



## ENDO- $\beta$ -1,3-glucanasas reconocidas por anticuerpos tipo IgE de sueros de pacientes alérgicos

Deyanira Fuentes-Silva,\* Adela Rodríguez-Romero\*

### RESUMEN

Las  $\beta$ -1,3-glucanasas son proteínas ampliamente distribuidas en plantas implicadas en muchos procesos metabólicos como estrés, infección y procesos de desarrollo. Debido a su capacidad para hidrolizar  $\beta$ -1,3-glucanos, componentes esenciales de la pared celular de hongos y bacterias, han sido designadas como proteínas relacionadas a la patogénesis pertenecientes a la familia 2 (PR-2). A la fecha se han descrito varias  $\beta$ -1,3-glucanasas de plantas como alergénicas, las cuales han sido reconocidas por los anticuerpos tipo IgE de personas con síndrome látex-fruta polen. Estas enzimas también han sido reconocidas como alergenos implicados en el asma ocupacional. A nivel de secuencia primaria y pese a provenir de diferentes especies, entre estas proteínas se presenta una alta homología. Así mismo, los epítopos lineales que han sido recientemente reportados para la  $\beta$ -1,3-glucanasas de plátano, están muy conservados. Estos epítopos comunes, podrían ser la causa de la reactividad cruzada que se presenta entre muchos alergenos, lo cual tiene importancia clínica en personas sensibilizadas contra estas estructuras. Este trabajo recopila la información reportada a la fecha acerca de las  $\beta$ -1,3-glucanasas de plantas implicadas en alergias.

**Palabras clave:**  $\beta$ -1,3-glucanasas, anticuerpos IgE, síndrome látex-fruta polen.

### ABSTRACT

*$\beta$ -1,3-glucanases are widely distributed proteins in plants. They are involved in many metabolic processes such as stress, infection and development. They are able to hydrolyze  $\beta$ -1,3-glucans that are essential components of the cell wall in fungi and bacteria. So, they have been designated as pathogenesis-related proteins (Family 2: PR-2). To date, several  $\beta$ -1,3-glucanases of plants have been described, which are recognized by IgE antibodies of people with latex-fruit pollen syndrome. They have also been recognized as allergens involved in occupational asthma. At primary sequence level and despite they are from different species, there are high similarities among these proteins. Besides, the linear sequences recognized by IgE (sequential epitopes that have been reported recently for the banana  $\beta$ -1,3-glucanase) are conserved. These common epitopes could be the cause of crossed reactivity displayed among many allergens. This is relevant for people sensitized against these  $\beta$ -1,3-glucanases structures. This work compiles reported to date information about  $\beta$ -1,3-glucanases from plants implicated in allergies.*

**Key words:**  $\beta$ -1,3-glucanases, IgE antibodies, latex-fruit pollen syndrome.



### INTRODUCCIÓN

Las  $\beta$ -1,3-glucanasas son proteínas ampliamente distribuidas en plantas, varias de las cuales han sido aisladas de tomate, plátano y tabaco, entre otras especies.<sup>1-5</sup> Algunas de estas enzimas han

\* Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.



sido clasificadas como alergenos o asociadas al síndrome látex-fruta-polen. En términos generales, un alergeno se ha definido como una sustancia normalmente inocua, capaz de iniciar una reacción alérgica en personas con una predisposición genética. Notablemente, muchos son proteínas de plantas involucradas en el sistema de defensa o almacenamiento, otros son proteínas metabólicas y algunos son proteínas estructurales. La historia de los alergenos de plantas se inició el siglo pasado entre los años cuarenta y cincuenta con los primeros ensayos realizados para purificar alergenos de pólenes usando las técnicas clásicas de separación como extracción con fenol, precipitación con sales y electroforesis. A principio de los años sesenta, con el desarrollo de las técnicas cromatográficas, se purificó el primer alergeno nombrado como "Antígeno E" a partir de la *Ambrosia artemisiifolia* el cual reaccionaba con anticuerpos policlonales anti-*A. artemisiifolia*.<sup>6</sup> Posteriormente, del polen de centeno, Marsh<sup>7</sup> aisgó un alergeno que denominó Ray 1. También describió por primera vez las propiedades moleculares de los alergenos, los factores involucrados en la alergenicidad, la respuesta inmune a los alergenos y publicó los primeros estudios inmuno-génicos de la respuesta IgE frente a los alergenos purificados de pólenes. Marsh<sup>7</sup> estableció la primera definición clara de un "alergeno principal", como un alergeno purificado que produce una respuesta inmediata del 90% o mayor, en individuos alérgicos sometidos a pruebas cutáneas. En contraste, un "alergeno secundario" es aquel que presenta una respuesta menor al 20% en los pacientes alérgicos sujetos a pruebas cutáneas.

Actualmente, se utiliza un estándar menos rígido, el cual define a un alergeno principal como aquél en donde un 50% o más de los pacientes alérgicos reaccionan a las pruebas cutáneas. En las últimas décadas han sido purificados muchos alergenos cuyas fuentes principales han sido plantas, esporas de hongos, insectos y ácaros.

### **ALERGENOS DE PLANTAS**

A la fecha, un gran número de proteínas de frutas, legumbres, semillas, pólenes y productos derivados de plantas han sido identificados y caracterizados como alergenos. Estas proteínas han manifestado la capacidad de inducir en humanos reacciones alérgicas tipo I o inmediata, la cual es mediada por anticuerpos tipo IgE.<sup>8-10</sup> Los pólenes y esporas de las plantas son las principales fuentes de lo que se ha denominado aero-alergenos, los cuales pueden ser inhalados y son una de las principales causas de la rinitis alérgica y del asma. Este tipo de alergia tam-

bien es llamado "alergia estacional" por presentarse en los períodos de polinización.<sup>11</sup>

La alergia alimenticia por la ingestión de frutas, legumbres y semillas causan manifestaciones digestivas o cutáneas en las personas, con síntomas que pueden variar desde una hinchazón de labios, lengua y paladar, a menudo acompañado por síntomas como ahogo, tos y síntomas gastrointestinales, hasta casos de reacciones sistémicas severas como anafilaxia. La mayoría de estas reacciones alérgicas frente a frutas y vegetales se han asociado con la sensibilización a pólenes.<sup>12,13</sup>

Desde el punto de vista alergénico, el látex del árbol del hule (*Hevea brasiliensis*) y los productos manufacturados del mismo, contienen varias proteínas capaces de unir IgE, las cuales muestran una fuerte reactividad cruzada con diferentes proteínas procedentes de frutas, vegetales y pólenes. Los alergenos responsables de la mayoría de los casos de reactividad cruzada en el síndrome látex-fruta-polen son: heveína, β-1,3-glucanasas, quitinasas y profilinas, entre otras.<sup>14,15</sup> Estas proteínas representan los alergenos de contacto más importantes hallados hasta la fecha en plantas. Las manifestaciones clínicas de este tipo de alergia como de las anteriores, dependen de la vía de exposición, la cantidad de alergeno y la variabilidad individual.<sup>16</sup>

### **CLASIFICACIÓN DE LOS ALERGENOS PROVENIENTES DE PLANTAS**

Entre las numerosas proteínas que tienen las plantas, sólo un pequeño número ha sido identificado como alergenos para los humanos. La mayoría de ellas se expresan en respuesta a la infección por patógenos tales como hongos, bacterias o virus; por lo cual fueron designadas como "Proteínas relacionadas a la patogénesis", PRP.<sup>16,17,19</sup> Estos tipos de proteínas también son expresadas a consecuencias de heridas hechas a la planta o por la aplicación de sustancias químicas como el acetileno o el ácido salicílico, que mimetizan el efecto de infección o inducen estrés.<sup>20</sup> Originalmente las PRP fueron identificadas en tabaco y clasificadas dentro de 5 familias, basadas en la homología de su secuencia de aminoácidos. Estas cinco familias constituyan un grupo pequeño de proteínas ácidas y básicas. Generalmente las formas ácidas de estas familias se encontraban en el espacio extracelular y las formas básicas eran transportadas a vacuolas por un péptido señal, localizado en el carboxilo terminal. Este sistema de clasificación posteriormente fue revisado por Van Loon y cols,<sup>21</sup> el cual extendió el número a 14 familias diferentes (*Cuadro I*), entre las que se encuentran: quitinasas, glucanasas, endoproteinasas,

**Cuadro I. Familias de proteínas relacionadas a la patogénesis (PRP).**

Familia	Masa mol (kDa)	Clasificación
PR-1	15-17	Desconocida
PR-2	25-35	Antifúngica/β-1,3-glucanasas, clase I, II, III
PR-3	25-35	Antifúngica/quitininas, clase I, II, IV
PR-4	13-19	Antifúngica/quitininas, clase I, II
PR-5	22-24	Proteínas tipo taumatinina
PR-6	6	Inhibidores
PR-7	69	Endoproteasas
PR-8	28	Quitininas/lisozima, clase III
PR-9	39-40	Peroxidásas
PR-10	17-18	Proteínas homólogas a Bet v 1
PR-II	41-43	Quitininas, clase I
PR-12	5	Defensinas
PR-13	14	Tioninas
PR-14	7-12	Proteínas transportadoras de lípidos

peroxidásas, así como pequeñas proteínas semejantes a defensinas, tioninas y proteínas transportadoras de lípidos.

Las PRP presentan algunas características bioquímicas comunes relevantes para los alergenos, como la estabilidad a bajos valores de pH, la resistencia a la proteólisis, masas moleculares entre 5-70 kDa, y suelen pertenecer a una de las familias 2 ( $\beta$ -1,3-glucanasas), 3 (quitininas, clase I, II y IV), 4 (quitininas, clase I y II), 5 (proteínas tipo taumatina), 8 (quitinasa-lisozima, clase III), 10 (proteínas homólogas a Bet v 1) ó 14 (proteínas transportadoras de lípidos). Actualmente, se conoce que algunas de las PRP no sólo son inducidas de *novo* por el ataque de patógenos, heridas o estrés físico-químico, sino que son expresadas constitutivamente en algunos órganos o durante cierto estado del desarrollo de la planta; de tal forma que en términos estrictos no son PRP sino que han sido designadas como "PRP-like".

#### FAMILIA PR2: $\beta$ -1,3-GLUCANASAS

La familia PR2 comprende a las enzimas monoméricas  $\beta$ -1,3-glucanasas (glucan endo -1,3- glucosidasas; EC 3.2.1.39) cuyas masas moleculares oscilan entre 25-38 kDa. Estas enzimas han sido implicadas en el sistema de defensa de plantas debido a su capacidad para hidrolizar las uniones endo (1→3)-  $\beta$ -glicosídicas de los  $\beta$ -1,3-glucanos, componentes esenciales de la pared celular de hongos y bacterias.<sup>22,23</sup> Las  $\beta$ -1,3-glucanasas de plantas no sólo desempeñan una labor importante en la respuesta

frente a los microbios patógenos y estrés, sino que ellas también están implicadas en numerosos procesos fisiológicos y de desarrollo como la germinación, crecimiento y fertilización, entre otros.<sup>24,25</sup>

Considerando las diferencias en su masa molecular, punto isoeléctrico, estructura primaria, y localización celular, las PR-2 fueron subagrupadas a su vez dentro de 4 clases (I-IV). La clase I está integrada por enzimas básicas con masas moleculares entre 33-38 kDa. Las proteínas de esta clase son transportadas a la vacuola como pre-proteínas formadas por un péptido señal en el extremo N-terminal. Varias  $\beta$ -1,3-glucanasas homólogas de clase I han sido identificadas y aisladas de diversas especies de plantas (*Cuadro II*). Por ejemplo, la forma básica aislada de los cuerpos líticos de *Hevea brasiliensis*, es una enzima que presenta varias isoformas y fue primeramente descrita por Sunderasan y cols.<sup>25</sup> y Alenius y cols.<sup>26</sup> Esta proteína tiene una masa de 37 kDa y es reconocida por las IgEs de pacientes con alergia al hule y a frutas. Sunderasan y cols.<sup>25</sup> le asignaron la nomenclatura alergénica de Hev b 2, ya que se demostró que era altamente alergénica. Además, se detectó en productos manufacturados con hule natural.<sup>15</sup>

Las  $\beta$ -1,3-glucanasas de clase II y III son proteínas ácidas con masas moleculares entre 34-36 kDa y secretadas dentro del espacio extracelular.<sup>27</sup> Ensayos *in vitro* han mostrado que las glucanasas de clase I presentan actividad antifúngica, mientras que las clases II y III no inhibieron el crecimiento de hongos. En tabaco se encontró otro tipo de glucanasas designadas como clase IV; esta clase difiere de las anteriores en la especificidad del sustrato.

#### $\beta$ -1,3-GLUCANASAS DE PLANTAS RECONOCIDAS POR ANTICUERPOS IgE

Aun cuando existen numerosas secuencias de  $\beta$ -1,3-glucanasas de plantas depositadas en diversas bases de datos tales como Brenda ([www.brenda.uni-koeln.de](http://www.brenda.uni-koeln.de)), SwissProt ([www.expasy.ch/sprot](http://www.expasy.ch/sprot)), NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)), sólo un grupo reducido de ellas han sido reportadas como proteínas capaces de unir anticuerpos tipo IgE o de ser los alergenos responsables de desencadenar reacciones de hipersensibilidad inmediata tipo I (*Cuadro I*). Una proteína de origen vegetal representante de esta clase de alergenos es la  $\beta$ -1,3-glucanasa de *H. brasiliensis* (Hev b 2) la cual ha sido ampliamente estudiada, debido a su relación con la alergia al látex. Este alergeno fue inicialmente descrito por Sunderasan y cols.<sup>25</sup> y Alenius y cols.<sup>26</sup> como una proteína reconocida débilmente por las IgEs de pacientes con alergia al hule y a frutas. Posteriormente en Estados Unidos Kurup y



**Cuadro II.  $\beta$ -1,3-glucanasas de plantas reconocidas por anticuerpos tipo IgE de personas con síndrome látex-fruta-polen.**

Especie	Nominación alergénica	M. mol (kDa)	Unión a IgE
<i>Hevea brasiliensis</i> (látex)	Hev b 2	37-38	+
<i>Olea europaea</i> (olivo)	Ole 9	46	+
<i>Ordeum vulgare</i> (cebada)	Gl, GII	36	nd
<i>Musa acuminata</i> (plátano)		33	+
<i>Nicotiana tabacum</i> (tabaco)		37	nd
<i>Persea americana</i> (aguacate)		35	+
<i>Actinidia deliciosa</i> (kiwi)		35	+
<i>Capsicum annuum</i> (pimiento)		37	+
<i>Solanum tuberosum</i> (papa)		37	+
<i>Solanum lycopersicum</i> (tomate)		37	+
<i>Betula</i> (abedul)		36	+
<i>Fraxinus excelsior</i> (fresno)		35	+
<i>Ficus carica</i> (higo)		36	nd
<i>Castanea sativa</i> (castaña)		32	+
<i>Oryza sativa</i> (avena)		33	nd

nd. No determinado.

cols.,<sup>28</sup> demostraron por varios ensayos *in vitro*, que Hev b 2 era reconocido fuertemente por las IgEs tanto de pacientes con espina bifida como las de los trabajadores del área de la salud diagnosticados con alergia al látex. Dependiendo del método empleado, la reactividad varió entre 20-61% en los pacientes con alergia al látex. Estudios realizados recientemente en Italia y Singapur con pacientes atópicos, los cuales están en contacto frecuente con productos de látex natural como guantes u otro tipo de productos, también se han manifestado síntomas de alergia por contacto directo o por vía oral al inhalar pequeñas partículas de látex, las cuales causan la patología clínica denominada asma ocupacional.<sup>29,30</sup> En Irlanda e Inglaterra O'Connor y cols.,<sup>31</sup> reportaron por primera vez la asociación entre el asma ocupacional y la exposición a  $\beta$ -1,3-glucanasa. Pruebas cutáneas realizadas mostraron una reacción positiva a esta proteína en concentraciones de 1 mg/mL e igualmente fueron detectados anticuerpos tipo IgE específicos contra  $\beta$ -1,3-glucanasa. Hev b 2 ha sido señalado como un alergeno relevante al diagnosticar la alergia al látex. En México (Chihuahua, Chih.) Moreno y cols.<sup>32</sup> en el 2005 reportó sólo la prevalencia de la alergia al látex en grupo reducido de trabajadores del área de la salud, utilizando antígenos de látex.

Otro alergeno de origen vegetal con actividad de  $\beta$ -1,3-glucanasa estudiado es Ole e 9, aislado del polen del árbol *Olea europaea*. Esta proteína de 46 kDa fue reportada como el alergeno principal del polen de

este árbol. Ole e 9 fue reconocido por más del 65% de los pacientes españoles alérgicos a este polen.<sup>3,11</sup> La expresión recombinante de su extremo carboxilo terminal en *P. pastoris* retuvo más del 50% de la capacidad de unión a IgE que muestra el alergeno completo y fue reconocido por todos los sueros de pacientes alérgicos al mismo.<sup>33</sup> Posteriormente, Palomares y cols.<sup>34</sup> sugieren la posibilidad de que esta proteína esté implicada en la reactividad cruzada entre látex-fruta y pólenes.

Otra glucanasa de planta que ha sido estudiada es la del arroz (*Oriza sativa*), la cual fue caracterizada bioquímicamente; sin embargo, no se demostró su potencial como alergeno.<sup>35</sup> Recientemente se reportó la purificación y determinación de la estructura tridimensional de la  $\beta$ -1,3-glucanasa plátano (*Musa acuminata*), la cual fue reconocida por las IgEs de individuos alérgicos al látex.<sup>1,36</sup>

Otros experimentos realizados por varios grupos de investigación, evaluaron la reactividad cruzada entre el látex y varias  $\beta$ -1,3-glucanasas homólogas de plantas utilizando extractos de frutas de tomate, kiwi, castaña, higo, aguacate y pimiento, y extractos de pólenes como abedul, fresno y olivo. Estas pruebas mostraron una señal ubicada entre 38 y 46 kDa reconocida por las IgEs de pacientes alérgicos al látex.<sup>34</sup> Varias investigaciones han demostrado que las  $\beta$ -1,3-glucanasas provenientes de diferentes fuentes pueden estar relacionadas con la reactividad cruzada entre frutas, pólenes y el látex y deben ser consideradas de relevancia clínica al realizar un diagnóstico.<sup>34,37,38</sup>

#### ESTRUCTURA DE $\beta$ -1,3-GLUCANASAS DE PLANTAS Y SUS DETERMINANTES ALERGÉNICOS

Las  $\beta$ -1,3-glucanasas de plantas que son alergénicas, contienen epítropos o determinantes antigenéticos formados por grupos de naturaleza glicosídica y/o peptídica, los cuales pueden estar involucrados directamente en la unión a los linfocitos T, a los anticuerpos tipo IgE circulante<sup>39</sup> y/o a los linfocitos B. Los epítropos de naturaleza glicosídica no son muy frecuentes pero adquieren importancia cuando median la reactividad cruzada entre diferentes alergenos.<sup>38,40-42</sup> La mayoría de los determinantes alergénicos son de naturaleza peptídica y pueden presentar formas moleculares múltiples, lo cual puede influir a nivel conformacional en los epítropos e inducir respuestas inmunes con diferentes características.

Varios grupos de investigación han demostrado que la capacidad alergénica, así como la reactividad cruzada que presentan algunos alergenos, está determinada por sus aspectos estructurales.<sup>43,44</sup> Dos alergenos pueden presentar reactividad cruzada si comparten características estructurales, tanto a ni-

**Cuadro III. Alineamiento de secuencias de varias  $\beta$ -1,3-glucanasas de plantas. En negrilla se resaltan las quince secuencias de los epítitos lineales propuestos para  $\beta$ -1,3-glucanasa de plátano.**

Tomate	-QIGVCYGMGNL <del>LP</del> <b>SH</b> SEVIQLYK- <b>SRNIRRRL</b> YDPNHGALNALRGSNIEVILGLPNVD
Papa	-QLGVCYGMGNL <del>LP</del> <b>SH</b> SEVIQLYK- <b>SRNIGRLR</b> YDPNQGALNALRGSNIEVILGLPNVD
Tabaco	QSIGVCYGMGNL <del>LP</del> <b>NH</b> WEVIQLYK- <b>SRNIGRLR</b> YDPNHGALQAL <b>KGS</b> NIEVMLGLPNSD
Pimiento	--IGVCYGMGNL <del>PP</del> <b>ASQV</b> QVQLYK- <b>SRNIRRML</b> YDPNQAALQALRGSNIEVMLGVPN <i>S</i>
Hevea	-QVGVCYGMGNL <del>PP</del> <b>SEVIAL</b> YK- <b>KSNITRM</b> YDPNRAVLEALRGSNIELLILGVPN <i>S</i>
Guisante	--IGICYGMGNL <del>PP</del> <b>NEVIAL</b> YK- <b>ANNIKRM</b> YDPNQPALNAL <b>RDS</b> GIELILGIP <i>NSD</i>
Plátano	--IGVCYGMGNL <del>PP</del> <b>SEVVS</b> LYK- <b>SNNIARM</b> YDPNQAALQAL <b>RNS</b> NIQVLLDVR <i>PSD</i>
Naranja	-QIGVCYGMGNL <del>PSK</del> <b>RDVIA</b> YK- <b>QNNIARM</b> YDPNREAL <b>EALRGS</b> NIEVMLGLPN <i>DD</i>
Betabel	--IGVCFGQMGNNIPNPSEVVA <i>MFK</i> -QYSIPRMRYGPNPDA <b>NALRGS</b> NIEFILDV <i>PNGD</i>
Cebada	--IGVCYGVIGNNL <del>PSR</del> <b>SDVV</b> QLYR- <b>SKGING</b> MR <del>I</del> YFADQALS <b>RNS</b> GIGLILD <i>GNDQ</i>
Tomate	VKHIS <b>SGMEHA</b> RWWVQKNVRDFWPHVKIKYIAVGNEIS <b>PVT</b> - <b>GTSN</b> LAPFQVPALVNIYKA
Papa	VKHIA <b>SGMEHA</b> RWWVQKNVKDFWPDVKIKYIAVGNEIS <b>PVT</b> - <b>GTSS</b> LTSFQVPALVNIYKA
Tabaco	VKHIA <b>SGMEHA</b> RWWVQKNVKDFWPDVKIKYIAVGNEIS <b>PVT</b> - <b>GTSS</b> LTSFLTPAMVNIYKA
Pimiento	FKTLL <b>PPFN</b> ALLG--SKECQNSGHCLNYRVHCECMKSALLT- <b>GTSS</b> LTRFLLPAMRN <i>I</i> RNA
Hevea	LQSLTN <b>PNSNAK</b> SW-VQKNVRGFWSVLFRYIAVGNEIS <b>PVNRGTA</b> WLAQFVLPAMRN <i>I</i> HDA
Guisante	LQTLAT <b>TNQDSAR</b> QWVQRNVLFNFYPSVKIKYIAVGNEVSPVG- <b>GSSW</b> LAQYVLPATQNVYQA
Plátano	VQSLA <b>SNPSAA</b> GDWIRRNVVAYWPSVSFRYIAVGNE <b>LI</b> P <i>GS</i> ----DIAQYILPAMRN <i>I</i> YNA
Naranja	LRRIAS <b>SNQAEANT</b> WVQNNVRNFANNVKFKYIAVGNEAKP <i>GD</i> ----NFAQYLVPAMRN <i>I</i> QNA
Betabel	LKRLADS <b>QAEANT</b> WVRDNVQKY-NDVRFKYYISVGNEV <b>KPGE</b> ----PGAAALIQAMQN <i>I</i> DRA
Cebada	LANIA <b>ASTSNA</b> ASWVQNNVRPYYPAVN <del>IKYIAAGNEVQGG</del> <b>GA</b> -----TQSILPAMRN <i>I</i> NAA
Tomate	IGEAGLGNDIKVSTSVDMTLIGNS <b>YPPSQG</b> SFRNDVRWFTDPIVGLRD <b>TRAP</b> LLVNIYPY
Papa	VGEAGLGNDIKVSTSVDMTLIGNS <b>YPPSQG</b> SFRNDVRWFTDPIVGLRD <b>TRAP</b> LLVNIYPY
Tabaco	IGEAGLGNNIKVSTSVDMTLIGNS <b>YPPSQG</b> SFRNDARWFTDPIVGLRD <b>TRAP</b> LLVNIYPY
Pimiento	ISSAGLGNNIKVSTSIDMTLIGNS <b>FPPSQG</b> SFRNDVRVSFIDP <i>II</i> VFLRGINS <i>PL</i> LVNIYPY
Hevea	IRSAGLQDQIKVSTADMTLIGNS <b>YPPSAG</b> AFRDDVRSYLDPIVGLFSS <i>IRS</i> PLLANIYPY
Guisante	IRAGLHDHQIKVTAIDMTLIGNS <b>FPPSKG</b> SFRSDVRSYLDPIVGLFVY <b>AGA</b> PLLNVN <i>VPPY</i>
Plátano	LSSAGLQNQIKVSTAVDTGVLTG <b>YPPSAG</b> AFSSAAQAYLSPIVQFLAS <b>NGA</b> PLLNVN <i>VPPY</i>
Naranja	INRAGLGNQIKVSTAIETGALGES <b>FPPSRGS</b> FKQDYRPILDPLIRFLNE <i>NRSP</i> LLVNL <i>YPY</i>
Betabel	LSAAGLSN- <b>IKVSTTFMGP</b> SRNT <b>YPPSRG</b> RFKDEYRNFLQPVIGFLVN <b>KRS</b> PLLVNIYPY
Cebada	LSAAGLGA- <b>IKVSTSIRF</b> DEVANS <b>FPPSAG</b> VFKN---AYMTDVARLLAS <b>TGA</b> PLLAV <i>NVPPY</i>
Tomate	<b>FSYSGNPQ</b> QISLPYALFT-APNVVVQD-- <b>GSRQYRN</b> LF <b>DAML</b> DSVYAAMDRT-GGGSVGIV
Papa	<b>FSYSGNPQ</b> QISLPYALFT-APNVVVQD-- <b>GSRQYRN</b> LF <b>DAML</b> DSVYAAMERT-GGGSVGIV
Tabaco	<b>FSYSGNPQ</b> QISLPYSLFT-APNVVVQD-- <b>GSRQYRN</b> LF <b>DAML</b> DSVYAALERS-GGASVGIV
Pimiento	<b>FSYAGNPR</b> DISISLPYALFT-APNVVVQD-- <b>GSLGYRN</b> LSDERLDSVTAALSQA-RGGSVEIV
Hevea	FT <b>YAYNPR</b> DISLPYALFT-SPSVVVWD-- <b>GQRGYKN</b> LF <b>DATL</b> DALYSALERA-SGGSLEV
Guisante	FSHIGNPRDISLPYALFT-SPGVMVQD-- <b>GPNGYQ</b> NLFDAMLD <b>SVHA</b> LDNT-GIGWVN <i>VVV</i>
Plátano	FS <b>YTGNPGQ</b> ISLPYALFT-ASGVVVQD-- <b>GRFSYQ</b> NLFD <b>DA</b> IVDAVFAALERV-GGANVAVV
Naranja	FA <b>TAG-NRQ</b> ISLDYALFR-SQQTVVSD-- <b>GSLSYRSL</b> FD <b>AIL</b> DAVYALEKT-GGSLD <i>IV</i>
Betabel	FG <b>YM-NR</b> DVSLQFALLQPSNSNEFTDPNN <b>QLRYLN</b> FFDANLDSVYALEKS-GGSLD <i>VV</i>
Cebada	FA <b>YRDNP</b> GSISLN <i>YATFQ</i> --PGTTVDRDQNNG <b>LT</b> Y <b>TSF</b> DAMVDAVYALEKA-GAPAVKVV
Tomate	<b>VSEGWPSAGA</b> ---FGATH <b>ENAQTYLRN</b> LIQHAKE-- <b>GSPRKPG</b> - <b>PIETYI</b> FAMFDENN--
Papa	<b>VSECGWPSAGA</b> ---FGATQ <b>DNATYLRN</b> LIQHAKE-- <b>GSPRKPG</b> - <b>PIETYI</b> FAMFDENN--
Tabaco	<b>VSEGWPSAGA</b> ---FGATY <b>DNATYLRN</b> LIQHAKE-- <b>GSPRKPG</b> - <b>PIETYI</b> FAMFDENN--
Pimiento	<b>VSEGWPSAGA</b> ---FATTN <b>NDAA</b> YY <b>KN</b> LIQHVKR- <b>GSPRRPNK</b> VIETYL <b>FAMF</b> DENN--
Hevea	<b>VSEGWPSAGA</b> ---FAATF <b>DNGRTYLSN</b> LIQHVKG- <b>GTPKRP</b> RNA <b>I</b> ETYL <b>FAMF</b> DENK--
Guisante	<b>VSEGWPSDGG</b> ---SATSY <b>DNARIYLDN</b> LIRHVGK- <b>GTPRRPW</b> - <b>ATEAYL</b> FAMFDENO--
Plátano	<b>VSEGWPSAGG</b> --AEAST <b>SNAQTY</b> <u>NON</u> LIRHVG <b>GG</b> -- <b>GTPRRPGK</b> E <b>I</b> EAY <b>I</b> FEMF <b>ENQ</b> --
Naranja	<b>ISSEGWPTAGGD</b> -ALTNV <b>DNARTY</b> NNNLIQHVKR- <b>GSPKKPGR</b> PIETYI <b>FAMF</b> DENG-K
Betabel	<b>VSEGWPTQGGPG</b> --ASV <b>PNAEAYVNN</b> LRHVNVKN- <b>GSPKRQ</b> - <b>EAIETYI</b> FAMF <b>DEAPRQ</b>
Cebada	<b>VSEGWPSAGG</b> --FAASA <b>GNARTY</b> <u>NO</u> GLINHV <b>GG</b> -- <b>GTPKKRE</b> - <b>ALETYI</b> FAMF <b>ENQ</b> --
Tomate	<b>KNP-ELEKHFGMFSP</b> - <b>NKQP</b> KYNLN <b>FGV</b> -----SERWDI-----TNSTASSLTSEI----
Papa	<b>KNP-ELEKHFGFLFSP</b> - <b>NKQP</b> KYNLN <b>FGV</b> -----SERWDISAE-TNSTASSL <i>ISEM</i> ----
Tabaco	<b>KNP-ELEKHFGLFSP</b> - <b>NKQP</b> KYNLN <b>FGV</b> -----SGGVWDSSVE-TNATAS-L <i>ISEM</i> ----
Pimiento	<b>KNP-ELEKHFGFFSP</b> - <b>NKQP</b> KFPLN <b>FGF</b> -----SDRFLD <b>I</b> FAENNATSTFFKSDI----
Hevea	<b>KQP-EVEKHFGFLFP</b> - <b>DKRP</b> KYNLN <b>FG</b> -----AEKNWDISTE-HNATILFLKSDM----
Guisante	<b>KSP-ELEKHFGVF</b> P- <b>NKQKK</b> PYQFG <b>FGG</b> -----ERRDGEIVEGDFNGTVS-LKSDM----
Plátano	<b>KAG-GIEQNFGFLFY</b> P- <b>NKQP</b> VYQISF-----
Naranja	<b>TGP-EIERHWGLFAP</b> - <b>TRQ</b> PRYQIN <i>FN</i> -----
Betabel	<b>TSPNDEYEKYWMFSP</b> TT <b>RQL</b> KYGVKFN-----
Cebada	<b>KTG-DATERSFGLFN</b> P- <b>DKSP</b> AYNIQF-----

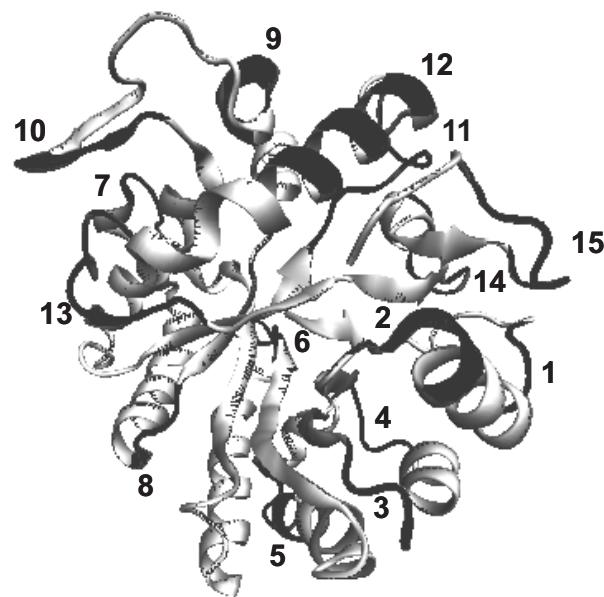


vel de estructura primaria como de estructura terciaria. Se ha observado que todas las proteínas con reactividad cruzada tienen un plegamiento similar, mientras que lo contrario no es cierto; proteínas con plegamiento similar no necesariamente presentan reactividad cruzada.

A la fecha, existen depositadas aproximadamente setenta secuencias homólogas de  $\beta$ -1,3-glucanasas en la base de datos del Swiss-prot ([www.expasy.ch/sprot](http://www.expasy.ch/sprot)) entre las que se encuentran principalmente proteínas de plantas y algunas de hongos. Independientemente de la especie, las  $\beta$ -1,3-glucanasas de plantas son proteínas filogenéticamente conservadas (Cuadro III). Dentro de esta familia sólo dos estructuras tridimensionales han sido resueltas. La primera de ellas fue la  $\beta$ -1,3-glucanasa de *H. vulgare*,<sup>45</sup> la cual no ha sido reportada como proteína alergénica. La segunda y más reciente, es la  $\beta$ -1,3-glucanasa de plátano.<sup>36</sup> Ambas proteínas presentan alto contenido de estructuras secundarias hélice- $\alpha$  y hoja- $\beta$ , adoptando la topología de un barril ( $\beta/\alpha$ )<sub>8</sub> tipo TIM, inicialmente descrito para la triosa fosfato isomerasa.<sup>46</sup> Para la  $\beta$ -1,3-glucanasa de plátano se determinaron quince epítopos lineales de unión a IgE a lo largo de toda la secuencia de aminoácidos, teniendo en cuenta su hidrofilicidad, flexibilidad y exposición al solvente (Figura 1). Cuando se comparan las secuencias de varias  $\beta$ -1,3-glucanasas de plantas, como por ejemplo las de *H. brasiliensis* (látex), *Musa acuminata* (plátano), *Nicotiniana plumbaginifolia* (tabaco), *H. vulgare* (cebada), entre otras (Cuadro III), se observa un alto grado en la identidad entre las secuencias, aunado a la conservación de la mayoría de los aminoácidos ubicados en las regiones propuestas como epítopos lineales para la  $\beta$ -1,3-glucanasa de plátano. Esta similitud que existe entre las glucanasas a nivel de epítopos, podría ser la causa de la reactividad cruzada observada entre personas con alergia a pólenes y/o frutas frente al látex, y viceversa. La similitud de epítopos también conlleva a suponer que es la razón por la cual algunas pacientes presentan sensibilización a determinada clase de alergeno sin haber estado en previo contacto con él.

## CONCLUSIÓN

Las  $\beta$ -1,3-glucanasas de plantas son proteínas homólogas y filogenéticamente conservadas que se encuentran presentes en frutas, vegetales y semillas. Aun cuando existe escasa información de sus propiedades alergénicas, varios grupos de investigación han demostrado que algunas  $\beta$ -1,3-glucanasas de plantas tienen la particularidad de unirse a IgE y provocar alergia. En México no existe ninguna investigación que relacio-



**Figura 1.** Estructura 3D de la  $\beta$ -1,3-glucanasa de plátano (*Musa acuminata*). El esquema en cintas muestra las estructuras secundarias de las hojas- $\beta$  (interior) rodeadas de hélices- $\beta$  (periferia) formando el barril ( $\beta/\alpha$ )<sub>8</sub> tipo TIM. En negro y enumeradas, se muestran las zonas correspondientes a los epítopos lineales, los cuales se encuentran ubicados en zonas expuestas al disolvente.

ne esta proteína presente en plantas y en otros organismos, con la alergia tipo I. Futuras investigaciones podrían brindar información sobre la relevancia de esta proteína en la alergia en nuestra población.

Los epítopos lineales propuestos para la  $\beta$ -1,3-glucanasa de *Musa acuminata* (plátano) son altamente conservados para proteínas de otras especies como *H. brasiliensis* (látex) y *Capsicum annuum* (pimiento) (Cuadro III). La conservación de estos determinantes antigenicos podrían mediar la reactividad cruzada registrada entre el látex, frutas y pólenes. La reactividad cruzada entre alergenos se presenta cuando éstos contienen epítopos idénticos o similares y tiene algunas consecuencias desde el punto de vista clínico; por ejemplo, muchos pacientes presentan sensibilización a determinada clase de alergeno sin haber estado en contacto previo con él.

Futuras investigaciones sobre la determinación estructural de otras  $\beta$ -1,3-glucanasas alergénicas o no, ayudarían a discernir, desde el punto de vista del alergeno, la razón del por qué algunas de estas enzimas, con igual topología, poseen la característica de provocar alergia y otras no.



## BIBLIOGRAFÍA

1. Peumans WJ, Barre A, Derycke V, Rouge P, Wenling Z, May GD, Delcour JA, Van Leuven F, Van Damme EJM. Purification, characterization and structure analysis of an abundant  $\beta$ -1,3-glucanase from banana fruit. *Eur J Biochem* 2000; 267: 1188-1195.
2. Akiyama T, Shibuya N, Hrmova M, Fincher GB. Purification and characterization of a (1-3)- $\beta$ -D-glucan endohydrolase from rice (*Oryza sativa*) bran. *Carbohydrate Research* 1997; 297: 365-374.
3. Huecas S, Villalba M, Rodríguez R. Ole e 9 a major olive pollen allergen is a 1,3- $\beta$ -glucanase. *J Biol Chem* 2001; 276: 27656-27966.
4. Churngchow N, Suntaro A, Wititsuwannakul R.  $\beta$ -1,3-glucanase isoforms the latex of *Hevea brasiliensis*. *Phytochemistry* 1995; 39: 505-509.
5. Subroto T, Van Koningsveld GA, Schreuder HA, Soedjanaatmadja UMS, Beintema JJ. Chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase in the lutoid-body fraction of *Hevea* latex. *Phytochemistry* 1996; 43: 29-37.
6. King TP, Norman PS. Isolation of allergens from ragweed pollen. *Biochemistry* 1962; 1: 709-720.
7. Marsh DG, Johnson P. The isolation and characterization of allergens from the pollen of rye grass (*Lolium perenne*). *Eur Polymer J* 1965; 1: 63-77.
8. Beezhold DH, Kostyal DA, Tomazic-Jezic VJ. Measurement of latex proteins and assessment of latex protein exposure. *Methods* 2002; 27: 46-51.
9. Bredehorst R, David K. What establishes a protein as an allergen? *J Chromatography B* 2001; 756: 33-40.
10. Aalberse RC, Akkerdaas JH, Van Ree R. Cross reactivity of IgE antibodies to allergens. *Allergy* 2001; 56: 478-490.
11. Rodríguez R, Villalba M, Batanero E, González EM, Monsalves RI, Huecas S, Tejera ML, Ledesma A. Allergenic diversity of the olive pollen. *Allergy* 2002; 57(Suppl. 71): 6-16.
12. Bircher AJ, Van Melle G, Haller E, Curyt B, Frei PC. IgE to food allergens are highly prevalent in patients allergic to pollens, with and without symptoms of food allergy. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 367-374.
13. Wuthrich B, Stager J, Johansson SG. Celery allergy associated with birch and mugwort pollinosis. *Allergy* 1990; 45: 566-571.
14. Sussman G, Beezhold DH, Kurup VP. Allergens and natural rubber proteins. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 33-39.
15. Rihs-Hans P, Raulf-Heimsoth M. Natural Rubber latex allergens: Characterization and evaluation of their allergenic capacity. *New Horizons Allergy* 2003; 3: 2-8.
16. Van Loon LC, Pierpoint WS, Boller T, Conejero V. Recommendations of naming plant pathogenesis-related proteins. *Plant Mol Biol Rep* 1994; 12: 245-264.
17. Woolhiser MR, Munson AE, Meade BJ. Immunological responses of mice following administration of natural rubber latex proteins by different routes of exposure. *Toxicological Science* 2000; 55: 343-351.
18. Thanseem I, Joseph A, Thulaseedharan A. Induction and differential expression of  $\beta$ -1,3-glucanase mRNAs in tolerant and susceptible *Hevea* clones in response to infection by *Phytophthora meadii*. *Tree Physiology* 2005; 25: 1361-1368.
19. Hoffmann-Sommergruber K. Pathogenesis-related (PR)-proteins identified as allergens. *Biochemical Society Transactions* 2002; 30: 930-935.
20. Van Loon LC, Van Strien EA. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 types proteins. *Physiol Mol Plant Pathol* 1999; 55: 85-97.
21. Van den Bulcke M, Bauw G, Castresana C, van Montagu M, Vandekerckhove J. Characterization of vacuolar and extracellular  $\beta$ (1,3)-glucanases of tobacco: evidence for a strictly compartmentalized plant defense system. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 2673-2677.
22. Van Kan JAL, Joosten MHAJ, Wagemakers CAM, Van den Berg-Velthuis GCM, de Wit PJGM. Differential accumulation of mRNAs encoding extracellular and intracellular PR-proteins in tomato induced by virulent and avirulent races of *Cladosporium fulvum*. *Plant Mol Biol* 1992; 20: 513-527.
23. Vögeli-Lange R, Fründt C, Hart CM, Beffa R, Nagy F, Meins F Jr. Evidence for a role of  $\beta$ -1,3-glucanase in dicot seed germination. *Plant J* 1994; 5: 273-278.
24. Leubner-Metzger O, Fründt C, Vögeli-Lange R, Meins F Jr. Class I  $\beta$ -1,3-glucanase in the endosperm of tobacco during germination. *Plant Physiol* 1995; 109: 751-759.
25. Sunderasan E, Samsidar H, Sharifah H, Ward MA, Yeang HY, Cardosa MJ. Latex B serum  $\beta$ -1,3-glucanase (Hev b 2) and a component of the microhelix (Hev b 4) are major latex allergens. *J Nat Rubb Res* 1995; 10: 82-99.
26. Alenius H, Kalkkinen N, Lukka M, Reunala T, Turjanmaa K, Määkinen-Kiljunen S, Yip E, Palosuo T. Prohevein from the rubber tree (*Hevea brasiliensis*) is a major latex allergen. *Clin Exp Allergy* 1995; 25: 659-665.
27. Høj PB, Fincher GB. Molecular evolution of plant  $\beta$ -glucan endohydrolases. *Plant J* 1995; 7: 367-379.
28. Kurup VP, Yeang HY, Sussman GL, Bansal NK, Beezhold DH, Kelly KJ, Hoffman DR, Williams B, Fink JN. Detection of immunoglobulin antibodies in the sera of patients using purified latex allergens. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 359-369.
29. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S, Falagiani P. Detection of novel latex allergen associated with clinically relevant allergy to plant-derived foods. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 1312-1314.
30. Koh D, Ng V, Leow Y-H, Goh CL. A study of natural rubber latex allergens in gloves used by health care workers in Singapore. *British Journal of Dermatology* 2005; 153: 954-959.
31. O'Connor TM, Bourke JF, Jones M, Brennan N. Report of occupational asthma due to phytase and  $\beta$ -glucanase. *Occup Environ Med* 2001; 58: 417-419.
32. Moreno HL, Avila E, Angulo Y, Portillo J, Moreno L, Reza G, Hernández V, Levario M. Frequency in allergy to proteins of latex in health care workers. *Allergol et Immunopathol* 2005; 33: 210-213.
33. Palomares O, Villalba M, Rodríguez R. The C-terminal segment of the 1,3- $\beta$ -glucanase Ole e 9 from olive (*Olea europaea*) pollen is an independent domain with allergenic activity: expression in *Pichia pastoris* and characterization. *Biochem J* 2003; 369: 593-601.
34. Palomares O, Villalba M, Quiralte J, Polo F, Rodríguez R. 1,3- $\beta$ -glucanase as candidates in latex-pollen-vegetable food cross-reactivity. *Clin Exp Allergy* 2005; 35: 345-351.
35. Akiyama T, Shibuya N, Hrmova M, Fincher GB. Purification and characterization of a (1-3)- $\beta$ -D-glucan endohydrolase from rice (*Oryza sativa*) bran. *Carbohydrate Research* 1997; 297: 365-374.
36. Receveur V, Czjzek M, Barre A, Roussel A, Peumans WJ. Crystal structure at 1.45- $\text{\AA}$  Resolution of Major Allergen Endo- $\beta$ -1,3-glucanase of Banana as a Molecular basis for the Latex-Fruit Syndrome. *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics* 2006; 63: 235-242.



37. Yagami T, Sato M, Nakamura A, Komiya T, Kitagawa K, Akasawa A, Ikezawa Z. Plant defense-related enzymes as latex antigens. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 379-385.
38. Nieto GA, Mazón RA, Pamies ER, Caballero GL, Oliver JF, Colomer HN. Implicación clínica de la reactividad cruzada entre alergenos. *Allergol et Immunopathol* 2004; 32: 124-129.
39. Kurup VP, Sussman GL, Yeang HY, Elms N, Breiteneder H, Arif SAM, Kelly KJ, Bansal NK, Fink JN. Specific IgE response to purified and recombinant allergens in latex allergy. *Clin Mol Allergy* 2005; 3: 1-9.
40. Yagami T, Osuna H, Kouno M, Haishima Y, Nakamura A, Ikezawa Z. Significance of carbohydrate epitopes in a latex allergen with  $\beta$ -1,3-glucanase activity. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 129: 27-37.
41. Thomas WR. How good are carbohydrates as allergens? *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 658-661.
42. Calabozo B, Barber D, Plo F. Studies on the carbohydrate moiety of Pla I 1 allergen. Identification of a major N-glycan and significance for immunoglobulin E-binding activity. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 1628-1634.
43. Aalberse RC. Structural biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 228-238.
44. Aalberse RC. Structural features of allergenic molecules. *Chem Immunol Allergy* 2006; 91: 134-146.
45. Varghese JN, Garrett TPJ, Colma PM, Chen L, Höj PB, Fincher GB. Three-dimensional structure of two plant  $\beta$ -glucan endohydrolases with distinct substrate specificities. *Proc Natl Acad Sci* 1994; 91: 2785-2789.
46. Banner DW, Bloomer Ac, Petsko GA, Phillips DC, Pogson CI, Wilson IA, Corran PH, Furth AJ, Milman JD, Offord RE, Priddle JD, Waley SG. Structure of chicken muscle triose phosphate isomerase determined crystallographically at 2.5 angstrom resolution using aminoacid sequence data. *Nature* 1975; 255: 609-614.

Dirección para correspondencia:

Deyanira Fuentes-Silva  
Círculo Exterior, Cd. Universitaria, México,  
D.F. 04510, México.  
Teléfono: (52 5) 55-224568 Fax: (52 555)  
6162217