

HERRAMIENTAS PROTEÓMICAS Y BIOINFORMÁTICAS REVELAN LA COMPOSICIÓN ALERGÉNICA DEL POLEN DE *PARKINSONIA MICROPHYLLA*

PROTEOMICS AND BIOINFORMATICS TOOLS REVEAL ALLERGENIC COMPOSITION OF *PARKINSONIA MICROPHYLLA* POLLEN

Martha B. Morales-Amparano¹, Daniela Álvarez-Campa², Magdalena Hernández-Ortiz³, Sergio Encarnación-Guevara³, Luis M. Terán-Juárez⁴, José Á. Huerta-Ocampo^{1,*}

(1) Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C., Coordinación de Ciencia de los Alimentos, Carretera Gustavo Enrique Astiazarán Rosas #46, Sonora – México

(2) Universidad de Sonora, Licenciatura en Ciencias Genómicas, Avenida Luis Donaldo Colosio s/n, Edificio 7G, Sonora – México

(3) Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Ciencias Genómicas. Avenida Universidad s/n, Morelos – México

(4) Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Departamento de Investigación en Inmunogenética y Alergia. Calzada de Tlalpan 4502, Ciudad de México – México

(*e-mail: jose.huerta@ciad.mx)

Recibido: 18/05/2022 - Evaluado: 13/06/2022 - Aceptado: 27/06/2022

RESUMEN

El Palo Verde (*Parkinsonia microphylla*) es un árbol desértico del noroeste de México y el suroeste de Estados Unidos, es polinizado por insectos y una causa de alergia debido a la gran cantidad de flores que son arrastradas por el viento. Hasta el momento, no se han identificado alérgenos del polen de Palo Verde. Para comprender la composición alérgica del polen de Palo Verde, se identificaron sus proteínas y se predijeron las alérgicas utilizando bioinformática. Setenta y nueve proteínas identificadas se clasificaron como alérgenos putativos. Un análisis más refinado permitió clasificar estas proteínas con base en su identidad con proteínas alérgicas reportadas por el Subcomité de Nomenclatura de Alérgenos de la OMS/IUIS. Estableciendo fuerte evidencia de alergenidad en 15, débil en 21 y ninguna evidencia en 43 de estas proteínas. Las proteínas alérgicas putativas pueden contribuir al desarrollo de nuevas modalidades diagnósticas y terapéuticas para la alergia al polen de Palo Verde.

ABSTRACT

Palo Verde (*Parkinsonia microphylla*) is a common tree in the deserts of northwestern Mexico and the southwestern United States. Although an insect pollinated tree, it can cause allergy because of the huge volume of flowers that fall to ground, dry, and then picked up by the wind. So far, Palo Verde pollen allergens have not been identified. To understand the allergenic composition of Palo Verde pollen, we identified pollen proteins and allergenic proteins were predicted using bioinformatics tools. Among 809 identified proteins, 79 were categorized as putative allergens. Additional software allowed classifying putative allergenic proteins based on their sequence identity with allergenic proteins from WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee database. Strong allergenicity evidence was established in 15 proteins, weak in 21 cases, and no evidence in 43 cases. Putative allergenic proteins may contribute to the development new diagnostic and therapeutic modalities in Palo Verde pollen allergy.

Palabras clave: alergia, leguminosas del desierto, palo verde, proteínas

Keywords: allergy, desert legumes, palo verde, proteins

INTRODUCCIÓN

La alta prevalencia y la creciente incidencia de la alergia respiratoria causada por el polen es un importante problema de salud pública en la sociedad moderna. Las manifestaciones clínicas más frecuentes derivadas de la alergia respiratoria son la rinitis, la conjuntivitis y el asma, que reducen la calidad de vida de los pacientes y que, además, conlleva un gasto constante en medicamentos que sólo reducen los síntomas (Schmidt, 2016). La principal fuente de pólenes en el ambiente son los árboles, algunos identificados como alergénicos, sin embargo, muchos otros pueden estar no identificados, aunque exista sospecha de su alergenicidad, la cual a menudo se puede ver enmascarada por compartir alérgenos y estaciones de floración con fuentes de alérgenos predominantes en el área (Cariñanos *et al.*, 2002). Este es el caso del género *Parkinsonia* L. (1753), que cuenta con 12 especies a nivel mundial, ocho del Nuevo Mundo y cuatro del Viejo Mundo, con una distribución pantropical, creciendo naturalmente en zonas de clima semiárido y árido, como valles y pastizales desérticos, bosques espinosos, matorral xerófilo, bosque subperennifolio tropical, laderas rocosas, así como cerros y mesetas desérticas (Romão & Mansano, 2021).

Este género pertenece a la familia Fabaceae, donde se registran especies cercanas conocidas como alergénicas, como el árbol de mezquite, una especie filogenéticamente cercana que comúnmente coexiste con el Palo verde (*Parkinsonia microphylla*) y coincide en fechas de floración, por lo que puede ayudar a dilucidar si el polen de Palo verde tiene proteínas potencialmente alergénicas (Stuart *et al.*, 2006; Buckley & Carr, 2017). El palo verde es uno de los árboles más comunes en los desiertos y ampliamente utilizado como ornamento en áreas urbanas áridas del noroeste de México y el suroeste de los Estados Unidos. Es una especie llamativa, ya que al final de la primavera se cubre de flores amarillas y forma un manto del mismo color en su base con las flores caídas, por lo que es común colocarla en casas, paisajes urbanos y parques, donde las personas tienden a disfrutar de su sombra y belleza, sin embargo, también es una oportunidad para que las personas susceptibles se vuelvan sensibles a los alérgenos en su polen (Moreno-Sarmiento *et al.*, 2016). Cabe mencionar que la alergenicidad del polen de palo verde no ha sido propiamente demostrada, ni los alérgenos presentes en este han sido identificados mediante estudios inmunoproteómicos, hasta el momento. El proceso para demostrar la alergenicidad de las fuentes de polen, requiere la participación de pacientes que muestren sensibilidad ante la fuente polínica, lo cual puede verse entorpecido por la falta de diagnóstico, dificultando la obtención de muestras de suero para su uso en ese tipo de estudios. En este sentido, el uso de la proteómica libre de geles nos ayuda a identificar las proteínas presentes en una mezcla compleja, como el polen, y si se complementa con herramientas computacionales que nos ayudan a identificar y predecir su alergenicidad (López-Pedrouso *et al.*, 2023), podemos generar el conocimiento de si un determinado polen tiene proteínas homólogas a las identificadas como alergénicas en otras fuentes, lo que aumenta las posibilidades de que dicho polen sea efectivamente alergénico, siendo más seguro pasar a una posterior identificación y validación de alérgenos mediante el uso de los sueros de pacientes. El uso de estas herramientas puede facilitar la exploración de fuentes con relevancia clínica en primera instancia.

El polen de palo verde se considera causa de alergias y aún no se han caracterizado alérgenos de esta planta. Sin embargo, podría esperarse una amplia reactividad cruzada entre las diferentes especies de la familia Fabaceae. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es identificar las proteínas alergénicas presentes en el polen de palo verde utilizando un enfoque proteómico libre de geles y predecir su alergenicidad utilizando herramientas bioinformáticas, para impulsar la exploración de este polen como un alérgeno cada vez más relevante, que es abundantemente plantado como árbol ornamental en parques, calles y avenidas, así como en proyectos de urbanización ecológica, particularmente en ciudades desérticas del norte de México y el suroeste de Estados Unidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de polen y extracción de proteínas se realizaron de la siguiente manera: Se colectaron flores frescas de palo verde en las calles de la ciudad de Hermosillo, Sonora, México y se retiraron las anteras con malla de 2 mm. Los granos de polen se separaron de las anteras con una malla de 63 μ m (VWR International). Se transfirieron

100 mg de polen a un tubo de polipropileno de 2 mL y se sumergieron en nitrógeno líquido; el polen congelado se almacenó a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su uso. Las proteínas solubles del polen se extrajeron según el método reportado previamente (Huerta-Ocampo *et al.*, 2022), con ligeras modificaciones. Brevemente, se mezclaron 100 mg de polen con 3 mL de solución de extracción (sacarosa 30 %, dodecilsulfato de sodio (SDS) 2 %, Tris-HCl 0.1 M, β -mercaptoetanol 2 %, Fluoruro de fenilmetilsulfonilo 1 mM, pH 8.0). Se sonicó tres veces durante 1 min a una amplitud del 30 % (Ultrasonic Processor GE-505, Sonics & Materials, Inc.), luego se agitó en hielo durante 10 min a 120 rpm. Se añadió 1 volumen de fenol (equilibrado con Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8.0), se mezcló y se centrifugó a 4300 rcf/15 min/4 $^{\circ}\text{C}$. La fase fenólica se recuperó y se mezcló con 4 volúmenes de acetato de amonio 100 mM y se incubó durante 16 h a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Luego, las muestras se centrifugaron a 13 000 rcf durante 15 min a 4 $^{\circ}\text{C}$, el sedimento se lavó (por centrifugación) una vez con acetona absoluta fría y dos veces con acetona al 80 %. El sedimento se secó al vacío a temperatura ambiente y se suspendió en 500 μL de solución de rehidratación (Urea 8 M, 3-((3-colamidopropil)dimetilamonio)-1-propanosulfonato al 2%, ditiotreitól 20 mM). La solución de proteína resultante se desaló usando una columna PD-10 (Cytiva), se precipitó durante la noche con acetato de amonio 100 mM, se centrifugó (13 000 rcf durante 15 min a 4 $^{\circ}\text{C}$) y se suspendió en 500 μL de solución de rehidratación. La concentración de proteína del polen se estimó con el ensayo de proteína RC DC (Bio-Rad) utilizando BSA como estándar.

Para realizar la identificación de las proteínas extraídas del polen empleando espectrometría de masas y análisis bioinformático, las proteínas (100 μg) se sometieron a reducción, alquilación, y digestión en solución con tripsina grado espectrometría de masas (Pierce Biotechnology) empleando una proporción de tripsina: proteína de 1:30 (p/p), durante 20 h a 37 $^{\circ}\text{C}$. Después de la digestión, los péptidos se desalaron con cartuchos C18 (Sep-Pak C18, Waters) y se secaron al vacío como se reportó anteriormente (Palafox-Felix *et al.*, 2022). Los péptidos se analizaron mediante espectrometría de masas en tándem (nano-LCMS/MS) utilizando un espectrómetro de masas de alta resolución (Q-Exactive Plus Thermo Fisher Scientific) acoplado a un cromatógrafo líquido de ultra rendimiento (Dionex Ultimate 3000, sistema RSLCnano UHPLC, Thermo Fisher Scientific). Los péptidos se separaron mediante un gradiente de elución de 250 min en una columna capilar a un flujo de 250 nL/min (EASY Spray Column, PepMap RSLC, C18, 3 μm , 100 A° (75 $\mu\text{m} \times 186\ 150\ \text{mm}$) como se reportó previamente por Pérez-Pérez *et al.* (2021).

La identificación de proteínas se realizó utilizando el software MaxQuant (v 2.1.4.0) y la base de datos de proteínas de *Prosopis alba* disponible en el NCBI (57,575 secuencias, octubre de 2021). Se seleccionó tripsina como la proteasa específica y se permitió la pérdida de un sitio de corte. La tolerancia de masa para iones moleculares e iones fragmento se fijó en 20 ppm. La oxidación de metionina se especificó modificación como variable, mientras que la carbamidometilación de cisteínas se especificó como modificación fija. Se necesitaron al menos dos péptidos para considerar confiable la identificación de las proteínas.

Para predecir la alergenicidad de las proteínas del polen, las secuencias de proteínas correspondientes a los ortólogos filogenéticamente más cercanos de las proteínas identificadas de palo verde se analizaron en AllerTop v.2.0. (<https://www.ddg-pharmfac.net/AllerTOP/method.html>), herramienta para predecir la alergenicidad de proteínas. Las proteínas que resultaron potencialmente alergénicas se analizaron adicionalmente con la herramienta AllerCatPro 2.0 (<https://allercatpro.bii.a-star.edu.sg/>) que, además de evaluar el potencial alergénico de una proteína, también arroja el mejor resultado registrado en el base de datos oficial del Subcomité de Nomenclatura de Alérgenos de la OMS/IUIS (<http://www.allergen.org/>) y proporciona información sobre el nivel de evidencia de dicha alergenicidad en relación con los homólogos en otras fuentes alergénicas, si los hubiera.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El enfoque proteómico libre de geles permitió identificar con éxito 808 proteínas en el polen de palo verde empleando la base de datos del proteoma de *Prosopis alba*, el organismo con datos de proteoma filogenéticamente más cercano. Entre las proteínas identificadas en el polen de palo verde, 79 se predijeron como supuestos alérgenos utilizando la herramienta bioinformática AllerTop v.2.0, las cuales, a su vez, se analizaron en el software,

AllerCatPro 2.0, el cual permitió clasificar las proteínas alergénicas putativas en función de su identidad de secuencia con las proteínas alergénicas de la base de datos del Subcomité de Nomenclatura de Alérgenos de la OMS/IUIS, arrojando que existe una fuerte evidencia de alergenicidad en 15 proteínas y evidencia débil en 21 casos, mientras que los otros 43 casos no mostraron evidencia de alergenicidad, por lo que fueron descartados. Se identificaron un total de 36 proteínas alergénicas putativas en el polen de *Parkinsonia microphylla*, las cuales se enlistan en la Tabla 1.

Tabla 1: Identificación de proteínas alergénicas predichas en polen de *Parkinsonia microphylla*.

| Numero de acceso* | Proteína | kDa | Score | Cobertura de secuencia [%] |
|-------------------|---|--------|--------|----------------------------|
| XP_028751754.1 | Glucano endo-1,3-beta-glucosidasa, isoforma básica | 38.876 | 152.7 | 31.8 |
| XP_028751974.1 | Glutación S-transferasa F9 | 25.136 | 27.832 | 22.8 |
| XP_028755524.1 | Malato deshidrogenasa, mitocondrial | 36.142 | 33.521 | 34.4 |
| XP_028756120.1 | Coatómero subunidad beta-2 | 102.97 | 43.495 | 9.1 |
| XP_028756658.1 | Exopoligalacturonasa | 26.638 | 22.743 | 16.2 |
| XP_028756659.1 | Exopoligalacturonasa | 47.288 | 23.319 | 11.1 |
| XP_028756668.1 | Proteína 2A relacionada a patogénesis clase 10 (PR10) | 17.099 | 43.894 | 21.5 |
| XP_028756835.1 | 60S proteína ribosomal ácida P2A | 11.308 | 40.605 | 37.7 |
| XP_028757548.1 | Disulfuro-isomerasa | 57.245 | 255.68 | 29.4 |
| XP_028758086.1 | Metionina sintasa independiente de cobalamina | 84.833 | 88.893 | 27.3 |
| XP_028763266.1 | Proteasa similar a subtilisina SBT1.4 | 82.701 | 49.198 | 4.0 |
| XP_028765712.1 | Coatómero subunidad alfa-2 | 136.47 | 28.108 | 5.0 |
| XP_028766869.1 | Metionina sintasa independiente de cobalamina | 84.423 | 137.98 | 32.8 |
| XP_028770255.1 | Profilina | 14.356 | 148.58 | 57.9 |
| XP_028770608.1 | Isoforma homóloga de calnexina | 52.569 | 52.035 | 15.4 |
| XP_028771514.1 | Proteína relacionada al choque térmico 80 | 80.785 | 140.61 | 22.4 |
| XP_028771798.1 | Fosfoglicerato quinasa, citosólica | 42.473 | 124.28 | 57.9 |
| XP_028774695.1 | Proteína de unión luminal 5 | 73.347 | 323.31 | 40.5 |
| XP_028776788.1 | Peptidil-prolil cis-trans isomerasa 1 | 18.18 | 95.054 | 37.2 |
| XP_028776878.1 | D-3-fosfoglicerato deshidrogenasa 2 | 66.584 | 151.4 | 28.2 |
| XP_028778507.1 | Xiloglucano endotransglucosilasa/hidrolasa 2 | 32.824 | 20.642 | 11.9 |
| XP_028778829.1 | Superóxido dismutasa [Mn], mitocondrial | 26.579 | 101 | 14.6 |
| XP_028781060.1 | Lactoilglutación liasa GLX1 | 32.737 | 49.651 | 18.0 |
| XP_028781296.1 | Proteasoma subunidad beta tipo 6 | 25.433 | 143.09 | 30.6 |
| XP_028781529.1 | Proteína de choque térmico 90-5, cloroplástica | 66.131 | 62.452 | 14.9 |
| XP_028783310.1 | Piruvato quinasa 1, citosólica | 57.14 | 30.878 | 20.5 |
| XP_028784184.1 | Piruvato quinasa isomerasa A, cloroplástica | 65.163 | 12.498 | 4.4 |
| XP_028784626.1 | Cadena beta de tubulina | 50.395 | 78.926 | 32.1 |
| XP_028792005.1 | Pectinesterasa | 62.357 | 323.31 | 28.7 |
| XP_028795793.1 | 60S proteína ribosomal ácida P1 | 11.419 | 11.459 | 49.5 |
| XP_028795972.1 | Proteína de choque térmico de 70 kDa | 101.43 | 89.714 | 19.7 |
| XP_028801878.1 | MLP- proteína 423 | 17.098 | 81.059 | 37.9 |
| XP_028801958.1 | Peroxidasa 31 | 36.412 | 80.808 | 13.7 |
| XP_028803081.1 | Poligalacturonasa | 41.163 | 323.31 | 22.7 |
| XP_028803104.1 | Poligalacturonasa | 41.303 | 323.31 | 23.4 |
| XP_028805064.1 | Factor de elongación 1-gamma | 48.057 | 56.715 | 15.2 |

*Número de acceso a la base proteínas del NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

Cinco proteínas identificadas en el polen de *P. microphylla* se reportan como alergénicas en el polen de mezquite, por lo que se consideran alergénicas putativas. Dichas proteínas son: Glucano endo-1,3-beta-glucosidasa, malato deshidrogenasa mitocondrial, poligalacturonasa, proteína 2A relacionada a patógenos clase 10 (PR-10) y profilina (Huerta-Ocampo *et al.*, 2022). De estas se puede destacar la presencia de las proteínas PR-10 y profilina, pertenecientes a dos conocidas familias de panalérgenos, lo que podría explicar en gran medida el fenómeno de reactividad cruzada con el polen de mezquite y, posiblemente, otras fuentes de alérgenos. Por ejemplo, la proteína PR-10 y la profilina son compartidas con fuentes de alérgenos alimentarios como apio, zanahoria y cacahuate, lo que puede ser causa del síndrome de alergia oral (WHO/IUIS, 2023).

La Glucano endo-1,3-beta-glucosidasa, también está formalmente registrada como alérgeno en el olivo [*Olea europaea*, (Ole e 9)], el plátano [*Musa acuminata* (Mus a 5)], y se ha reportado en el polen del árbol de durazno, además del de mezquite (WHO/IUIS, 2023; Blanca *et al.*, 2020). Otra proteína previamente reportada en otras fuentes como alergénica es la poligalacturonasa, de la cual actualmente hay once registradas como alérgenos, de las cuales una es un alérgeno alimentario, y las otras diez están reportadas como aeroalérgenos, pertenecientes a plantas provenientes de los órdenes de los Cupressales, Poales, Lamiales, Proteales y Caryophyllales. Así mismo, la malato deshidrogenasa es un alérgeno registrado en *Aspergillus fumigatus* y *Malassezia furfur*, que son hongos, sin embargo, se ha reportado como aeroalérgeno en el polen de sandía (*Citrullus lanatus*) (Pastor *et al.*, 2009; WHO/IUIS, 2023). El almendro (*Prunus dulcis*) es la única fuente de polen con la proteína 60S ribosomal ácida P2 registrada como alérgeno, otras como Alt a 5, Fus c 1, Asp f 8, y Cla h 5 son provenientes de hongos. Hasta el momento, el polen de la morera blanca (*Morus alba*) es la única fuente en que se reporta oficialmente a la metionina sintasa independiente de cobalamina como un aeroalérgeno (WHO/IUIS, 2023).

La proteína de choque térmico de 70 kDa, se ha registrado como aeroalérgeno proveniente de hongos como *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium citrinum* y el ácaro de polvo, y como alérgeno de contacto en *Malassezia sympodialis*. Así mismo, la proteína de choque térmico de 80 kDa se ha reportado solamente en el hongo *Aspergillus fumigatus*, hasta el momento, ninguna en polen (WHO/IUIS, 2023). Otra proteína del polen de palo verde predicha como alergénica en este trabajo y reportada ampliamente como alergénica es la superóxido dismutasa (SOD), reportada como alérgeno alimentario en el pistache, y de contacto en *Hevea brasiliensis* y *Malassezia sympodialis*. La SOD se reporta como un aeroalérgeno en los hongos *Alternaria alternata* y *Aspergillus fumigatus*, y en los pólenes de *Ambrosia trifida*, *Artemisia sieversiana* y *Olea europaea* (Cramer, 2015; WHO/IUIS, 2023).

En la Tabla 2 se muestran las proteínas alergénicas putativas identificadas en el polen de *P. microphylla* y que tienen distintos niveles de identidad a nivel de secuencia de aminoácidos con proteínas ampliamente reconocidas como alergénicas en otras fuentes. Los niveles de identidad de estas proteínas oscilan entre el 22.27 y el 92.92 %; mientras que en 16 de las 35 proteínas el nivel de identidad es mayor al 50 %, respecto a sus homólogos reconocidos ampliamente como causa de alergia en otros organismos que en algunos casos son filogenéticamente distantes.

El polen de palo verde ha mostrado indicios de su alergenicidad, en zonas cercanas al desierto de Sonora, sin embargo, esta no se ha demostrado hasta el momento. Algunos autores resaltan la importancia de identificar y validar fuentes alergénicas de zonas con climas únicos, como lo es el desierto de Sonora, el cual abarca una región del sur de Estados Unidos y otra al norte de México, formando una región con un clima particular y fuentes alergénicas poco comunes en ambos países, lo que ocasiona que puedan pasar desapercibidas y sean poco exploradas (Buckley & Carr, 2017). Esto puede deberse a que su floración coincide con otra fuente de relevancia clínica como *Prosopis sp.*, con la cual hay indicios de reactividad cruzada y, como se muestra en este trabajo, comparte algunos alérgenos (Huerta-Ocampo *et al.*, 2022). Un análisis retrospectivo de datos realizado en Tucson, Arizona, reveló que un 47.3 % de los participantes presentaron una prueba cutánea positiva ante el polen de palo verde, siendo el segundo polen de árbol más prevalente, después del polen de mezquite (54.4 %), colocándose en el tercer lugar del top 5 de alérgenos más prevalentes en dicho estudio. Interesantemente, 91.6 % de los pacientes con prueba cutánea positiva a palo verde también mostraron una reacción positiva ante mezquite, sugiriendo una potencial reactividad cruzada (Buckley & Carr, 2017), que podría explicarse por las proteínas compartidas en los pólenes de ambas especies.

Tabla 2: Proteínas alergénicas putativas en el polen de *Parkinsonia microphylla* y sus alérgenos homólogos en otras fuentes.

| Proteína alergénica putativa en palo verde | Alérgeno reconocido | Especie | % Identidad |
|---|---------------------|------------------------------------|-------------|
| Proteína de unión luminal 5 | Cor a 10 | <i>Corylus avellana</i> | 92.92 |
| Peptidil-prolil cis-trans isomerasa 1 | Ara h 18 | <i>Arachis hypogaea</i> | 90.7 |
| Proteína relacionada al choque térmico 80 | Hev b HSP80 | <i>Hevea brasiliensis</i> | 88.94 |
| Profilina | Que ac 2 | <i>Quercus acutissima</i> | 87.97 |
| Metionina sintasa independiente de cobalamina | Sal k 3 | <i>Salsola kali</i> | 87.05 |
| Malato deshidrogenasa, mitocondrial | Citr I MDH | <i>Citrullus lanatus</i> | 84.64 |
| Superóxido dismutasa [Mn], mitocondrial | Hev b 10 | <i>Hevea brasiliensis</i> | 82.68 |
| Lactoilglutación liasa GLX1 | Ory s Glioxalasa I | <i>Oryza sativa</i> | 76.47 |
| 60S proteína ribosomal ácida P2A | Pru du 5 | <i>Prunus dulcis</i> | 76.11 |
| Proteína 2A relacionada a patogénesis clase 10 (PR10) | Gly m 4 | <i>Glycine max</i> | 67.72 |
| Glucano endo-1,3-beta-glucosidasa, isoforma básica | Hev b 2 | <i>Hevea brasiliensis</i> | 63.79 |
| 60S proteína ribosomal ácida P1 | Alt a 12 | <i>Alternaria alternata</i> | 51.31 |
| Poligalacturonasa | Pla a 2 | <i>Platanus acerifolia</i> | 51.21 |
| Fosfoglicerato quinasa, citosólica | Cand a PGK | <i>Candida albicans</i> | 50.63 |
| Isoforma homóloga de calnexina | Pen ch 31 | <i>Arthroderma benhamiae</i> | 50.45 |
| Poligalacturonasa | Pla a 2 | <i>Platanus acerifolia</i> | 50.27 |
| Proteína de choque térmico 90-5, cloroplástica | Hev b HSP80 | <i>Hevea brasiliensis</i> | 44.53 |
| Pectinesterasa | Act d 7 | <i>Actinidia deliciosa</i> | 43.57 |
| Exopoligalacturonasa | Ole e 14 | <i>Olea europaea</i> | 43.39 |
| Proteasa similar a subtilisina SBT1.4 | Cuc m 1 | <i>Cucumis melo</i> | 40.89 |
| Cadena beta de tubulina | Lep d 33 | <i>Lepidoglyphus destructor</i> | 39.82 |
| Peroxidasa 31 | Tri a Peroxidasa | <i>Triticum aestivum</i> | 38.61 |
| Disulfuro-isomerasa | Alt a 4 | <i>Arthroderma benhamiae</i> | 35.25 |
| Piruvato quinasa isomerasa A, cloroplástica | Pan h 9 | <i>Pangasianodon hypophthalmus</i> | 34.06 |
| Piruvato quinasa 1, citosólica | Sal s 9 | <i>Salmo salar</i> | 33.60 |
| Proteína de choque térmico de 70 kDa 17 | Mala s 10 | <i>Malassezia sympodialis</i> | 31.54 |
| Exopoligalacturonasa | Ole e 14 | <i>Olea europaea</i> | 31.44 |
| MLP- proteína 423 | Act d 11 | <i>Actinidia deliciosa</i> | 27.33 |
| Factor de elongación 1-gamma | Per a 5 | <i>Periplaneta americana</i> | 26.67 |
| Coatómero subunidad alfa-2 | Bla g RACK1 | <i>Blattella germanica</i> | 26.19 |
| Coatómero subunidad beta-2 | Bla g RACK1 | <i>Blattella germanica</i> | 24.32 |
| D-3-fosfoglicerato deshidrogenasa 2 | Asp f FDH | <i>Aspergillus fumigatus</i> | 24.10 |
| Glutación S-transferasa F9 | Per a 5 | <i>Periplaneta americana</i> | 24.02 |
| Proteasoma subunidad beta tipo 6 | Zea m 20S | <i>Zea mays</i> | 22.93 |
| Xiloglucano endotransglucosilasa/hidrolasa 2 | Asp f 16 | <i>Aspergillus fumigatus</i> | 22.27 |

Pese a que *Parkinsonia* es un género frecuentemente predominante en zonas áridas urbanas y rurales, no suele ser uno de los géneros predominantes en los conteos aerobiológicos ya que sus integrantes son generalmente polinizados por insectos. Sin embargo, estudios biogeográficos señalan que el polen de *Parkinsonia* tiende a acumularse principalmente sobre comunidades urbanas donde es sobre utilizado con fines decorativos (Stuart *et al.*, 2006). Se ha evidenciado que la exposición cercana y/o continua al polen puede bastar para causar sensibilización, aunque el polen de algunas fuentes no sea tan eficazmente transportado por el aire (Cariñanos *et al.*, 2002). Estudios aerobiológicos en ciudades de zonas áridas han reportado la presencia del polen de *Parkinsonia*, arrojando datos muy interesantes. En uno de ellos, realizado en Ciudad Obregón, Sonora, se monitorearon las variedades y cantidades de pólenes en el aire por un periodo de cuatro años, siendo el proveniente de *Parkinsonia* uno de los más abundantes. Lo más impactante fue la comparación de los niveles del

polen de palo verde en el aire entre el primer y último año de las mediciones, llegando a haber una diferencia de hasta 6 veces más en los meses de floración del último año (febrero y marzo), respecto al primero (Moreno-Sarmiento *et al.*, 2016). Esto podría darnos una idea del constante cambio del nivel de exposición que está teniendo la población en zonas áridas y semi-áridas, donde este árbol tiene un uso descontrolado como ornamental. En otras ciudades de regiones áridas y semi-áridas como en Granada, España; Tando Jam, Hyderabad y Karachi en Pakistán, y diversas ciudades en Arabia Saudita, se ha reportado al polen de *Parkinsonia* como regular constituyente de los conteos aerobiológicos (Cariñanos *et al.*, 2016; Hasnain *et al.*, 2005; Parveen *et al.*, 2012; Parveen *et al.*, 2015). Los granos de polen de *Parkinsonia* se consideran de tamaño pequeño con exceso de contenido de almidón y polisacáridos, así como con un contenido alto de proteínas, respecto a otras variedades de polen, características que lo hacen idóneo para sensibilizar a individuos susceptibles (Taia & Zayed, 2021).

CONCLUSIÓN

En este trabajo se identificaron las proteínas presentes en el polen de palo verde (*Parkinsonia microphylla*) utilizando un enfoque proteómico libre de geles y se predijo su alergenicidad mediante herramientas bioinformáticas, revelando la importancia del mismo como una fuente relevante de aeroalérgenos. Este polen posee proteínas con una alta identidad con proteínas ampliamente reconocidas como alérgenos en otras fuentes. Este tipo de estudios son de gran ayuda en la exploración de fuentes alergénicas de relevancia clínica y hasta la fecha poco estudiadas. Sin embargo, caracterizar estas fuentes mediante estudios inmunoproteómicos abrirá paso al correcto diagnóstico y tratamiento de alergias que actualmente no cuentan con estas opciones. Adicionalmente, el revelar el potencial alergénico del polen del árbol de palo verde arroja información que puede impactar en acciones de salud pública que permitan controlar su uso desmedido como ornamental.

REFERENCIAS

- Blanca, M., Victorio Puche, L., Garrido-Arandia, M., Martín-Pedraza, L., Romero Sahagún, A., López-Sánchez, *et al.* (2020). Pru p 9, a new allergen eliciting respiratory symptoms in subjects sensitized to peach tree pollen. *PLoS One*, 15 (3), e0230010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230010>
- Buckley, R.D. & Carr, T.F. (2017). Association of aeroallergen sensitization and atopic disease in the Sonoran Desert. In *Allergy & Asthma Proceedings*, 38 (5), 370-375. <https://doi.org/10.2500/aap.2017.38.4077>
- Cariñanos, P., Adinolfi, C., Díaz de la Guardia, C., De Linares, C. & Casares-Porcel, M. (2016). Characterization of allergen emission sources in urban areas. *Journal of Environmental Quality*, 45 (1), 244-252. <https://doi.org/10.2134/jeq2015.02.0075>
- Cariñanos, P., Alcázar, P., Galán, C. & Domínguez, E. (2002). Privet pollen (*Ligustrum sp.*) as potential cause of pollinosis in the city of Córdoba, south-west Spain. *Allergy*, 57 (2), 92-97. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2002.103261.x>
- Cramer, R. (2015). Structural aspects of fungal allergens. *Seminars in Immunopathology*, 37, 117-121. <https://doi.org/10.1007/s00281-014-0458-0>
- Hasnain, S.M., Fatima, K., Al-Frayh, A. & Al-Sedairy, S.T. (2005). One-year pollen and spore calendars of Saudi Arabia Al-Khobar, Abha and Hofuf. *Aerobiologia*, 21, 241-247. <https://doi.org/10.1007/s10453-005-9000-0>
- Huerta-Ocampo, J.Á., Batista-Roche, L G., Morales-Amparano, M.B., Robles-Burgueño, M.D.R., Ramos-Clamont Montfort, G., *et al.* (2022). Identification of Allergenic Proteins in Velvet Mesquite (*Prosopis velutina*) Pollen: An Immunoproteomics Approach. *Life*, 12 (9), 1421. <https://doi.org/10.3390/life12091421>

López-Pedrouso, M., Lorenzo, J.M., Alché, J D.D., Moreira, R. & Franco, D. (2023). Advanced Proteomic and Bioinformatic Tools for Predictive Analysis of Allergens in Novel Foods. *Biology*, 12 (5), 714. <https://doi.org/10.3390/biology12050714>

Moreno-Sarmiento, M., Peñalba, M.C., Belmonte, J., Rosas, I., Ortega-Nieblas, M. M., Villa-Ibarra, M., *et al.* (2016). Urban airborne pollen in a semiarid environment. *Aerobiologia*, 32, 363-370. <https://doi.org/10.1007/s10453-015-9401-7>

Palafox-Félix, M., Huerta-Ocampo, J.A., Hernández-Ortíz, M., Encarnación-Guevara, S., Vázquez-Moren, L., Guzmán-Partida, A.M., *et al.* (2022). Proteomic analysis reveals the metabolic versatility of *Amycolatopsis* sp. BX17: A strain native from milpa agroecosystem soil. *Journal of Proteomics*, 253, 104461. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2021.104461>

Parveen, A., Khan, M. & Zeb, S. (2012). Identification and quantification of airborne pollen from Hyderabad: Tando-Jam, Sindh. *Pakistan Journal of Botany*, 44 (5), 1755-1762.

Parveen, A., Khan, M., Zeb, S. & Imam, A.A. (2015). Impact and correlation of environmental conditions on pollen counts in Karachi, Pakistan. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*, 14 (1), 83-90. PMID: 25530143. <https://ijaai.tums.ac.ir/index.php/ijaai/article/view/408/429>

Pastor, C., Cuesta-Herranz, J., Cases, B., Pérez-Gordo, M., Figueredo, E., De Las Heras, M., *et al.* (2009). Identification of major allergens in watermelon. *International Archives of Allergy and Immunology*, 149(4), 291-298. <https://doi.org/10.1159/000205574>

Pérez-Pérez, L.M., Huerta-Ocampo, J.Á., Ramos-Enríquez, J.R., Ruiz-Cruz, S., Wong-Corral, F.J., Rosas-Burgos, E.C., *et al.* (2021). Interaction of the human intestinal microbiota with the release of bound phenolic compounds in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Food Science & Technology*, 56 (12), 6497-6506. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15351>

Romão, M.V.V. & Mansano, V.D.F. (2021). Taxonomic review of the species of *Parkinsonia* (Leguminosae, Caesalpinioideae) from the Americas. *Rodriguésia*, 72: e01962020. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202172119>

Schmidt, C.W. (2016). Pollen overload: Seasonal Allergies in a Changing Climate. *Environmental Health Perspectives*, 124 (4), 70-75. <https://doi.org/10.1289/ehp.124-A70>

Stuart, G., Gries, C. & Hope, D. (2006). The relationship between pollen and extant vegetation across an arid urban ecosystem and surrounding desert in Southwest USA. *Journal of Biogeography*, 33 (4), 573-591. <https://www.jstor.org/stable/3838584>

Taia, W.K. & Zayed, A.A.H. (2021). Road Tree Pollen Grain Contents and Effect on the Immune System. *Quantum Journal of Medical and Health Sciences*, 1 (4), 34-50. <https://qjmhs.com/index.php/qjmhs/article/view/24>

WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee (2023): <http://www.allergen.org/index.php>