

Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas

Volumen 13
Volume

Número 1
Number

Enero-Abril 2004
January-April

Artículo:

Bases inmunológicas y moleculares de la alergenidad

Derechos reservados, Copyright © 2004:
Colegio Mexicano de Alergia, Asma e Inmunología Pediátrica, AC

**Otras secciones de
este sitio:**

-  **Índice de este número**
-  **Más revistas**
-  **Búsqueda**

***Others sections in
this web site:***

-  ***Contents of this number***
-  ***More journals***
-  ***Search***



Medigraphic.com

Bases inmunológicas y moleculares de la alergenidad

QFB. María Martha Pedraza Escalona,* Dra. Adela Rodríguez Romero**

RESUMEN

Las alergias mediadas por anticuerpos IgE son consideradas un grave problema de salud en los países industrializados, debido a la capacidad de algunas proteínas normalmente inocuas (alergenos) para inducir reacciones alérgicas en pacientes sensibilizados. La comunidad científica realiza diversos estudios inmunológicos y moleculares para determinar los fundamentos del potencial alérgico y de la reactividad cruzada de los alergenos, los cuales podrían estar relacionados con las características intrínsecas de estas moléculas. Como objetivos principales se tienen el desarrollar inmunoterapias apropiadas para evitar estas enfermedades, predecir dicho potencial en productos y alimentos nuevos, y establecer las herramientas de diagnóstico adecuadas. En este trabajo se describen algunos estudios realizados primordialmente a las regiones inmunodominantes que interaccionan con los anticuerpos IgE.

Palabras clave: Alergenos, alergenidad, reactividad cruzada, epítomos.

ABSTRACT

IgE-mediated allergies are considered a serious problem of health in the industrialized world, due to the capacity of some normally innocuous proteins (allergens) to induce allergic reactions in sensitized patients. The scientific community realizes several immunological and molecular studies to determine the basis of the allergenic potential and the cross-reactivity of the allergens, which could be related to the intrinsic characteristics of these molecules. The main goals are to develop appropriate immunotherapy to avoid these diseases, to predict such potential in products and new foods, and to establish suitable tools of diagnosis. In this work we described several studies performed fundamentally in the regions that interact with the IgE antibodies.

Key words: Allergens, allergenicity, cross-reactivity, epitopes.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades alérgicas representan un grave problema de salud pública, principalmente en los países industrializados, afectando a casi 500 millones de personas en el mundo, sobre todo a la población infantil y

juvenil. Enfermedades tales como rinitis, asma, dermatitis atópica y conjuntivitis están condicionadas a factores ambientales y a la predisposición genética de cada individuo, manifestándose como una respuesta exagerada contra sustancias normalmente inocuas denominadas alergenos. Los alergenos de naturaleza proteica son capaces de inducir una respuesta inmune, al interactuar con anticuerpos IgE presentes en la superficie de mastocitos que, al activarse, liberan mediadores de la inflamación como histamina, prostaglandina y leucotrienos entre otros, desencadenando las reacciones alérgicas.^{1,2}

En la estructura molecular de las proteínas alérgicas, existen regiones inmunodominantes, denominadas epítomos, las cuales interaccionan con los

Departamento de Bioquímica del Instituto de Química, UNAM.

* Estudiante de Doctorado en el Posgrado de Ciencias Biomédicas.

** Investigadora Titular de tiempo completo.

fragmentos de unión al antígeno (Fab) de los anticuerpos IgE. Si el alérgeno fuera una proteína globular de aproximadamente 20 kDa, con un área superficial de 500 nm², el Fab cubriría sólo entre el 5 al 10% de esta superficie al formarse el complejo inmune Fab-alérgeno.³

A nivel estructural se han realizado estudios cristalográficos de algunos complejos inmunes Fab-antígeno, estableciendo que son entre 15 a 22 residuos de aminoácidos de cada molécula los que están involucrados en esta interacción. De éstos sólo de 3 a 5 residuos son los que contribuyen a la energía de unión (epítomos energéticos) a través de múltiples enlaces complementarios de tipo no covalente, originados por fuerzas electrostáticas, de van der Waals e hidrofóbicas, las cuales generan constantes de asociación con valores que fluctúan entre 10⁵ a 10⁸ M⁻¹.⁴⁻⁷

Diversos estudios inmunológicos, utilizando péptidos derivados de la secuencia lineal de algunos alérgenos, han permitido establecer la presencia de epítomos lineales reconocidos por IgE de sueros de pacientes sensibilizados. Sin embargo, de manera general, los residuos que conforman un epítomo se encuentran en la superficie de dichas proteínas, localizados en diferentes posiciones de la secuencia lineal, pero muy cercanos si la proteína se encuentra en su forma plegada, razón por lo cual se les ha denominado como epítomos conformacionales.³ El conocimiento de la estructura tridimensional de los alérgenos está revelando a los epítomos conformacionales presentes en éstos; no obstante, existe un número limitado de dichos reportes, entre los que se encuentran, sólo por mencionar algunos a Bet v 1, Bet v 3, y Bet v 4 del abedul, Phl p 7 del heno, Aln g 4 del aliso, Bra r 1 del nabo y Der f 2 del ácaro.^{8,9}

A nivel internacional se realizan estudios para determinar si estas regiones inmunodominantes en los alérgenos se relacionan con sus características intrínsecas. Es decir, si la complejidad molecular (secuencia de aminoácidos, tipo de estructura secundaria, forma de plegamiento), la solubilidad, la estabilidad, el tamaño y la actividad bioquímica de un alérgeno pueden promover las condiciones inmunológicas necesarias para la sensibilización en el huésped, la interacción con anticuerpos IgE y la inducción de reacciones alérgicas (alergenidad).¹⁰ Estas investigaciones permitirán determinar las características estructurales e inmunológicas que le confieren a una proteína las propiedades para ser considerada un alérgeno. Esto con el fin de desarrollar métodos clínicos eficaces que permitan controlar los procesos alérgicos a través de inmunoterapia específica. En esta revisión describiremos estudios recientes sobre las relaciones existentes entre las características intrínsecas de este tipo de proteínas y su capacidad alérgica.

CARACTERÍSTICAS INTRÍNECAS DE LOS ALÉRGENOS Y SU RELACIÓN CON LA ALERGENICIDAD

A) Modificaciones postraduccionales

La mayoría de los alérgenos son proteínas extracelulares, que suelen sufrir modificaciones postraduccionales, siendo la principal la glicosilación. Las glicoproteínas se forman en el retículo endoplásmico, donde se unen de manera covalente oligosacáridos a los residuos de asparaginas (N-glicanos), de serinas/treoninas (O-glicanos) o bien de prolínas y lisinas en las proteínas de plantas. Estas reacciones se llevan a cabo gracias a la acción de glicosiltransferasas y de algunas glicosidasas. Las glicoproteínas presentan cambios en la estabilidad, la solubilidad, la hidrofobicidad y en la carga eléctrica, ocasionando que los sitios glicosilados sean más visibles al sistema inmune del huésped.^{9,10}

Algunos alérgenos N-glicosilados de plantas, altamente inmunogénicos, presentan azúcares como manosa, fucosa, xilosa y N-acetilglucosamina, en un orden que no se encuentra en los glicanos de mamíferos, estableciendo que este orden es precisamente la clave de la alergenidad.¹¹⁻¹³ Se ha podido demostrar para el caso de alérgenos de olivo como Ole e 1 y de heno como Phl p 1, que después de ser sometidos a procesos de desglicosilación, tales como la oxidación con periodato o ácido trifluorometanosulfónico (TFMS), ambas proteínas perdieron sus propiedades alérgicas, por lo que se pudo deducir que, en estos casos, los azúcares presentes son parte esencial de los epítomos reconocidos por los anticuerpos IgE.^{10,13,14}

B) Estabilidad de los alérgenos

Los principales alérgenos son termoestables y mantienen su alergenidad después del calentamiento, mientras que otros son considerados incompletos por ser susceptibles a pH's bajos y a la acción de enzimas proteolíticas.¹⁵

En experimentos realizados con algunos alérgenos ricos en puentes disulfuro intramoleculares se ha determinado la importancia de éstos en la conservación de la alergenidad. Ejemplos de esto se encuentran en los alérgenos Der f 1, Der f 2, Lep d 2 (alérgenos de ácaros del polvo casero),^{16,17} Sin a 1 (mostaza), Ole e 1 (olivo),¹⁴ la aglutinina del germen de trigo¹⁸ y la lactoglobulina,^{8,19} en donde al reducir dichos puentes o bien eliminarlos por mutagénesis dirigida, los alérgenos pierden su capacidad de unión a IgE's. Este detrimento en la alergenidad se podría explicar esencialmente por la pérdida de la conformación original del alérgeno y por lo tanto de los epítomos conformacionales; o bien, a una menor estabilidad de los mismos, siendo más susceptibles a la digestión enzimática.

C) Similitud con proteínas endógenas

Los alérgenos más potentes son aquellos que presentan las mayores diferencias a las proteínas endógenas del hospedero, puesto que aquellas que presentan gran similitud molecular están involucradas en mecanismos de tolerancia. Sin embargo, recientemente se ha comprobado que el débil estímulo de las proteínas de estructuras relacionadas favorece la respuesta de células TH2, las cuales a través de la producción de citocinas específicas, estimulan la formación de anticuerpos IgE en las células B.^{2,10} Un ejemplo lo encontramos en las lipocalinas exógenas, las cuales tienen una alta similitud con las endógenas y generan alergia.^{21,22} Por otra parte, se ha descrito que las albúminas alérgicas del gato y el perro presentan una alta similitud entre ellas, pero no con las albúminas del humano, lo cual puede indicar que los epítomos de unión a IgE de estos alérgenos son las áreas no homólogas entre estas moléculas.³

D) Enzimas

Los alérgenos con capacidad enzimática presentan en su mayoría actividad de proteasas y nucleasas.¹⁰ Un ejemplo, es el alérgeno del ácaro de polvo casero Der p 1, el cual tiene actividad de cistein-proteasa lo que ayuda a incrementar su permeabilidad en el epitelio bronquial, facilitando así su propio procesamiento. Este alérgeno es además capaz de cortar a CD23 (receptor de baja afinidad para IgE's, el cual regula la síntesis de estas inmunoglobulinas), y a CD25 (la subunidad α del receptor para interleucina-2), ocasionando un desequilibrio en la respuesta inmune, así como un aumento en la producción de IgE's.¹⁹ Las proteasas del ácaro y la fosfolipasa A₂ (principal alérgeno del veneno de abeja) ocasionan la producción de citocinas pro-inflamatorias al estimular directamente a células epiteliales bronquiales, mastocitos y basófilos, aumentando su respuesta alérgica.¹⁰ Phl p 5 (alérgeno del polen del heno), es una nucleasa, que puede reducir su efecto alérgico en presencia de inhibidores de RNasa, no porque pierda su actividad como enzima, sino porque al parecer el inhibidor al unirse a la proteína bloquea los epítomos que son reconocidos por IgE's.^{10,19}

Existen alérgenos que tienen la estructura de enzima, pero en estado inactivo, como en el caso de Bla g 2 (de cucaracha alemana), la cual es una aspártico-proteasa que induce la producción de IgE a niveles más altos que Der p 1, indicándonos que posiblemente sean más importantes las estructuras presentes en estas enzimas y no su función, lo que ocasione la alergenidad.¹⁰

E) Alérgenos que unen calcio

Algunos alérgenos encontrados en plantas y animales unen y transportan Ca²⁺. Éstos presentan de 2 a 8 dominios denominados EF-hands o plegamientos tipo calmodulina, los cuales interactúan con diferentes ligandos

dependientes de calcio.²³ Dentro de esta categoría se ha identificado a la parvalbúmina, el principal alérgeno del pescado, a Phl p 7 del heno, a Aln g 4 del aliso, a Bet v 3 del abedul, a Ole e 3 y Ole e 8 del olivo, a Cyn d 7 del pasto bermuda, a Bra r 1 del orujo, entre otros.²⁴

En estudios realizados con Bet v 3, el cual presenta 3 sitios de unión a Ca²⁺, se propuso que un alérgeno puede asumir de manera reversible diferentes conformaciones, exponiendo epítomos variables que ocasionan interacciones diferentes con IgE de suero de pacientes. Esto se observó debido a que cuando el alérgeno está unido al Ca²⁺ presenta una conformación abierta, haciendo que los residuos expuestos en la superficie sean accesibles a los anticuerpos; mientras que cuando el alérgeno está libre de calcio, éste presenta una conformación cerrada que impide la interacción con estas inmunoglobulinas.²⁵

F) Alérgenos transportadores

En esta categoría se encuentran las lipocalinas, proteínas altamente solubles que transportan retinol, esteroides, lípidos y feromonas.²¹ Los principales alérgenos de este grupo están presentes en animales domésticos comunes de las ciudades industrializadas y en animales de granja; destacando como aeroalérgenos Can f 1 y Can f 2 (perro), Mus m 1 (ratón), Rat n 1 (rata), Equ c 1 y Equ c 2 (caballo) y Bos d 2 (vaca), así como los alérgenos encontrados en alimentos como Bla g 4 (cucaracha) y Bos d 5 (beta-lactoglobulina de leche de vaca).²² Este último, presenta seis regiones de unión a IgE's de suero de pacientes sensibilizados, destacando una secuencia altamente conservada en las lipocalinas rica en ácido aspártico.^{2,22,26}

G) Alérgenos que unen actina

Las profilinas son proteínas de unión a actina, aunque también interactúan con cadenas de poli L-prolina y con algunos fosfolípidos. Se ha encontrado que las áreas superficiales que contienen los epítomos de unión a IgE de este tipo de alérgenos, son las mismas que interactúan con actina, indicando que las áreas expuestas a la superficie, que muestran afinidad por ligandos naturales, son también reconocidas por las regiones variables de estos anticuerpos.²⁵

H) Lectinas

Algunos alérgenos interaccionan con carbohidratos. Ejemplos de esto, lo encontramos en los alérgenos más importantes del látex del árbol del hule *Hevea brasiliensis*, tales como Hev b 6.01, Hev b 6.02 y Hev b 11, los cuales unen oligosacáridos de N-acetilglucosamina, gracias a un dominio de heveína. También se ha descrito este tipo de dominios en otras plantas, destacando Pers a 1 (aguacate), y algunos otros presentes en el plátano, kiwi, y castaña, lo cual podría explicar el hecho

de que aquellas personas sensibles a látex lo son también a estas frutas.²⁷

ESTRUCTURA DE ALERGENOS

En los últimos años se han resuelto varias estructuras cristalográficas de alergenitos, las cuales han servido para los primeros análisis comparativos entre ellos. En 1998, Rouvinen y col. realizan un análisis de las primeras ocho estructuras de alergenitos reportadas en el PDB (Protein Data Bank), estableciendo que éstas tienen en común ser esféricas y elípticas.²⁸ Aalberse y col. en el 2000, realizan una clasificación de alergenitos en base a los plegamientos de estructura secundaria predominantes en 40 de éstos (utilizando la base de datos SCOP), proponiendo una subdivisión en cuatro familias estructurales definidas: aquellos alergenitos con plegamiento tipo hebras β antiparalelas, tipo hélices α , tipo hojas β antiparalelas asociadas íntimamente a una o más hélices α y aquéllos tipo hojas β y hélices α poco asociadas.³ A continuación mostraremos un ejemplo de cada una de las familias estructurales:

1) Hebras beta antiparalelas

Como ejemplo, mencionaremos al principal alergenito del ácaro americano, Der f 2. Éste tiene un plegamiento típico de inmunoglobulina, presentando dos hojas β , la primera de tres hebras β y la segunda de cuatro. Como se mencionó anteriormente, este alergenito necesita estar en su conformación nativa, dada por sus tres puentes disulfuro, para poder interactuar con IgE's. Se ha sugerido que los residuos involucrados en esta interacción son en su mayoría residuos cargados como lisina y el ácido aspártico, aromáticos como la fenilalanina y algunas cisteínas.²⁹

2) Hélices α

Phl p 7, considerado el principal alergenito de polen del heno, el cual une y transporta Ca^{2+} , es un dímero que presenta motivos estructurales hélice α -asa- hélice α . La capacidad de reconocimiento por parte de los anticuerpos IgE hacia este tipo de alergenitos depende de la presencia de iones calcio unidos a estas proteínas. Residuos tales como aspárticos, asparaginas y glutámicos altamente conservados, que conforman el asa, están involucrados en la coordinación de estos iones. Proteínas recombinantes carentes de estos residuos pierden en su totalidad la capacidad de unión a IgE.³⁰

3) Hojas β antiparalelas asociadas íntimamente con una o más hélices α .

El primer alergenito del cual se obtuvo la estructura cristalográfica acoplada al Fab de un anticuerpo monoclonal murino fue Bet v 1, el principal alergenito del abedul. Su estructura terciaria presenta siete hojas beta antipa-

ralelas que envuelven a una hélice alfa anfipática de cerca de 25 residuos y a dos hélices pequeñas. El epítipo conformacional encontrado está formado por 17 residuos, doce de los cuales están localizados en un asa entre dos hojas β . En este epítipo destacan cuatro glicinas, dos asparaginas, dos ácidos glutámicos y dos isoleucinas, residuos que interactúan con el Fab a través de puentes de hidrógeno e interacciones de van der Waals.³¹

4) Hojas β y hélices α poco asociadas

La lisozima de huevo blanco de gallina es otra molécula ampliamente estudiada como alergenito presenta dentro de su estructura hélices α asociadas por largas asas a hojas β . Se ha observado que los residuos de la parte amino y carboxilo-terminal, correspondientes a la superficie de una región apolar en esta molécula, forman al epítipo reconocido por un anticuerpo monoclonal anti-lisozima.^{3,32}

No contemplada en esta clasificación se encuentran las proteínas alérgicas pequeñas, tales como Hev b 6.02, uno de los principales alergenitos del látex de hule natural. Recientemente, nuestro grupo de trabajo, describió un epítipo conformacional de esta molécula, en donde la presencia de aminoácidos aromáticos, tales como triptófano y tirosina, así como algunos residuos polares son relevantes en la interacción con IgE's de suero de pacientes y con IgG's monoclonales murinos anti-Hev b 6.02.³³

Esta clasificación muestra que no existen características estructurales definidas que determinen si una proteína pueda o no ser alérgica. No obstante podemos señalar la importancia de algunos residuos esenciales en la interacción con sus anticuerpos, donde sobresalen los aminoácidos aromáticos y los polares.

REACTIVIDAD CRUZADA

Dos alergenitos presentan reactividad cruzada sólo si comparten características estructurales, que hacen que sean reconocidos por anticuerpos IgE de sueros de pacientes contra alguna de estas dos proteínas. Es interesante mencionar que todos los alergenitos que presentan reacción cruzada tienen un plegamiento similar, en la mayoría de los casos, con más del 70% de identidad en la secuencia de aminoácidos; mientras que aquéllos con plegamiento similar no necesariamente pueden mostrar reactividad cruzada.³

Mediante experimentos de ELISA competitiva e inmunoblots, utilizando a alergenitos de diferentes especies de plantas no relacionadas que contienen dominios EF-hand de unión a Ca^{2+} , se estableció que sólo aquellos que contaban con el mismo número de dominios,

presentaban una inhibición del 100%, estableciendo la mayor reactividad cruzada.²³

En otro estudio se comparó a dos alérgenos de la misma especie que unen calcio, Ole e 3 y Ole e 8 (del olivo), observando que cada uno presenta epítomos específicos de unión a IgE, por lo que los dominios estructurales EF-hands de estos alérgenos no son los epítomos responsables de la reactividad cruzada, indicando que éstos se encuentran en sitios menos conservados.²⁴

Finalmente, la reactividad cruzada entre algunos alérgenos glicosilados de diferentes especies de plantas, depende en cierto grado de los carbohidratos presentes en la superficie de estas proteínas, denominados carbohidratos determinantes de la reactividad cruzada (CCD), aunque por sí solos éstos son clínicamente irrelevantes y con baja afinidad para un entrecruzamiento efectivo.^{11,12}

CONCLUSIONES

De acuerdo a lo anteriormente expuesto y considerado dentro de los mecanismos que siguen algunas proteínas para la inducción de alergia, son importantes la ruta de exposición, las características físicas, la actividad biológica y la estructura de las mismas, que en conjunto hacen más factible su entrada al organismo, su procesamiento y sobre todo la posibilidad de interactuar con anticuerpos IgE's. Los ejemplos mostrados en esta revisión, establecen que los alérgenos son proteínas heterogéneas; sin embargo, de manera general, si sus características intrínsecas no son preservadas, la capacidad para interactuar con las IgE's se reduce.

Es evidente que todavía se requiere más información en este aspecto, tanto identificar las características de aquellos antígenos que son capaces de inducir una respuesta inmune sin llegar a ser alérgenos, como establecer los mecanismos inespecíficos de los alérgenos para el desarrollo de la alergia. El conocimiento de las áreas y los residuos de alérgenos involucrados en la interacción con los anticuerpos IgE, así como el tipo de interacciones presentes, permitirán llevar a cabo el diseño de inmunoterapias específicas. Éstas podrán utilizar proteínas recombinantes y derivados hipoalérgenos, que presenten el plegamiento original con modificaciones en dichos residuos, lo que permitirá evitar el desarrollo de las reacciones alérgicas, logrando en un futuro cercano la vacunación profiláctica en contra de la alergia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ring J, Kramer U, Schafer T et al. Why are allergies increasing? *Curr Opin Immunol* 2001; 13: 701-708.
2. Aalberse RC, Stapel SO. Structure of food allergens in relation to allergenicity. *Pediatr Allergy Immunol* 2001; 12: 10-14.
3. Rob C, Aalberse RC. Structural biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 228-238.
4. Roitt I, Brostoff J, Male D. *Immunology*. 5th edition. UK Mosby International Ltd, 1998: 107-119.
5. Holgate S, Church M, Lichtenstein L. *Alergia*. 2a Edición España Editorial Harcourt, 2001: 3-16.
6. Sela M, Pecht I. The nature of the antigen. *Adv Protein Chem* 1996; 49: 289-328.
7. Valenta R. The future of antigen-specific immunotherapy of allergy. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 446-453.
8. Valenta R, Hayek B, Seiberler S et al. Calcium-binding allergens: from plants to man. *Int Arch Allergy Immunol* 1998; 117: 160-6.
9. Flicker S, Vrtala S, Steinberger et al. A human monoclonal IgE antibody defines a highly allergenic fragment of the major timothy grass pollen allergen, Phl p 5: Molecular, immunological and structural characterization of the epitope-containing domain. *J Immunol* 2000; 165: 3849-3859.
10. Pómes A. Intrinsic properties of allergens and environmental exposure as determinants of allergenicity. *Allergy* 2002; 57: 673-679.
11. Huby R, Dearman R, Kimber I. Why are some protein allergens? *Toxicol Sci* 2000; 55: 235-246.
12. Fötisch F, Vieths S. N- and O-linked oligosaccharides of allergenic glycoproteins. *Glycoconj J* 2001; 18: 373-390.
13. Van Ree R. Carbohydrate epitopes and their relevance for the diagnosis and treatment of allergic diseases. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 129: 189-97.
14. Lombardero M, Quirce S, Duffort O et al. Monoclonal antibodies against Olea europaea major allergen: Allergenic activity of affinity-purified allergen and depleted extract and development of a radioimmunoassay for the quantification of the allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89: 884-94.
15. González EM, Villalba M, Lombardero M et al. Influence of the 3D-conformation, glycan component and micro-heterogeneity on the epitope structures of Ole e 1 the major olive allergen. Use of the recombinant isoforms and specific monoclonal antibodies as immunological tools. *Mol Immunol* 2002; 39: 93-101.
16. Taylor SB, Lenher SL. Principles and characteristics of food allergens. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1996; 36: S91-S118.
17. Brederhst R, Kerstin D. What establishes a protein as an allergen? *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2001; 756: 33-40.
18. Takai T, Yuuki T, Okumura Y et al. Determination on the N- and C- terminal sequences required to bind human IgE of the major house dust mite allergen Der f 2 and epitope mapping for monoclonal antibodies. *Mol Immunol* 1997; 34: 255-261.
19. Buchanan BB, Adamidi C, Lozano MR et al. Thiodexin-linked mitigation of allergic response to wheat. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 94: 5372-77.
20. Bufer A. The biological function of allergens relevant for the induction of allergic diseases. *Int Arch Allergy Immunol* 1998; 117: 215-219.
21. Tinghino R, Twardosz A, Barletta B et al. Molecular, structural, and immunologic relationships between different families of recombinant calcium-binding pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 314-20.
22. Ledesma A, González E, Pascual CY et al. Are Ca²⁺-binding motifs involved in the immunoglobulin E-binding of allergens? Olive pollen allergens as model of study. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 1476-83.
23. Valenta R. Recombinant allergen molecules: tools to study effector cell activation. *Immunol Rev* 2001; 179: 119-127.
24. Mäntyjärvi R, Rautiainen J, Virtanen T. Lipocalins as allergens. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1482: 308-17.
25. Virtanen T. Lipocalin allergens. *Allergy* 2001; 56: 48-51.

26. Wal JM. Structure and function of milk allergens. *Allergy* 2001; 56: 35-38.
27. Breiteneder H, Ebner C. Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 27-36.
28. Rouvinen J, Rautiainen J, Virtanen T et al. Probing the molecular basis of allergy. Three-dimensional structure of the bovine lipocalin allergen Bos d 2. *J Biol Chem* 1999; 274: 2337-2343.
29. Ichikawa S, Hatakana H, Yuuki T et al. (1998) Solution structure of Der f 2, the major mite allergen for atopic diseases. *J Biol Chem* 1998; 273: 356-60.
30. Verdino P, Westritschnig K, Valenta R et al. The cross-reactive calcium-binding pollen allergen, Phl p 7, reveals a novel dimer assembly. *Embo J* 2002; 21: 5007-16.
31. Mirza O, Henriksen A, Ipsen H et al. Dominant epitopes and allergic cross-reactivity: complex formation between a Fab fragment of a monoclonal murine IgG antibody and the major allergen from birch pollen Bet v 1. *J Immunol* 2000; 165: 331-338.
32. Li Y, Li H, Yang F et al. X-ray snapshots of the maturation of an antibody response to a protein antigen. *Nat Struct Biol* 2003; 10: 482-8.
33. Reyes-Lopez C, Hernandez-Santoyo A, Pedraza-Escalona M et al. Insights into a conformational epitope of Hev b 6.02 (hevein). *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 314: 123-130.

Dirección para correspondencia:
QFB María Martha Pedraza Escalona
Instituto de Química, UNAM,
Circuito Exterior, Ciudad Universitaria,
Delegación Coyoacán, C. P. 04510,
México, D. F.
Tel. 56-22-45-68, Fax: 56-16-22-17
E-mail: mapedmx@yahoo.com