI
87	NO
88	NP
89	RCMI
90	RCMP
91	NO
92	NO
93	RMP + TELI

94	NP
95	NO
96	NO
97	NO
98	RMP
99	NO
100	NO
101	NO
102	RMP
103	NP
104	NO
105	NO
106	NO
107	NO
108	NO
109	NO
110	NO
111	NO
112	NO
113	NO
114	NO
115	NO
116	NO
117	NP
118	NO
119	NO
120	NO
121	NO
122	NO

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. VON PIRQUET CE. Allergy. *Arch Intern Med*. 1911;VII(3):383. doi:10.1001/archinte.1911.00060030096007.
2. Physiologie D De. Charles Richet : l ' anaphylaxie *. 1993:233-240.
3. Pirquet C, Schick B. Die serumkrankheit. *Leipzig u Wien*. 1905.
4. C von Pirquet. Allergie. *Munch Med Wochenschr*. 1906;30:1457-1458.
5. Wang J, Sampson HA. Food anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*. 2007;37(5):651-660.
6. Chinen J, Fleishner TA, Shearer WT. The immune system: an overview. In: *Middleton's Allergy*. eds. Adkinson N, Brochner B, Busse W, Holgate S, Lemanske RF, Simons E. Seventh edition. Philadelphia: Mosby Elsevier; 2009:3-17.
7. Jahn-Schmid B, Pickl WF, Bohle B. Interaction of allergens, major histocompatibility complex molecules, and T cell receptors:ois A "Ménage à Trois" that opens new avenues for therapeutic intervention in type i allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;156(1):27-42. doi:10.1159/000321904.
8. Medzhitov R, Janeway Ch Jr. Innate Immunity. *N Engl J Med*. 2000;343(5):338-344. doi:10.1056/NEJM200008033430506.
9. J. Delgado SQ. Asma alérgica: aspectos patogénicos, clínicos y terapéuticos. En: *Las Bases Alérgicas Del Asma*. Eds. Quirze S, Quiralte J. Barcelona: MRA Ediciones S.L.; 2009:13-33.
10. Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J, et al. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*. 2001;56(9):813-824. doi:10.1034/j.1398-9995.2001.t01-1-00001.x.
11. Johansson SGO, Bieber T, Dahl R, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(5):832-836. doi:10.1016/j.jaci.2003.12.591.

12. Szczeklik A. Mechanism of aspirin-induced asthma. *Allergy*. 1997;52(6):613-619. doi:10.1111/j.1398-9995.1997.tb01039.x.
13. Pomés A, Villalba M. Alérgenos. En: *Tratado de Alergología*. eds. Dávila IJ, Peláez A. Madrid: Ergon; 2007:3-26.
14. Løwenstein H. Quantitative immunoelectrophoretic methods as a tool for the analysis and isolation of allergens. *Prog Allergy*. 1978;25:1-62.
15. Valero AL, Picado C. Polinosis. En: *Polinosis*. eds. Cadahía A, Valero AL. Barcelona: MRA Ediciones S.L.; 2002:17-21.
16. Pelta R. Historia del desarrollo de los conocimientos en Alergología. Alérgicos ilustres. En: *Libro de Las Enfermedades Alérgicas de La Fundación BBVA*. eds. Zubeldia JM, Baeza ML, Jáuregui I, Senent CJ. Bilbao: Fundacion BBVA; 2012:31-40.
17. Quel JA, Rodríguez R. Aerobiología. En: *Alergia. Enfermedad Multisistémica. Fundamentos Básicos y Clínicos*. eds. Escobar A, Méndez JI, Huerta JG, Bellanti JA, Ovilla R. Méjico: Editorial Médica Panamericana; 2008:67-92.
18. Bostock J. Case of a Periodical Affection of the Eyes and Chest. *Med Chir Trans*. 1819;10(Pt 1):161-165.
19. Wyman M. Autumnal Catarrh — NEJM. *Boston Med Surg J*. Published 1872.
20. Turk JL. Experimental Researches on the Causes and Nature of Catarrhus Aestivus: Facsimile of the first edition 1873. *J R Soc Med*. 1991;84(1):61.
21. Blumenthal MN. Epidemiology and genetics of asthma and allergy. In: *Allergy*. eds. Klapan AP. Second Edition. Philadelphia.Pennsylvania: WB Saunders Company; 1997:407-420.
22. Taketomi EA, Sopelete MC, Moreira PF, de Assis Machado Vieira F. Pollen allergic disease: Pollens and its major allergens. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2006;72(4):562-567.

23. Alba F, De La Guardia CD, Comtois P. The effect of meteorological parameters on diurnal patterns of airborne olive pollen concentration. *Grana*. 2000;39(February):200-208. doi:10.1080/00173130051084340.
24. Oyama K. Cutaneous late-phase reaction to environmental antigen in patients with atopic dermatitis. *Dermatology*. 1993;187(3):182-185.
25. Yokozeki H, Takayama K, Katayama I, Nishioka K. Japanese cedar pollen as an exacerbation factor in atopic dermatitis: Results of atopy patch testing and histological examination. *Acta Derm Venereol*. 2006;86(2):148-151. doi:10.2340/00015555-0020.
26. Nishie H, Kato M, Kato S, et al. The Relationship between Symptom Flare of Atopic Dermatitis and Airborne Japanese Cedar and Cypress Pollen Counts: A Self-Scoring Diary Study. *ISRN Dermatol*. 2012;2012:218538. doi:10.5402/2012/218538.
27. D'Amato G, Liccardi G. The increasing trend of seasonal respiratory allergy in urban areas. *Allergy*. 2002;57(7):35-36. doi:10.1034/j.1398-9995.2002.057s71035.x.
28. Subiza Garrido-Lestache J. Pólenes alergénicos en España. *Allergol et Immunophatol*. 2004;32(3):121-124.
29. D'amato G, Spiekma FT, Liccardi G, et al. Pollen-related allergy in Europe. *Allergy*. 1998;53(6):567-578. doi:10.1111/J.1398-9995.1998.Tb03932.X.
30. Wüthrich B, Schindler C, Leuenberger P, Ackermann-Liebrich U. Prevalence of atopy and pollinosis in the adult population of Switzerland (SAPALDIA study). Swiss Study on Air Pollution and Lung Diseases in Adults. *Int Arch Allergy Immunol*. 1995;106(2):149-156.
31. Muñoz F, Ríos M, Monferrer R, Nieto F, Rabaneda A, Vilà B. Estudio epidemiológico de la patología alérgica en la población general infantil de España. Repercusión socioeconómica. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin*. 1994;9:23-25.

32. Kulig M, Klettke U, Wahn V, Forster J, Bauer CP, Wahn U. Development of seasonal allergic rhinitis during the first 7 years of life. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;106(5):832-839. doi:10.1067/mai.2000.110098.
33. D'Amato G, Liccardi G, Frenguelli G. Thunderstorm-asthma and pollen allergy. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2007;62(1):11-16. doi:10.1111/j.1398-9995.2006.01271.x.
34. Navarro A. *Alergológica 2005*. Madrid: Schering-Plough; 2006.
35. Asher MI, Montefort S, Björkstén B, et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet*. 2006;368(9537):733-743. doi:10.1016/S0140-6736(06)69283-0.
36. Bousquet J, Van Cauwenberge P, Khaltaev N. ARIA in the pharmacy: Management of allergic rhinitis symptoms in the pharmacy - Allergic rhinitis and its impact on asthma. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2004;59(4):373-387. doi:10.1111/j.1398-9995.2003.00468.x.
37. Levy ML, Fletcher M, Price DB, Hausen T, Halbert RJ, Yawn BP. International Primary Care Respiratory Group (IPCRG) Guidelines: Diagnosis of respiratory diseases in primary care. *Prim Care Respir J*. 2006;15(1):20-34. doi:10.1016/j.pcrj.2005.10.004.
38. Löwhagen O. Diagnosis of asthma - A new approach. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2012;67(6):713-717. doi:10.1111/j.1398-9995.2012.02821.x.
39. GINA, Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. www.ginasthma.org.
40. Heinzerling L, Mari A, Bergmann K-C, et al. The skin prick test - European standards. *Clin Transl Allergy*. 2013;3(1):3. doi:10.1186/2045-7022-3-3.

41. Peters AT, Kim JS. Diagnóstico de la hipersensibilidad inmediata. En: *Patterson Enfermedades Alérgicas*. eds. Grammer LC, Grenberger PA. Séptima Edición. Madrid: Grupo Aula Médica S.L.; 2011:127-140.
42. Martínez J, Sanz ML, Luengo O. Técnicas diagnósticas in vitro. En: *Tratado de Alergología. Tomo I*. eds. Dávila IJ, Peláez A. Primera Edición. Madrid: Ergon; 2007:201-236.
43. Chiu CY, Huang YL, Tsai MH, et al. Sensitization to food and inhalant allergens in relation to atopic diseases in early childhood: A birth cohort study. *PLoS One*. 2014;9(7):3-9. doi:10.1371/journal.pone.0102809.
44. Miguéres M, Dávila I, Frati F, et al. Types of sensitization to aeroallergens: definitions, prevalences and impact on the diagnosis and treatment of allergic respiratory disease. *Clin Transl Allergy*. 2014;4:16. doi:10.1186/2045-7022-4-16.
45. Tschopp JM, Sistek D, Schindler C, et al. Current allergic asthma and rhinitis: diagnostic efficiency of three commonly used atopic markers (IgE, skin prick tests, and Phadiatop). Results from 8329 randomized adults from the SAPALDIA Study. Swiss Study on Air Pollution and Lung Diseases in Adults. *Allergy*. 1998;53(6):608-613. doi:10.1111/j.1398-9995.1998.tb03937.x.
46. Kazemi-Shirazi L, Niederberger V, Linhart B, Lidholm J, Kraft D, Valenta R. Recombinant marker allergens: Diagnostic gatekeepers for the treatment of allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002;127(4):259-268. doi:10.1159/000057742.
47. Rossi RE, Melioli G, Monasterolo G, et al. Sensitization profiles in polysensitized patients from a restricted geographical area: further lessons from multiplexed component resolved diagnosis. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2011;43(6):171-175.
48. Enrique E. Reactividad cruzada por alergia a profilinas. En: *Reactividad Cruzada En Alergia a Alimentos*. eds. Enrique E, Cisteró A. Barcelona: RMA Ediciones; 2004:115-121.

49. Alvarado MI, Jimeno L, De La Torre F, et al. Profilin as a severe food allergen in allergic patients overexposed to grass pollen. *Allergy*. 2014;69(12):1610-1616. doi:10.1111/all.12509.
50. Weber RW. Patterns of pollen cross-allergenicity. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112(2):229-239. doi:10.1067/mai.2003.1683.
51. Jiménez-López JC, Rodríguez-García MI, De J, Alché D. Systematic and Phylogenetic Analysis of the Ole e 1 Pollen Protein Family Members in Plants. *Systems and Computational Biology-Bioinformatics and Computational Modeling*. http://digital.csic.es/bitstream/10261/39541/1/In_Tech-Systematic.pdf.
52. Pichler U, Hauser M, Wolf M, et al. Pectate lyase pollen allergens: Sensitization profiles and cross-reactivity pattern. *PLoS One*. 2015;10(5):1-19. doi:10.1371/journal.pone.0120038.
53. Franchi L, Fratebianchi D, Noem G, Cavalitto F. National Production of Pectinase From Fungal Origin and Its Application To Fruit and Vegetable Processing. *SNS N° 5-6*. 2014:36-42.
54. Ibarrola I, Arilla MC, Martínez A, Asturias JA. Identification of a polygalacturonase as a major allergen (Pla a 2) from *Platanus acerifolia* pollen. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(6):1185-1191. doi:10.1016/j.jaci.2004.02.031.
55. Aalberse RC, Koshte V, Clemens JG. Immunoglobulin E antibodies that crossreact with vegetable foods, pollen, and Hymenoptera venom. *J Allergy Clin Immunol*. 1981;68(5):356-364. doi:10.1016/0091-6749(81)90133-0.
56. Andersson K, Lidholm J. Characteristics and immunobiology of grass pollen allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 2003;130(2):87-107. doi:10.1159/000069013.
57. Soh JY, Huang CH, Lee BW. Carbohydrates as food allergens. *Asia Pac Allergy*. 2015;5(1):17-24. doi:10.5415/apallergy.2015.5.1.17.

58. Fötisch K, Fäh J, Wüthrich B, Altmann F, Hausteiner D, Vieths S. IgE antibodies specific for carbohydrates in a patient allergic to gum arabic (*Acacia senegal*). *Allergy*. 1998;53(11):1043-1051.
59. Fötisch K, Altmann F, Hausteiner D, Vieths S. Involvement of carbohydrate epitopes in the IgE response of celery-allergic patients. *Int Arch Allergy Immunol*. 1999;120(1):30-42. doi:10.1159/000024217.
60. Batanero E, Crespo JF, Monsalve RI, Martín-Esteban M, Villalba M, Rodríguez R. IgE-binding and histamine-release capabilities of the main carbohydrate component isolated from the major allergen of olive tree pollen, Ole e 1. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;103(1 Pt 1):147-153. doi:10.1016/S0091-6749(99)70538-5.
61. Van Der Veen MJ, Van Ree R, Aalberse RC, et al. Poor biologic activity of cross-reactive IgE directed to carbohydrate determinants of glycoproteins. *J Allergy Clin Immunol*. 1997;100(3):327-334. doi:10.1016/S0091-6749(97)70245-8.
62. Mari A, Iacovacci P, Afferni C, et al. Specific IgE to cross-reactive carbohydrate determinants strongly affect the in vitro diagnosis of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;103(6):1005-1011. doi:10.1016/S0091-6749(99)70171-5.
63. Van Ree R, Aalberse RC. Specific IgE without clinical allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;103(6):1000-1001. doi:10.1016/S0091-6749(99)70169-7.
64. Malandain H, Giroux F, Cano Y. The influence of carbohydrate structures present in common allergen sources on specific IgE results. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2007;39(7):216-220.
65. García Rodríguez R. Proteínas de defensa vegetal. En: *Reactividad Cruzada En Alergia a Alimentos*. eds. Enrique E, Cisteró A. Barcelona: MRA Ediciones S.L.; 2004:93-104.
66. Azofra García J, Cuesta-Herranz J, Perea Lam N, Díaz-Perales A. Anaphylaxis mediated by thaumatin-like proteins. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2014;24(6):448-449.

67. Asero R, Jimeno L, Barber D. Preliminary Results of a Skin Prick Test – Based Study of the Prevalence and Clinical Impact of Hypersensitivity to Pollen Panallergens (Polcalcin and Profilin). *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2010;20(1):35-38.
68. Orovitg A, Guardia P, Barber D, et al. Enhanced diagnosis of pollen allergy using specific immunoglobulin E determination to detect major allergens and panallergens. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21(4):253-259.
69. Barber D, Salcedo G. Proteínas de transeferencia de lípidos en plantas ¿un sistema modelo de panalérgenos alimentarios vegetales? En: *Reactividad Cruzada En Alergia a Alimentos*. eds. Enrique E, Cisteró A. Barcelona: MRA Ediciones S.L.; 2004:123-129.
70. Asero R, Pravettoni V. Anaphylaxis to plant-foods and pollen allergens in patients with lipid transfer protein syndrome. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2013;13(4):379-385. doi:10.1097/ACI.0b013e32835f5b07.
71. Valenta R, Lidholm J, Niederberger V, Hayek B, Kraft D, Grönlund H. The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CRD and CRIT). *Clin Exp Allergy*. 1999;29(7):896-904. doi:10.1046/j.1365-2222.1999.00653.x.
72. Hoepfner VH, Murdock KY, Kooner S, Cockcroft DW. Severe acute “occupational asthma” caused by accidental allergen exposure in an allergen challenge laboratory. *Ann Allergy*. 1985;55(1):36-37.
73. Larsen JN, Dreborg S. Standardization of Allergen Extracts. *Methods Mol Med*. 2008;138:133-145. doi:10.1007/978-1-59745-366-0_12.
74. Chapman MD, Ferreira F, Villalba M, et al. The European Union CREATE Project: A model for international standardization of allergy diagnostics and vaccines. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122(5). doi:10.1016/j.jaci.2008.07.030.

75. Bartra J, Muñoz RM, Sánchez J, Valero A, Picado C. Rinomanometría y rinometría acústica en la práctica clínica. *Espac Asma*. 2011;4(1):25-28.
76. Orús C. Rinometría acústica: criterios de normalidad. Correlación rinomanométrica. Tesis doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona. 2004.
77. Muñoz-Cano R, Valero AL. Rinometría acústica. En: *Evaluación de La Obstrucción Nasal*. MRA, creación y realización editorial SL, Barcelona; 2011:41-57.
78. Kim YH, Jang TY. Proposed diagnostic standard using visual analogue scale and acoustic rhinometry in nasal provocation test in allergic patients. *Auris Nasus Larynx*. 2011;38(3):340-346. doi:10.1016/j.anl.2010.11.006.
79. Dordal MT, Lluch-Bernal M, Sánchez MC, et al. Allergen-specific nasal provocation testing: Review by the rhinoconjunctivitis committee of the Spanish society of allergy and clinical immunology. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21(1):1-12.
80. Gotlib T, Samoliński B, Grzanka A. Bilateral nasal allergen provocation monitored with acoustic rhinometry. Assessment of both nasal passages and the side reacting with greater congestion: Relation to the nasal cycle. *Clin Exp Allergy*. 2005;35(3):313-318. doi:10.1111/j.1365-2222.2005.02175.x.
81. Okuda M. Nasal provocation testing. In: *American Journal of Rhinology*. Vol 3. 1989:83-92. doi: <http://dx.doi.org/10.2500/105065889782009796>.
82. Rondón C, Romero JJ, López S, et al. Local IgE production and positive nasal provocation test in patients with persistent nonallergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119(4):899-905. doi:10.1016/j.jaci.2007.01.006.
83. Rondón C, Fernandez J, Canto G, Blanca M. Local allergic rhinitis: Concept, clinical manifestations, and diagnostic approach. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2010;20(5):364-371.

84. A. Valero, Bartra J, Mullol J. Técnicas diagnósticas en las enfermedades nasales. En: *Tratado de Alergología. Tomo I.* eds. Dávila I, Peláez A. Primera Edición. Madrid: Ergon; 2007:145-173.
85. Duffort OA, Carreira J, Nitti G, Polo F, Lombardero M. Studies on the biochemical structure of the major cat allergen *Felis domesticus* I. *Mol Immunol.* 1991;28(4-5):301-309. doi:10.1016/0161-5890(91)90141-6.
86. Aalberse RC. Structural biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;106(2):228-238. doi:10.1067/mai.2000.108434.
87. Ferreira F, Hawranek T, Gruber P, Wopfner N, Mari A. Allergic cross-reactivity: From gene to the clinic. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2004;59(3):243-267. doi:10.1046/j.1398-9995.2003.00407.x.
88. Jenkins JA, Griffiths-Jones S, Shewry PR, Breiteneder H, Mills ENC. Structural relatedness of plant food allergens with specific reference to cross-reactive allergens: An in silico analysis. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115(1):163-170. doi:10.1016/j.jaci.2004.10.026.
89. Midoro-Horiuti T, Mathura V, Schein CH, et al. Major linear IgE epitopes of mountain cedar pollen allergen Jun a 1 map to the pectate lyase catalytic site. *Mol Immunol.* 2003;40(8):555-562. doi:10.1016/S0161-5890(03)00168-8.
90. Weber RW. Cross-reactivity of plant and animal allergens. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2001;21(2-3):153-202. doi:10.1385/CRIAI:21:2-3:153.
91. Mothes N, Horak F, Valenta R. Transition from a botanical to a molecular classification in tree pollen allergy: Implications for diagnosis and therapy. *Int Arch Allergy Immunol.* 2004;135(4):357-373. doi:10.1159/000082332.
92. Pauli G. Evolution in the understanding of cross-reactivities of respiratory allergens: the role of recombinant allergens. *Int Arch Allergy Immunol.* 2000;123:183-195. doi:10.1159/000024443.

93. Shreffler WG. Microarrayed recombinant allergens for diagnostic testing. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(4):843-849. doi:10.1016/j.jaci.2011.02.011.
94. Pfiffner P, Stadler BM, Rasi C, Scala E, Mari A. Cross-reactions vs co-sensitization evaluated by in silico motifs and in vitro IgE microarray testing. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2012;67(2):210-216. doi:10.1111/j.1398-9995.2011.02743.x.
95. Carracedo-Martinez E, Sanchez C, Taracido M, Saez M, Jato V, Figueiras A. Effect of short-term exposure to air pollution and pollen on medical emergency calls: a case-crossover study in Spain. *Allergy*. 2008;63(3):347-353. doi:10.1111/j.1398-9995.2007.01574.x.
96. Aira MJ, Rodríguez-Rajo FJ, Fernández-González M, Jato V. Airborne pollen of ornamental tree species in the NW of Spain. *Environ Monit Assess*. 2011;173(1-4):765-775. doi:10.1007/s10661-010-1421-8.
97. Subiza J. Cómo interpretar los recuentos de pólenes. *Alergol Inmunol Clin*. 2001;16:59-65.
98. Fein BT, Kamin PB. A 10 year survey of the hay fever plants and important atmospheric allergens in the San Antonio, Texas, metropolitan area. *J Allergy*. 33:141-152.
99. Belmonte J. Introducción. En: *Polinosis*. eds. Cadahía A, Valero AL, Barcelona: MRA Ediciones S.L.; 2002:7-16.
100. Cabrera MS. Cuantificación de alérgenos de *Poaceae*, *Oleaceae*, *Platanaceae* y *Cupressaceae* en la atmósfera de Madrid y su correlación con los recuentos de polenes y las variables meteorológicas y de contaminación (2009-2010). Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. 2011.
101. Sack S, Golan HG. The Relationship Between Clinical Symptoms and Pollen Count in Pollinosis. *J Allergy*. 1942;13(3):296-299. doi:10.1016/S0021-8707(42)90168-0.

102. Holberg CJ, O'rourke MK, Lebowitz MD. Multivariate analysis of ambient environmental factors and respiratory effects. *Int J Epidemiol*. 1987;16(3):399-410. doi:10.1093/ije/16.3.399.
103. Dopazo A, Aira M. J, Armisén M, Vidal C. Relationship of clinical and aerobiological pollen data in the north-west of Spain. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2002;30(2):74-78. doi:http://dx.doi.org/10.1016/S0301-0546(02)79094-0.
104. Connell JT. Quantitative intranasal pollen challenges. *J Allergy*. 1969;43(1):33-44. doi:10.1016/0021-8707(69)90018-5.
105. Broström G, Möller C. A New Method to Relate Symptom Scores with Pollen Counts. *Grana*. 1989;28(2):123-128. doi:10.1080/00173138909429963.
106. Frenz DA. Interpreting atmospheric pollen counts for use in clinical allergy: allergic symptomology. *Ann Allergy, Asthma Immunol*. 2001;86(2):150-158. doi:http://dx.doi.org/10.1016/S1081-1206(10)62683-X.
107. Soldevilla CG, González PC, Teno PA, et al. *Manual de Calidad Y Gestion de La Red Española de Aerobiología, Rea 1.*; 2007.
108. Frenz DA. Interpreting atmospheric pollen counts for use in clinical allergy: allergic symptomology. *Ann Allergy, Asthma Immunol*. 2001;86(2):150-158. doi:http://dx.doi.org/10.1016/S1081-1206(10)62683-X.
109. Gonzalo-Garijo MA, Tormo-Molina R, Muñoz-Rodríguez AF, Silva-Palacios I. Differences in the spatial distribution of airborne pollen concentrations at different urban locations within a city. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2006;16(1):37-43.
110. Muilenberg ML, Skellenger WS, Burge HA, Solomon WR. Particle penetration into the automotive interior. I. Influence of vehicle speed and ventilatory mode. *J Allergy Clin Immunol*. 1991;87(2):581-585. doi:10.1016/0091-6749(91)90018-J.
111. Solomon WR. Aerobiology of pollinosis. *J Allergy Clin Immunol*. 1984;74(4 PART 1):449-461. doi:10.1016/0091-6749(84)90376-2.

112. Traidl-Hoffmann C, Jakob T, Behrendt H. Determinants of allergenicity. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;123(3):558-566. doi:10.1016/j.jaci.2008.12.003.
113. Berger U, Karatzas K, Jaeger S, et al. Personalized pollen-related symptom-forecast information services for allergic rhinitis patients in Europe. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2013;68(8):963-965. doi:10.1111/all.12181.
114. Sofiev M, Siljamo P, Ranta H, et al. A numerical model of birch pollen emission and dispersion in the atmosphere. Description of the emission module. *Int J Biometeorol*. 2013;57(1):45-58. doi:10.1007/s00484-012-0532-z.
115. Siljamo P, Sofiev M, Filatova E, et al. A numerical model of birch pollen emission and dispersion in the atmosphere. Model evaluation and sensitivity analysis. *Int J Biometeorol*. 2013;57(1):125-136. doi:10.1007/s00484-012-0539-5.
116. Voukantsis D, Karatzas K, Jaeger S, Berger U, Smith M. Analysis and forecasting of airborne pollen-induced symptoms with the aid of computational intelligence methods. *Aerobiologia (Bologna)*. 2013;29(2):175-185. doi:10.1007/s10453-012-9271-1.
117. D'Amato G, De Palma R, Verga A, Martucci P, Liccardi G, Lobefalo G. Antigenic activity of nonpollen parts (leaves and stems) of allergenic plants (*Parietaria judaica* and *Dactylis glomerata*). *Ann Allergy*. 1991;67(4):421-424.
118. Knox RB, Suphioglu C, Taylor P, et al. Major grass pollen allergen Lol p 1 binds to diesel exhaust particles: Implications for asthma and air pollution. *Clin Exp Allergy*. 1997;27(3):246-251. doi:10.1111/j.1365-2222.1997.tb00702.x.
119. D'Amato G, Liccardi G, D'Amato M, Cazzola M. Outdoor air pollution, climatic changes and allergic bronchial asthma. *Eur Respir J*. 2002;20(3):763-776. doi:10.1183/09031936.02.00401402.
120. Behrendt H, Becker WM, Friedrichs KH, Darsow U, Tomingas R. Interaction between Aeroallergens and Airborne Particulate Matter. *Int Arch Allergy Immunol*. 1992;99(2-4):425-428. doi:10.1159/000236303.

121. Suphioglu C, Singh MB, Taylor P, et al. Mechanism of grass-pollen-induced asthma. *Lancet*. 1992;339(8793):569-572. doi:10.1016/0140-6736(92)90864-Y.
122. Cortegano I, Civantos E, Aceituno E, et al. Cloning and expression of a major allergen from *Cupressus arizonica* pollen, Cup a 3, a PR-5 protein expressed under polluted environment. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2004;59(5):485-490. doi:10.1046/j.1398-9995.2003.00363.x.
123. Suarez-Cervera M, Castells T, Vega-Maray A, et al. Effects of air pollution on cup a 3 allergen in *Cupressus arizonica* pollen grains. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2008;101(1):57-66. doi:10.1016/s1081-1206(10)60836-8.
124. Rodríguez-Rajo FJ, Jato V, González-Parrado Z, et al. The combination of airborne pollen and allergen quantification to reliably assess the real pollinosis risk in different bioclimatic areas. *Aerobiologia (Bologna)*. 2011;27(1):1-12. doi:10.1007/s10453-010-9170-2.
125. Puc M. Threat of allergenic airborne grass pollen in Szczecin, NW Poland: The dynamics of pollen seasons, effect of meteorological variables and air pollution. *Aerobiologia (Bologna)*. 2011;27(3):191-202. doi:10.1007/s10453-010-9188-5.
126. Rantio-Lehtimäki A, Viander M, Koivikko A. Airborne birch pollen antigens in different particle sizes. *Clin Exp Allergy*. 1994;24(1):23-28. doi:10.1111/j.1365-2222.1994.tb00912.x.
127. Rantio-Lehtimäki A, Matikainen E. Pollen allergen reports help to understand pre-season symptoms. *Aerobiologia (Bologna)*. 2002;18(2):135-140. doi:10.1023/A:1020618724951.
128. Takahashi Y, Aoyama M, Yoshitake M, Abe E, Ohta N, Sakaguchi M. Relationship between airborne Cry j 1 and the onset time of the symptoms of Japanese cedar pollinosis patients. *Allergol Int Off J Japanese Soc Allergol*. 2007;56(3):277-283. doi:10.2332/allergolint.O-06-472.

129. Farjon A. *A Monograph of Cupressaceae and Sciadopitys*. Royal Botanic Gardens, Kew 2005.
130. Castroviejo S, Talavera S. *Flora Ibérica: Plantas Vasculares de La Península Ibérica E Islas Baleares*. Volumen 1. Madrid. Real Jardín Botánico: C.S.I.C; 1999.
131. Gadek PA, Alpers DL, Heslewood MM, Quinn CJ. Relationships within Cupressaceae sensu lato: A combined morphological and molecular approach. *Am J Bot*. 2000;87(7):1044-1057. doi:10.2307/2657004.
132. Moral de Gregorio A. Aerobiología y polinosis por Cupresáceas en España. *Allergol Immunol Clin*. 2003;18(3):25-34.
133. Okamoto Y, Horiguchi S, Yamamoto H, Yonekura S, Hanazawa T. Present situation of cedar pollinosis in Japan and its immune responses. *Allergol Int*. 2009;58(2):155-162. doi:10.2332/allergolint.08-RAI-0074.
134. Subiza J, Jerez M, Caballero T, Moral A. Cupressaceae. En: *Atlas de Aerobiología y Polinosis*. eds. SEAIC. Madrid: Forum s.XXI. Schering-Plough, S.A.
135. Belmonte J, Canela M, Guàrdia R, et al. Aerobiological dynamics of the Cupressaceae pollen in Spain, 1992-98. *Pollen*. 1999;10:27-38.
136. Cadevall J. *Flora de Catalunya 1915-1936*. Volumne I. Memorias de la Real Academia de Ciencias y Artes; 1936.
137. Cadevall J. *Flora Del Vallès*; 1897.
138. Sánchez de Lorenzo-Cáceres JM. Guía De Las Plantas Ornamentales. 2001:688.
139. Charpin D, Calleja M, Lahoz C, Pichot C, Waisel Y. Allergy to cypress pollen. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2005;60(3):293-301. doi:10.1111/j.1398-9995.2005.00731.x.

140. Suárez Cervera M, Vega-Maray A, Seoane-Camba JA. Biología celular del polen: factores de biodiversidad. En: *Polinosis III: Polen y Alergia*. eds. Valero AL, Cadahía A. Madrid: MRA Ediciones S.L.; 2008:13-19.
141. Vinckier S, Smets E. The potential role of orbicules as a vector of allergens. *Allergy*. 2001;56(12):1129-1136. doi:172 [pii].
142. Knox RB. Grass pollen, thunderstorms and asthma. *Clin Exp Allergy*. 1993;23(5):354-359. doi:10.1111/j.1365-2222.1993.tb00339.x.
143. Miki-Hirosige H, Nakamura S, Yasueda H, Shida T, Takahashi Y. Immunocytochemical localization of the allergenic proteins in the pollen of *Cryptomeria japonica*. *Sex Plant Reprod*. 1994;7(2):95-100. doi:10.1007/BF00230577.
144. Suarez-Cervera M, Takahashi Y, Vega-Maray A, Seoane-Camba JA. Immunocytochemical localization of Cry j 1, the major allergen of *Cryptomeria japonica* (Taxodiaceae) in *Cupressus arizonica* and *Cupressus sempervirens* (Cupressaceae) pollen grains. *Sex Plant Reprod*. 2003;16(1):9-15. doi:10.1007/s00497-003-0164-x.
145. Firenzuoli AM, Vanni P, Mastronuzzi E, Zanobini A, Baccari V. Enzymes of glyoxylate in conifers. *Plant Physiol*. 1968;43(7):1125-1128. doi:10.1104/pp.43.7.1125.
146. Suvunrungsi R, Sullivan TJ. Isolation and characterization of mountain cedar allergen. *J Allergy Clin Immunol*. 1982;69(1 Part 2):126.
147. Endo S, Hochman DJ, Midoro-Horiuti T, Goldblum RM, Brooks EG. Mountain cedar pollen induces IgE-independent mast cell degranulation, IL-4 production, and intracellular reactive oxygen species generation. *Cell Immunol*. 2011;271(2):488-495. doi:10.1016/j.cellimm.2011.08.019.

148. Saneyoshi K, Nohara O, Imai T, Shiraishi F, Moriyama H, Fujimaki H. IL4 and IL6 Production of Bone Marrow-Derived Mast Cells Is Enhanced by Treatment with Environmental Pollutants. *Int Arch Allergy Immunol.* 1997;114(3):237-245.
149. D'Amato G, Cocco G, Melillo G. Immunological effects induced by biological natural aerosols (pollen and spores). *Z Erkr Atmungsorgane.* 1981;157(3):281-286.
150. Shahali Y, Pourpak Z, Moin M, Mari A, Majd A. Immunoglobulin e reactivity to Arizona cypress pollen extracts: Evidence for a 35-kDa allergen. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2009;64(11):1687-1688. doi:10.1111/j.1398-9995.2009.02107.x.
151. Badorrek P, Dick M, Emmert L, et al. Pollen starch granules in bronchial inflammation. *Ann Allergy, Asthma Immunol.* 2012;109(3):208-214. doi:10.1016/j.anai.2012.06.019.
152. Agarwal MK, Swanson MC, Reed CE, Yunginger JW. Airborne ragweed allergens: Association with various particle sizes and short ragweed plant parts. *J Allergy Clin Immunol.* 1984;74(5):687-693. doi:10.1016/0091-6749(84)90231-8.
153. Fernandez-Caldas E, Swanson MC, Pravda J, Welsh P, Yunginger JW, Reed CE. Immunochemical Demonstration of Red Oak Pollen Aeroallergens outside the Oak Pollination Season. *Grana.* 1989;28(3):205-209. doi:10.1080/00173138909427432.
154. Takahashi Y, Sasaki K, Nakamura S, Miki-Hirosige H, Nitta H. Aerodynamic size distribution of the particles emitted from the flowers of allergologically important plants. *Grana.* 1995;34(1):45-49. doi:10.1080/00173139509429032.
155. Muranaka M, Suzuki S, Koizumi K, et al. Adjuvant activity of diesel-exhaust particulates for the production of IgE antibody in mice. *J Allergy Clin Immunol.* 1986;77(4):616-623. doi:10.1016/0091-6749(86)90355-6.
156. Caramiello, R, Comino, E, Potenza, A, Siniscalco C. Palynological Italian flora. Aeropalynological section. *Cupressus arizonica* (Cupressaceae). *Aerologia.* 1991;7:181-192.

157. Hidalgo PJ, Galán C, Domínguez E. Pollen production of the genus *Cupressus*. *Grana*. 1999;38(5):296-300. doi:10.1080/001731300750044519.
158. Gastaminza G, Bartolomé B, Bernedo N, et al. Alergia al polen de las oleáceas en un lugar donde no hay olivos. *Alergol e Inmunol Clínica*. 2005;20(4):131-138.
159. Black JH. Cedar hayfever. *J Allergy*. 1929;1:71-73.
160. Kahn IS GE. Hay Fever and Asthma Due to Red Cedar (*Juniperus virginiana*) and to Mountain Cedar (*Juniperus sabinoides*). *South Med J*. 1931;24:729-730.
161. M.B, CH.B.(Cape Town), Ordman D.P.H. (WWRAND.). Cypress pollinosis in South Africa. *S A Med J*. 1945;19:142-146.
162. Horiguchi S, Saito Y. Discovery of Japanese Cedar Pollinosis in Nikko, Ibaraki Prefecture. *Arerugi*. 1964;13:16-18.
163. Tas J. Hay Fever Due To the Pollen of *Cupressus Sempervirens*. *Allergy*. 1965;20(5):405-407. doi:10.1111/j.1398-9995.1965.tb03073.x.
164. Bass D, Baldo B, Pham NH. White cypress pine pollen: An important seasonal allergen source in rural Australia [1]. *Med J Aust*. 1991;155(8):572.
165. Guerin B, Kanny G, Terrasse G, Guyot JL, Moneret-Vautrin DA. Allergic rhinitis to thuja pollen. *Int Arch Allergy Immunol*. 1996;110(1):91-94.
166. Cavagni G, Caffarelli C, Spattini A, Riva G. IgE-mediated allergic rhinitis and conjunctivitis caused by *Calocedrus decurrens* (incense cedar). *Allergy*. 2003;58(11):1201-1202.
167. Bucholtz GA, Lockey RF, Serbousek D. Bald cypress tree (*Taxodium distichum*) pollen, an allergen. *Ann Allergy*. 1985;55(6):805-810.
168. Barranco P, Olalde S, Caminoa M, et al. Occupational asthma due to western red cedar in a guitar maker. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22(4):293-294.

169. Cartier A, Chan H, Malo JL, Pineau L, Tse KS, Chan-Yeung M. Occupational asthma caused by eastern white cedar (*Thuja occidentalis*) with demonstration that plicatic acid is present in this wood dust and is the causal agent. *J Allergy Clin Immunol*. 1986;77(4):639-645. doi:10.1016/0091-6749(86)90359-3.
170. Charpin D, Hughes B, Mallea M, Sutra JP, Balansard G, Vervloet D. Seasonal allergic symptoms and their relation to pollen exposure in south-east France. *Clin Exp Allergy*. 1993;23(5):435-439.
171. Charpin D. Epidemiology of cypress allergy. *Allerg Immunol (Paris)*. 2000;32(3):83-85.
172. San Martin MS, Contreras J, Caballero MT, Barranco P, Cabañas R, López-Serrano MC. Betula alba pollen sensitization in Madrid. Poster Display-Epidemiology Risk Factors. *Allergy*. 1997;52(s37):58-70. doi:10.1111/j.1398-9995.1997.tb04832.x.
173. Guerra F, Daza JC, Miguel R, et al. Sensitivity to *Cupressus*: Allergenic significance in Córdoba (Spain). *J Investig Allergol Clin Immunol*. 1996;6(2):117-120.
174. Moral de Gregorio A, Senent Sánchez N, Cabañas Higuero Y, García Villamuza Y, Gómez-Serranillos Reus M. Pólenes alergénicos y polinosis en Toledo durante 1995 – 1996. *Rev Española Alergol e Inmunol Clínica*. 1998;13(2):126-134.
175. Caimmi D, Raschetti R, Pons P, et al. Epidemiology of cypress pollen allergy in montpellier. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22(4):280-285.
176. Ariano R, Antico A, Di Lorenzo G, et al. An epidemiological survey of Cupressaceae pollenosis in Italy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2002;12(4):287-292.
177. Fiorina A, Scordamaglia A, Guerra L, Canonica GW, Passalacqua G. Prevalence of allergy to Cypress. *Allergy*. 2002;57(9):861-862. doi:10.1034/j.1398-9995.2002.23575_4.x.

178. Papa G, Romano A, Quarantino D, et al. Prevalence of sensitization to *Cupressus sempervirens*: A 4-year retrospective study. *Sci Total Environ*. 2001;270(1-3):83-87. doi:10.1016/S0048-9697(00)00795-6.
179. Priftanji A, Gjebrea E, Shkurti A. *Cupressaceae* in Tirana (Albania) 1996-1998 aerobiological data and prevalence of *Cupressaceae* sensitization in allergic patients. *Allerg Immunol (Paris)*. 2000;32(3):122-124.
180. Panzani R, Yasueda H, Shimizu T, Shida T. Cross-reactivity between the pollens of *Cupressus sempervirens* (common cypress) and of *Cryptomeria japonica* (Japanese cedar). *Ann Allergy*. 1986;57(1):26-30.
181. D'Amato G, Cecchi L, Bonini S, et al. Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2007;62(9):976-990. doi:10.1111/j.1398-9995.2007.01393.x.
182. Scichilone N, Sanfilippo A, Sorino C, Giuliano L, Misseri M, Bellia V. Allergen sensitizations in southern Italy: A 5-year retrospective study in allergic respiratory patients. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2013;45(3):97-102.
183. Caiaffa MF, Macchia L, Strada S, Bariletto G, Scarpelli F, Tursi A. Airborne *Cupressaceae* pollen in southern Italy. *Ann Allergy*. 1993;71(1):45-50.
184. Raddi P, Moricca S, Andréoli C. Cypress pollen: botanic aspects in fourteen cypress species and prospects for research. *Allerg Immunol (Paris)*. 2000;32(3):125-127.
185. Tanihara S, Oki I, Ojima T, Nakamura Y, Yanagawa H. Process and current status of the epidemiologic studies on cedar pollinosis in Japan. *J Epidemiol*. 1999;9(1):20-26.
186. Di Felice G, Caiaffa MF, Bariletto G, et al. Allergens of Arizona cypress (*Cupressus arizonica*) pollen: Characterization of the pollen extract and identification of the allergenic components. *J Allergy Clin Immunol*. 1994;94(3 PART 1):547-555. doi:10.1016/0091-6749(94)90212-7.

187. Mari A, Di Felice G, Afferni C, et al. Assessment of skin prick test and serum specific IgE detection in the diagnosis of *Cupressaceae* pollinosis. *J Allergy Clin Immunol*. 1996;98(1):21-31.
188. Shahali Y, Sutra J-P, Peltre G, Charpin D, Sénéchal H, Poncet P. IgE Reactivity to Common Cypress (*C. sempervirens*) Pollen Extracts: Evidence for Novel Allergens. *World Allergy Organ J*. 2010;3(8):229-234. doi:10.1097/WOX.0b013e3181eb3525.
189. Emberlin J, Detandt M, Gehrig R, Jaeger S, Nolard N, Rantio-Lehtimäki A. Responses in the start of Betula (birch) pollen seasons to recent changes in spring temperatures across Europe. *Int J Biometeorol*. 2002;46(4):159-170. doi:10.1007/s00484-002-0139-x.
190. Rasmussen A. The effects of climate change on the birch pollen season in Denmark. *Aerobiologia (Bologna)*. 2002;18(3-4):253-265. doi:10.1023/A:1021321615254.
191. Beggs PJ. Impacts of climate change on aeroallergens: Past and future. *Clin Exp Allergy*. 2004;34(10):1507-1513. doi:10.1111/j.1365-2222.2004.02061.x.
192. Orlandi F, Ruga L, Romano B, Fornaciari M. Olive flowering as an indicator of local climatic changes. *Theor Appl Climatol*. 2005;81(3-4):169-176. doi:10.1007/s00704-004-0120-1.
193. Damialis A, Halley JM, Gioulekas D, Vokou D. Long-term trends in atmospheric pollen levels in the city of Thessaloniki, Greece. *Atmos Environ*. 2007;41(33):7011-7021. doi:10.1016/j.atmosenv.2007.05.009.
194. Recio M, Rodríguez-Rajo FJ, Jato MV, Trigo MM, Cabezero B. The effect of recent climatic trends on Urticaceae pollination in two bioclimatically different areas in the Iberian Peninsula: Malaga and Vigo. *Clim Change*. 2009;97(1):215-228. doi:10.1007/s10584-009-9620-4.

195. Shea KM, Truckner RT, Weber RW, Peden DB. Climate change and allergic disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;122(3):443-453. doi:10.1016/j.jaci.2008.06.032.
196. Frei T. The effects of climate change in Switzerland 1969–1996 on airborne pollen quantities from hazel, birch and grass. *Grana.* 1998;37(3):172-179. doi:10.1080/00173139809362662.
197. Tormo-Molina R, Gonzalo-Garijo MA, Silva-Palacios I, Muñoz-Rodríguez AF. General trends in airborne pollen production and pollination periods at a mediterranean site (Badajoz, southwest Spain). *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2010;20(7):567-574.
198. Makra L, Matyasovszky I, Deák ÁJ. Trends in the characteristics of allergenic pollen circulation in central Europe based on the example of Szeged, Hungary. *Atmos Environ.* 2011;45(33):6010-6018. doi:10.1016/j.atmosenv.2011.07.051.
199. Midoro-Horiuti T, Goldblum RM, Kurosky A, Wood TG, Brooks EG. Variable expression of pathogenesis-related protein allergen in mountain cedar (*Juniperus ashei*) pollen. *J Immunol.* 2000;164(4):2188-2192. doi:10.1055/s-0029-1237430.Imprinting.
200. Bousquet J, Knani J, Hejjaoui A, et al. Heterogeneity of atopy. I. Clinical and immunologic characteristics of patients allergic to cypress pollen. *Allergy.* 1993;48(3):183-188.
201. Boutin-Forzano S, Gouitaa M, Hammou Y, Ramadour M, Charpin D. Personal risk factors for cypress pollen allergy. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2005;60(4):533-535. doi:10.1111/j.1398-9995.2005.00744.x.
202. Sin AZ, Ersoy R, Gulbahar O, Ardeniz O, Gokmen NM, Kokuludag A. Prevalence of cypress pollen sensitization and its clinical importance in Izmir, Turkey, with cypress allergy assessed by nasal provocation. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2008;18(1):46-51.

203. Ramirez DA. The natural history of mountain cedar pollinosis. *J Allergy Clin Immunol*. 1984;73(1 PART 1):88-93. doi:10.1016/0091-6749(84)90489-5.
204. Reid MJ, Schwietz LA, Whisman BA, Moss RB. Mountain Cedar Pollinosis: Can It Occur in Non-Atopics? *Allergy Asthma Proc*. 1988;9(3):8. doi:http://dx.doi.org/10.2500/108854188779023450.
205. Midoro-Horiuti T, Brooks EG, Goldblum RM. Pathogenesis-related proteins of plants as allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2001;87(4):261-271. doi:10.1016/S1081-1206(10)62238-7.
206. Shahali Y, Sutra JP, Haddad I, et al. Proteomics of cypress pollen allergens using double and triple one-dimensional electrophoresis. *Electrophoresis*. 2012;33(3):462-469. doi:10.1002/elps.201100324.
207. Aceituno E, Del Pozo V, Mínguez A, et al. Molecular cloning of major allergen from *cupressus arizonica* pollen: Cup a 1. *Clin Exp Allergy*. 2000;30(12):1750-1758. doi:10.1046/j.1365-2222.2000.00949.x.
208. Alisi C, Afferni C, Iacovacci P, et al. Rapid isolation, characterization, and glycan analysis of Cup a 1, the major allergen of Arizona cypress (*Cupressus arizonica*) pollen. *Allergy*. 2001;56(10):978-984.
209. Mistrello G, Roncarolo D, Zanoni D, et al. Allergenic relevance of *Cupressus arizonica* pollen extract and biological characterization of the allergoid. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002;129(4):296-304. doi:10.1159/000067590.
210. Iacovacci P, Afferni C, Butteroni C, et al. Comparison between the native glycosylated and the recombinant Cup a1 allergen: Role of carbohydrates in the histamine release from basophils. *Clin Exp Allergy*. 2002;32(11):1620-1627. doi:10.1046/j.1365-2222.2002.01516.x.

211. Arilla MC, Ibarrola I, García R, De La Hoz B, Martínez A, Asturias JA. Quantification of the major allergen from cypress (*Cupressus arizonica*) pollen, Cup a 1, by monoclonal antibody-based ELISA. *Int Arch Allergy Immunol*. 2004;134(1):10-16. doi:10.1159/000077528.
212. Pico de Coana Y, Mistrello G, Roncarolo D, Raddi P, Fernández-Caldas E, Carnés J, Alonso C. Putative allergen Cup a 2 variant 1 - *Cupressus arizonica* (Arizona cypress). <http://www.uniprot.org/uniprot/A0T2M4>.
213. Pico de Coana Y, Parody N, Fuertes MÁ, et al. Molecular cloning and characterization of Cup a 4, a new allergen from *Cupressus arizonica*. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;401(3):451-457. doi:10.1016/j.bbrc.2010.09.079.
214. Sánchez-López J, Asturias JA, Enrique E, Suárez-Cervera M, Bartra J. *Cupressus arizonica* pollen: A new pollen involved in the lipid transfer protein syndrome? *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21(7):522-526.
215. Ford SA, Baldo BA, Panzani R, Bass D. Cypress (*Cupressus sempervirens*) pollen allergens: identification by protein blotting and improved detection of specific IgE antibodies. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1991;95(2-3):178-183.
216. Arilla MC, Ibarrola I, Martínez A, Asturias JA. Quantification assay for the major allergen of *Cupressus sempervirens* pollen, Cup s 1, by sandwich ELISA. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2004;32(6):319-325. doi:10.1016/S0301-0546(04)79263-0.
217. Togawa A, Panzani RC, Garza MA, et al. Identification of Italian cypress (*Cupressus sempervirens*) pollen allergen Cup s 3 using homology and cross-reactivity. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2008;97(3):336-342. doi:10.1016/S1081-1206(10)60798-3.
218. Shahali Y, Sutra JP, Charpin D, et al. Differential IgE sensitization to cypress pollen associated to a basic allergen of 14 kDa. *FEBS J*. 2012;279(8):1445-1455. doi:10.1111/j.1742-4658.2012.08536.x.

219. Bistoni O, Emiliani C, Agea E, et al. Biochemical and immunological characterization of pollen-derived β -galactosidase reveals a new cross-reactive class of allergens among Mediterranean trees. *Int Arch Allergy Immunol*. 2005;136(2):123-133. doi:10.1159/000083319.
220. Barderas R, Villalba M, Rodríguez R. Recombinant expression, purification and cross-reactivity of chenopod profilin: rChe a 2 as a good marker for profilin sensitization. *Biol Chem*. 2004;385(8):731-737. doi:10.1515/BC.2004.089.
221. Midoro-Horiuti T, Goldblum RM, Kurosky A, Goetz DW, Brooks EG. Isolation and characterization of the mountain cedar (*Juniperus ashei*) pollen major allergen, Jun a 1. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;104(3 Pt 1):608-612. doi:10.1016/S0091-6749(99)70331-3.
222. Liu Z, Bhattacharyya S, Ning B, et al. Plant-expressed recombinant mountain cedar allergen jun a 1 is allergenic and has limited pectate lyase activity. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010;153(4):347-358. doi:10.1159/000316345.
223. Yokoyama M, Miyahara M, Shimizu K, Kino K, Tsunoo H. Purification, identification, and cDNA cloning of Jun a 2, the second major allergen of mountain cedar pollen. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;275(1):195-202. doi:10.1006/bbrc.2000.3273.
224. Midoro-Horiuti T, Goldblum RM, Brooks EG. Identification of mutations in the genes for the pollen allergens of eastern red cedar (*Juniperus virginiana*). *Clin Exp Allergy*. 2001;31(5):771-778. doi:10.1046/j.1365-2222.2001.01079.x.
225. Tinghino R, Barletta B, Palumbo S, et al. Allergens, IgE, mediators, inflammatory mechanisms molecular characterization of a cross-reactive juniperus oxycedrus pollen allergen, jun o 2: A novel calcium-binding allergen. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;101(6 Pt 1):772-777. doi:10.1016/S0091-6749(98)70306-9.
226. Yasueda H, Yui Y, Shimizu T, Shida T. Isolation and partial characterization of the major allergen from Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen. *J Allergy Clin Immunol*. 1983;71(1):77-86.

227. Sone T, Komiyama N, Shimizu K, Kusakabe T, Morikubo K, Kino K. Cloning and sequencing of cDNA coding for Cry j I, a major allergen of Japanese cedar pollen. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994;199(2):619-625. doi:10.1006/bbrc.1994.1273.
228. Ohtsuki T, Taniguchi Y, Kohno K, Fukuda S, Usui M, Kurimoto M. Cry j 2, a major allergen of Japanese cedar pollen, shows polymethylgalacturonase activity. *Allergy.* 1995;50(6):483-488. doi:10.1111/j.1398-9995.1995.tb02489.x.
229. Sakaguchi M, Inouye S, Taniai M, Ando S, Usui M, Matuhasi T. Identification of the second major allergen of Japanese cedar pollen. *Allergy.* 1990;45(4):309-312. doi:10.1111/j.1398-9995.1990.tb00501.x.
230. Komiyama N, Sone T, Shimizu K, Morikubo K, Kino K. cDNA cloning and expression of Cry j II, the second major allergen of Japanese cedar pollen. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994;201(2):1021-1028. doi:10.1006/bbrc.1994.1804.
231. Fujimura T, Futamura N, Midoro-Horiuti T, et al. Isolation and characterization of native Cry j 3 from Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2007;62(5):547-553. doi:10.1111/j.1398-9995.2007.01331.x.
232. Futamura N, Mukai Y, Sakaguchi M, et al. Isolation and characterization of cDNAs that encode homologs of a pathogenesis-related protein allergen from *Cryptomeria japonica*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2002;66(11):2495-2500. doi:10.1271/bbb.66.2495.
233. Futamura N, Tani N, Tsumura Y, Nakajima N, Sakaguchi M, Shinohara K. Characterization of genes for novel thaumatin-like proteins in *Cryptomeria japonica*. *Tree Physiol.* 2006;26(1):51-62.
234. Fujimura T, Shigeta S, Suwa T, et al. Molecular cloning of a class IV chitinase allergen from Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen and competitive inhibition of its immunoglobulin E-binding capacity by latex C-serum. *Clin Exp Allergy.* 2005;35(2):234-243. doi:10.1111/j.1365-2222.2005.02167.x.

235. Kawamoto S, Fujimura T, Nishida M, et al. Molecular cloning and characterization of a new Japanese cedar pollen allergen homologous to plant iso flavone reductase family. *Clin Exp Allergy*. 2002;32:1064-1070.
236. Ibrahim ARN, Kawamoto S, Nishimura M, et al. A new lipid transfer protein homolog identified as an IgE-binding antigen from Japanese cedar pollen. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2010;74(3):504-509. doi:10.1271/bbb.90685.
237. Fujimura T, Kawamoto S. Spectrum of allergens for *Japanese cedar* pollinosis and impact of component-resolved diagnosis on allergen-specific immunotherapy. *Allergol Int*. 2015;64(4):312-320. doi:10.1016/j.alit.2015.05.008.
238. Futamura N, Ujino-Ihara T, Nishiguchi M, et al. Analysis of expressed sequence tags from *Cryptomeria japonica* pollen reveals novel pollen-specific transcripts. *Tree Physiol*. 2006;26(12):1517-1528.
239. Futamura N, Totoki Y, Toyoda A, et al. Characterization of expressed sequence tags from a full-length enriched cDNA library of *Cryptomeria japonica* male strobili. *BMC Genomics*. 2008;9:383. doi:10.1186/1471-2164-9-383.
240. Suzuki M, Komiyama N, Itoh M, et al. Purification, characterization and molecular cloning of Cha o 1, a major allergen of *Chamaecyparis obtusa* (Japanese cypress) pollen. *Mol Immunol*. 1996;33(4-5):451-460. doi:10.1016/0161-5890(95)00147-6.
241. Mori T, Yokoyama M, Komiyama N, Okano M, Kino K. Purification, identification, and cDNA cloning of Cha o 2, the second major allergen of Japanese cypress pollen. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;263(1):166-171. doi:10.1006/bbrc.1999.1261.
242. Pham NH, Baldo BA, Bass DJ. Cypress pollen allergy. Identification of allergens and crossreactivity between divergent species. *Clin Exp Allergy*. 1994;24(6):558-565. doi:10.1111/j.1365-2222.1994.tb00953.x.

243. Bar Dayan Y, Keynan N, Waisel Y, Pick a I, Tamir R. *Podocarpus gracilior* and *Callitris verrucosa*--newly identified allergens that crossreact with *Cupressus sempervirens*. *Clin Exp Allergy*. 1995;25(5):456-460.
244. Barletta B, Afferni C, Tinghino R, Mari A, Di Felice G, Pini C. Cross-reactivity between *Cupressus arizonica* and *Cupressus sempervirens* pollen extracts. *J Allergy Clin Immunol*. 1996;98(4):797-804. doi:10.1016/S0091-6749(96)70129-X.
245. Sakaguchi M, Masuda K, Yasueda H, Saito S, DeBoer DJ, Tsujimoto H. IgE reactivity and cross-reactivity to Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) and cypress (*Chamaecyparis obtusa*) pollen allergens in dogs with atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol*. 2001;83(1-2):69-77. doi:10.1016/S0165-2427(01)00362-2.
246. Pham NH, Baldo BA. Allergenic relationship between taxonomically diverse pollens. *Clin Exp Allergy*. 1995;25(7):599-606. doi:10.1111/j.1365-2222.1995.tb01107.x.
247. González EM, Villalba M, Rodríguez R. Allergenic cross-reactivity of olive pollen. *Allergy*. 2000;55(7):658-663. doi:10.1034/j.1398-9995.2000.00406.x.
248. Gastaminza G, Lombardero M, Bernaola G, et al. Allergenicity and cross-reactivity of pine pollen. *Clin Exp Allergy*. 2009;39(9):1438-1446. doi:10.1111/j.1365-2222.2009.03308.x.
249. Petersen A, Suck R, Hagen S, Cromwell O, Fiebig H, Becker WM. Group 13 grass allergens: Structural variability between different grass species and analysis of proteolytic stability. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107(5 SUPPL.):856-862. doi:10.1067/mai.2001.114114.
250. Sone T, Dairiki K, Morikubo K, et al. Recognition of T cell epitopes unique to Cha o 2, the major allergen in Japanese cypress pollen, in allergic patients cross-reactive to Japanese cedar and Japanese cypress pollen. *Allergol Int*. 2009;58(2):237-245. doi:10.2332/allergolint.08-OA-0027.

251. Kingetsu I, Ohno N, Hayashi N, Sakaguchi M, Inouye S, Saito S. Common antigenicity between Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen and Japanese cypress (*Chamaecyparis obtusa*) pollen. I. H-2 complex affects cross responsiveness to Cry j 1 and Cha o 1 at the T- and B-cell level in mice. *Immunology*. 2000;99(4):625-629. doi:10.1046/j.1365-2567.2000.00020.x.
252. Barral P, Suárez C, Batanero E, et al. An olive pollen protein with allergenic activity, Ole e 10, defines a novel family of carbohydrate-binding modules and is potentially implicated in pollen germination. *Biochem J*. 2005;390(Pt 1):77-84. doi:10.1042/BJ20050456.
253. Paschinger K, Fabini G, Schuster D, Rendić D, Wilson IBH. Definition of immunogenic carbohydrate epitopes. *Acta Biochim Pol*. 2005;52(3):629-632. doi:055203629 [pii].
254. Afferni C, Iacovacci P, Barletta B, et al. Role of carbohydrate moieties in IgE binding to allergenic components of *Cupressus arizonica* pollen extract. *Clin Exp Allergy*. 1999;29(8):1087-1094. doi:10.1046/j.1365-2222.1999.00590.x.
255. Iacovacci P, Pini C, Afferni C, et al. A monoclonal antibody specific for a carbohydrate epitope recognizes an IgE-binding determinant shared by taxonomically unrelated allergenic pollens. *Clin Exp Allergy*. 2001;31(3):458-465. doi:10.1046/j.1365-2222.2001.01019.x.
256. Midoro-Horiuti T, Schein CH, Mathura V, et al. Structural basis for epitope sharing between group 1 allergens of cedar pollen. *Mol Immunol*. 2006;43(6):509-518. doi:10.1016/j.molimm.2005.05.006.
257. Czerwinski EW, Midoro-Horiuti T, White MA, Brooks EG, Goldblum RM. Crystal structure of jun a 1, the major cedar pollen allergen from *Juniperus ashei*, reveals a parallel β -helical core. *J Biol Chem*. 2005;280(5):3740-3746. doi:10.1074/jbc.M409655200.

258. Wopfner N, Dissertori O, Ferreira F, Lackner P. Calcium-Binding Proteins and Their Role in Allergic Diseases. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2007;27(1):29-44. doi:10.1016/j.iac.2006.10.003.
259. Katelaris CH. Food allergy and oral allergy or pollen-food syndrome. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2010;10(3):246-251. doi:10.1097/ACI.0b013e32833973fb.
260. Hugues B, Didierlaurent A, Charpin D. Cross-reactivity between cypress pollen and peach: A report of seven cases. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2006;61(10):1241-1243. doi:10.1111/j.1398-9995.2006.01156.x.
261. Kondo Y, Tokuda R, Urisu A, Matsuda T. Assessment of cross-reactivity between Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen and tomato fruit extracts by RAST inhibition and immunoblot inhibition. *Clin Exp Allergy*. 2002;32(4):590-594. doi:10.1046/j.0954-7894.2002.01337.x.
262. Caimmi D, Barber D, Hoffmann-Sommergruber K, et al. Understanding the molecular sensitization for Cypress pollen and peach in the Languedoc-Roussillon area. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2013;68(2):249-251. doi:10.1111/all.12073.
263. Shahali Y, Nicaise P, Brázdová A, et al. Complementarity between microarray and immunoblot for the comparative evaluation of IgE Repertoire of French and Italian cypress pollen allergic patients. *Folia Biol (Czech Republic)*. 2014;60(4):192-201.
264. Martinez S, Gouitaa M, Tummino C, Palot A, Charpin D, Chanez P. Le syndrome orange-cyprès. *Rev Fr Allergol*. 2014;54(3):231. doi:10.1016/j.reval.2014.02.017.
265. Broek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 Revision. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126(3):466-476. doi:10.1016/j.jaci.2010.06.047.
266. Comité Ejecutivo de la GEMA. *GEMA 4.0 . Guía Española Para El Manejo Del Asma.*; 2015. doi:10.1017/CBO9781107415324.004.

267. Skin tests used in type I allergy testing Position paper. Sub-Committee on Skin Tests of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy*. 1989;44 Suppl 1:1-59.
268. Paul-Dauphin A, Guillemin F, Virion JM, Briançon S. Bias and precision in visual analogue scales: a randomized controlled trial. *Am J Epidemiol*. 1999;150(10):1117-1127. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a009937.
269. Bachert C. New Trends in Allergy and Atopic Eczema. In: *New Trends in Allergy IV*. eds. Ring J, Behrendt H, Vieluf D. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012:146. doi:10.1007/978-3-642-55994-5.
270. Ellis AK, Steacy LM, Hobsbawn B, Conway CE, Walker TJ. Clinical validation of controlled grass pollen challenge in the Environmental Exposure Unit (EEU). *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2015;11(1):5. doi:10.1186/s13223-015-0071-3.
271. Casas AP. Prevalencia de sensibilización a los pólenes de los árboles plantados en la ciudad de Barcelona. Tesis doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona.2012.
272. Yamada T, Saito H, Fujieda S. Present state of Japanese cedar pollinosis: The national affliction. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133(3):632-639.e5. doi:10.1016/j.jaci.2013.11.002.
273. Rodríguez D, Dávila I, Sánchez E, Barber D, Lorente F, Sánchez J. Relationship between airborne pollen counts and the results obtained using 2 diagnostic methods: Allergen-specific immunoglobulin E concentrations and skin prick tests. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21(3):222-228.
274. Feliu A, González-de-Olano D, González E, et al. A multicenter study of sensitization profiles in an allergic pediatric population in an area with high allergen exposure. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2013;23(5):337-344.
275. Scala E, Alessandri C, Bernardi ML, et al. Cross-sectional survey on immunoglobulin e reactivity in 23 077 subjects using an allergenic molecule-based microarray detection system. *Clin Exp Allergy*. 2010;40(6):911-921.

276. Stringari G, Tripodi S, Caffarelli C, et al. The effect of component-resolved diagnosis on specific immunotherapy prescription in children with hay fever. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(1). doi:10.1016/j.jaci.2014.01.042.
277. Panzner P, Vachová M, Vítovcová P, Brodská P, Vlas T. A comprehensive analysis of middle-european molecular sensitization profiles to pollen allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 2014;164(1):74-82. doi:10.1159/000362760.
278. Takagi K, Teshima R, Okunuki H, et al. Survey of Food and Airborne Allergen-specific IgE Levels in a General Population of 3-year-old Japanese Children. *Allergol Int*. 2005;54(May):581-587. doi:10.2332/allergolint.54.581.
279. Caro Rebollo J, Moneo Hernández MI, Cabañas Bravo MJ, Garín Moreno AL, Oliván Otal MP, Cenarro Guerrero T. Valoración del estudio alérgico en niños con atopia. *Pediatr Aten Primaria*. 2010;12(46):227-237.
280. Hernández N, Viñas M, Castillo MJ II. SEICAP ÁVILA 2013. Allergol et Immunopathol Proceedings. Catálogo virtual SEICAP. 2015.
281. Agea E, Bistoni O, Russano A, et al. The biology of cypress allergy. *Allergy*. 2002;57(10):959-960. doi:10.1034/j.1398-9995.2002.23832_4.x.
282. Tanaka A, Minoguchi K, Pawankar R, Adachi M. Asthma in Patients With Japanese Cedar Pollinosis. *World Allergy Organ J*. 2012;5(April):S218-S222. doi:10.1097/WOX.0b013e3182554694.
283. Popescu F-D. Cross-reactivity between aeroallergens and food allergens. *World J Methodol*. 2015;5(2):31-50. doi:10.5662/wjm.v5.i2.31.
284. Barber D, De La Torre F, Feo F, et al. Understanding patient sensitization profiles in complex pollen areas: A molecular epidemiological study. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2008;63(11):1550-1558. doi:10.1111/j.1398-9995.2008.01807.x.
285. Barberini S, Della Rocca G, Danti R, et al. Different allergenicity of pollen extracts of three mediterranean cypress species accounted for cytological observations. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2015;47(5):149-155.

286. André C, Dumur JP, Hrabina M, Lefebvre E, Sicard H. [Juniperus ashei: the gold standard of the Cupressaceae]. *Allerg Immunol (Paris)*. 2000;32(3):104-106.
287. Hrabina M, Dumur J-P, Sicard H, Viatte a, Andre C. Diagnosis of cypress pollen allergy: in vivo and in vitro standardization of a *Juniperus ashei* pollen extract. *Allergy*. 2003;58(8):808-813. doi:10.1034/j.1398-9995.2003.00247.x.
288. Shahali Y, Sutra JP, Fasoli E, et al. Allergomic study of cypress pollen via combinatorial peptide ligand libraries. *J Proteomics*. 2012;77:101-110. doi:10.1016/j.jprot.2012.07.010.
289. Ciprandi G, Cirillo I. Monosensitization and polysensitization in allergic rhinitis. *Eur J Intern Med*. 2011;22(6):e75-e79. doi:10.1016/j.ejim.2011.05.009.
290. Bousquet PJ, Castelli C, Daures JP, et al. Assessment of allergen sensitization in a general population-based survey (European Community Respiratory Health Survey I). *Ann Epidemiol*. 2010;20(11):797-803. doi:10.1016/j.annepidem.2010.05.012.
291. Arbes SJ, Gergen PJ, Elliott L, Zeldin DC. Prevalences of positive skin test responses to 10 common allergens in the US population: Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;116(2):377-383. doi:10.1016/j.jaci.2005.05.017.
292. Craig TJ, King TS, Lemanske RF, et al. Aeroallergen sensitization correlates with PC20 and exhaled nitric oxide in subjects with mild-to-moderate asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(3):671-677. doi:10.1016/j.jaci.2007.12.1153.
293. Baatenburg De Jong A, Dikkeschei LD, Brand PLP. High prevalence of sensitization to aeroallergens in children 4 yrs of age or younger with symptoms of allergic disease. *Pediatr Allergy Immunol*. 2009;20(8):735-740. doi:10.1111/j.1399-3038.2009.00864.x.

294. Fernández-González D, González-Parrado Z, Vega-Maray AM, et al. Platanus pollen allergen, Pla a 1: Quantification in the atmosphere and influence on a sensitizing population. *Clin Exp Allergy*. 2010;40(11):1701-1708. doi:10.1111/j.1365-2222.2010.03595.x.
295. Jiang J. Regulation of Hh/Gli signaling by dual ubiquitin pathways. *Cell Cycle*. 2006;5(21):2457-2463. doi:3406 [pii].
296. Vidal C, Sanmartín C, Armisen M, Rodríguez V, Linneberg A, Gonzalez-Quintela A. Minor interference of cross-reactive carbohydrates with the diagnosis of respiratory allergy in standard clinical conditions. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;157(2):176-185. doi:10.1159/000324447.
297. Ariano R, Panzani RC, Saraga J. New clinical data and therapeutic prospects in Cupressaceae pollen allergy. *Allerg Immunol (Paris)*. 2000;32(3):135-138.
298. Cabrera-Freitag P, Goikoetxea MJ, Beorlegui C, et al. Can component-based microarray replace fluorescent enzymeimmunoassay in the diagnosis of grass and cypress pollen allergy? *Clin Exp Allergy*. 2011;41(10):1440-1446. doi:10.1111/j.1365-2222.2011.03818.x.
299. Newson RB, Van Ree R, Forsberg B, et al. Geographical variation in the prevalence of sensitization to common aeroallergens in adults: The GA2LEN survey. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2014;69(5):643-651. doi:10.1111/all.12397.
300. Nieto M, Lafuente I, Calderon R, et al. Component-resolved diagnosis: Performance of specific IgE to *Alternaria* compared to Alt a 1. *Pediatr Allergy Immunol*. 2014;25(8):832-834. doi:10.1111/pai.12305.
301. Abengózar R. Estudio observacional para la determinación de los perfiles de sensibilización alérgica a pólenes en el área sanitaria de Toledo. Establecimiento del grado de concordancia entre diferentes técnicas diagnósticas y papel de los panalérgenos en la interpretación diagnóstica de la alérgia a pólenes. Tesis doctoral. Universidad de Alcalá. 2014..

302. Gonzalez-Mancebo E, Gonzalez-de-Olano D, Trujillo M, et al. Prevalence of Sensitization to Lipid Transfer Proteins and Profilins in a Population of 430 Patients in the South of Madrid. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21(4):278-282.
303. Huertas AJ, Carreño A, Mérida C, Pajarón-Fernández MJ, Ramírez-Hernández M, Carnés J. Profilin sensitisation in a Mediterranean population. *Allergologia et immunopathologia*. 2014;42(5):387-394.
304. Hauser M, Roulias A, Ferreira F, Egger M. Panallergens and their impact on the allergic patient. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2010;6(1):1. doi:10.1186/1710-1492-6-1.
305. Passalacqua G, Melioli G, Bonifazi F, et al. The additional values of microarray allergen assay in the management of polysensitized patients with respiratory allergy. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2013;68(8):1029-1033. doi:10.1111/all.12194.
306. Malandain H. IgE-reactive carbohydrate epitopes--classification, cross-reactivity, and clinical impact (2nd part). *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2005;37(7):247-256.
307. Douladiris N, Savvastianos S, Roumpedaki I, Skevaki C, Mitsias D, Papadopoulos NG. A molecular diagnostic algorithm to guide pollen immunotherapy in southern europe: Towards component-resolved management of allergic diseases. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;162(2):163-172. doi:10.1159/000353113.
308. Mari A. IgE to cross-reactive carbohydrate determinants: analysis of the distribution and appraisal of the in vivo and in vitro reactivity. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002;129(4):286-295. doi:67591.
309. Mari A, Ooievaar-De Heer P, Scala E, et al. Evaluation by double-blind placebo-controlled oral challenge of the clinical relevance of IgE antibodies against plant glycans. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2008;63(7):891-896. doi:10.1111/j.1398-9995.2008.01703.x.

310. Villalta D, Asero R. Analysis of the allergenic profile of patients hypersensitive to pollen pan-allergens living in two distinct areas of northern Italy. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2011;43(2):54-57.
311. Villalta D, Conte M, Asero R, Da Re M, Stella S, Martelli P. Isolated IgE reactivity to native walnut vicilin-like protein (nJug r 2) on ISAC™ microarray is due to cross-reactive carbohydrate epitopes. *Clin Chem Lab Med.* 2013;51(10):1991-1995. doi:10.1515/cclm-2013-0027.
312. Salgueiro RL, Aparicio R, Valero AG, Colomer N, Hernández de Rojas MD. *CCD 'S Sensitization Profile in a Mediterranean Area.* Póster 307. EAACI 2014.
313. Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. *Clin Exp Allergy.* 2010;40(10):1442-1460. doi:10.1111/j.1365-2222.2010.03585.x.
314. Wensing M, Akkerdaas JH, Van Leeuwen WA, et al. IgE to Bet v 1 and profilin: Cross-reactivity patterns and clinical relevance. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;110(3):435-442. doi:10.1067/mai.2002.126380.
315. Chusakul S, Phannaso C, Sangsarsri S, Aeumjaturapat S, Snidvongs K. House-dust mite nasal provocation: A diagnostic tool in perennial rhinitis. *Am J Rhinol Allergy.* 2010;24(2):133-136. doi:10.2500/ajra.2010.24.3441.
316. Wide L, Bennich H, Johansson SGO. Diagnosis of Allergy By an in-Vitro Test for Allergen Antibodies. *Lancet.* 1967;290(7526):1105-1107. doi:10.1016/S0140-6736(67)90615-0.
317. Aas K, Johansson SGO. The radioallergosorbent test in the in vitro diagnosis of multiple reaginic allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 1971;48(3):134-142. doi:10.1016/0091-6749(71)90008-X.
318. Berg TLO, Johansson SGO. Allergy diagnosis with the radioallergosorbent test. A comparison with the results of skin and provocation tests in an unselected group of children with asthma and hay fever. *J Allergy Clin Immunol.* 1974;54(4):209-221. doi:10.1016/0091-6749(74)90063-3.

319. Muittari A. Correlation of RAST and provocation tests for diagnosing allergic asthma and rhinitis. *Ann Allergy*. 1978;40(6):406-408.
320. Petersson G, Dreborg S, Ingestad R. Clinical history, skin prick test and RAST in the diagnosis of birch and timothy pollinosis. *Allergy*. 1986;41(6):398-407.
321. Segboer CL, Holland CT, Reinartz SM, et al. Nasal hyper-reactivity is a common feature in both allergic and nonallergic rhinitis. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2013;68(11):1427-1434. doi:10.1111/all.12255.
322. Agache I, Bilò M, Braunstahl GJ, et al. In vivo diagnosis of allergic diseases - Allergen provocation tests. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2015;70(4):355-365. doi:10.1111/all.12586.
323. Goldblum RM, Ning B, Endsley MA, et al. IgE antibodies to mountain cedar pollen predominantly recognize multiple conformational epitopes on Jun a 1. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(4):967-969. doi:10.1016/j.jaci.2014.05.009.
324. Vaquero C, Rodríguez-Torres A, Rojo J, Pérez-Badia R. Airborne pollen of allergenic herb species in Toledo (Spain). *Environ Monit Assess*. 2013;185(1):335-346. doi:10.1007/s10661-012-2556-6.
325. White JF, Levin L, Villareal M, et al. Lack of correlation between regional pollen counts and percutaneous reactivity to tree pollen extracts in patients with seasonal allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2005;94(2):240-246. doi:10.1016/S1081-1206(10)61302-6.
326. Giner MM. Unexpected pollinosis or insufficient pollen records? Importance of regional monitoring. *Int J Environ Health Res*. 2002;12(2):187-192. doi:10.1080/09603120220129364.
327. Davies HJ. Exposure of hay fever subjects to an indoor environmental grass pollen challenge system. *Clin Allergy*. 1985;15(5):419-427.

328. Fernando Florido J, Gonzalez Delgado P, Saenz De San Pedro B, et al. High levels of *Olea europaea* pollen and relation with clinical findings. *Int Arch Allergy Immunol*. 1999;119(2):133-137. doi:10.1159/000024188.
329. Andrews CP, Ratner PH, Ehler BR, et al. The mountain cedar model in clinical trials of seasonal allergic rhinoconjunctivitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2013;111(1):9-13. doi:10.1016/j.anai.2013.05.004.
330. Kerkhof M, Schouten JP, De Monchy JGR. The association of sensitization to inhalant allergens with allergy symptoms: The influence of bronchial hyperresponsiveness and blood eosinophil count. *Clin Exp Allergy*. 2000;30(10):1387-1394. doi:10.1046/j.1365-2222.2000.00907.x.
331. Sposato B, Scalese M. Prevalence and real clinical impact of *Cupressus sempervirens* and *Juniperus communis* sensitisations in Tuscan “ Maremma” , Italy. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2013;41(1):17-24. doi:10.1016/j.aller.2011.08.001.
332. Dubus J, Melluso J, Bodiou A. Allergy to cypress pollen Occupational allergy to cyclamen. *Allergy*. 2000:410-411.
333. Charpin D, Boutin-Forzano S GM. Cypress allergy: atopy or allergy? *Allergy*. 2003;58(Suppl.74):383-384.
334. Bousquet J, Anto JM, Bachert C, et al. Factors responsible for differences between asymptomatic subjects and patients presenting an IgE sensitization to allergens. A GA2LEN project. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2006;61(6):671-680. doi:10.1111/j.1398-9995.2006.01048.x.
335. Zwick H, Popp W, Jäger S, Wagner C, Reiser K, Horak F. Pollen sensitization and allergy in children depend on the pollen load. *Allergy*. 1991;46(5):362-366.
336. Lombardero M, Obispo T, Calabozo B, Lezaún a, Polo F, Barber D. Cross-reactivity between olive and other species. Role of Ole e 1-related proteins. *Allergy*. 2002;57 Suppl 7(s71):29-34.

