

**UNIVERSIDAD DE GRANADA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA**



***ANÁLISIS DEL POLEN ALERGÓGENO EN LA ATMÓSFERA  
DE GRANADA: EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES  
POLÍNICAS, ACTIVIDAD ALERGÉNICA E INCIDENCIA EN  
LA POBLACIÓN ATÓPICA***

**TESIS DOCTORAL**

**CONCEPCIÓN DE LINARES FERNÁNDEZ**

**Granada, 2007**





UNIVERSIDAD DE GRANADA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

***ANÁLISIS DEL POLEN ALERGÓGENO EN LA ATMÓSFERA DE  
GRANADA: EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES  
POLÍNICAS, ACTIVIDAD ALERGÉNICA E INCIDENCIA EN LA  
POBLACIÓN ATÓPICA***

Memoria para optar al grado de Doctora  
en Biología presentada por  
**Concepción De Linares Fernández**

**DIRECTORAS**

**Dra. Consuelo Díaz de la Guardia  
Guerrero**

**Dra. Francisca Alba Sánchez**

**Granada, 2007**



## AGRADECIMIENTOS

Al fin ha llegado el momento de expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que me han apoyado y creído en mí y a las que por ello, siempre deberé mi reconocimiento.

En primer lugar agradezco todo este trabajo a mis dos Directoras de Tesis, Consuelo Díaz de la Guardia y Francisca Alba, quienes confiaron en mí y me brindaron la oportunidad de realizar este trabajo; por su dedicación, consejos, enseñanzas y sobretodo paciencia, puesto que reconozco que a veces puedo llegar a ser muy tenaz. A Francisca Alba que, además de directora, ha sido compañera y amiga en viajes, congresos, celebraciones... por mostrar siempre una sonrisa y un apoyo incondicional aún cuando los momentos no lo acompañaran. A Consuelo Díaz de la Guardia, a quien debo mis nociones (y porqué no, "pericia") para impartir docencia, por las horas empleadas para enseñarme cómo se debe transmitir conocimientos sin "morir en el intento".

En segundo lugar, a Diego Nieto Lugilde, mi compañero de "faenas", amigo y pieza imprescindible en esta tarea. No sabes cuanta es la ayuda que me has brindado. Por esas horas frente al microscopio, al ordenador, a las hojas de cálculo, a los artículos, a mi Tesis. Por esos momentos de risas, de debates, de charlas... No he podido tener mejor compañero y por eso... MUCHÍSIMAS GRACIAS.

A los miembros del equipo de investigación del Proyecto I+D+I BOS2002-03474 "Análisis de la actividad alergénica de la atmósfera" integrado por investigadores de las Universidades de Granada, Córdoba y Málaga; Paloma Cariñanos, Carmen Galán, M. Mar Trigo, Baltasar Cabezudo, Marta Recio, Marta Gómez, Silvia Docampo, Marta Melgar; porque en su día confiaron en mí dejando que el Proyecto se trasladase a Granada y me dieran plena libertad para realizar el trabajo, el cual, en mi humilde opinión, ha salido para adelante con mucho esfuerzo, pero que sin vuestra ayuda y aceptación no hubiera sido posible. Del mismo modo quiero agradecer al Departamento de Parasitología, Prof. Antonio Osuna, Pedro Álvarez y Luis Miguel De Pablos, por enseñarme a realizar la Técnica ELISA, sus conceptos, su metodología, por mostrar en todo momento una disponibilidad envidiable y desinteresada, este trabajo sin vosotros hubiera sido irrealizable.

A todos los miembros de las Unidades de Alergología, médicos, enfermeras, auxiliares, secretarías, que con su ayuda y entrega me han dado la oportunidad de realizar este estudio con datos de primera mano sobre la población atópica de la provincia de Granada; Dra. M<sup>a</sup> Ángeles Lara, Dra. M<sup>a</sup> José Rojas, Dr. Francisco Girón, Dra. Ana Martínez Cañavate, Dr. Julián López Caballero, Dr. Fernando Florido, Ana Rojas, Ana Hernández, Purificación, Isabel... gracias por vuestra amabilidad y paciencia.

A los profesores del Departamento de Botánica, Ana Teresa Romero, Gabriel Blanca, Juan Antonio Gil, Concepción Morales, Pedro Sánchez, Julio Peñas, Antonio Ortega, Francisco Valle, Julio de la Rosa, Juan Lorite y miembros del PAS, Pepe Herrera y Pepe Gómez, por estar disponibles siempre que me surgía alguna duda o problema sin pedir nada a cambio.

A todos los "integrantes" de Excursiones-Botánicas.com, becarios del Departamento, miembros del Herbario y sobretodo amigos, Víctor, Inma, Ingrid, Rafa, David, Elisa, Blas, Mariate, Chesco, Pipo, Noelia, Santi, Eva y a Gloria, siempre tendrás las llaves de mi casa para lo que quieras y cuando quieras.

A mis "Directoras de Tesis fallida", M. Teresa González y Francisca Martínez. Lo poquísimo que sé de bacterias, cultivos, DRX, TEM-EDAX, HRTEM, barita, dolomita, kutnahorita... os lo debo a vosotras. Habéis sido como mi segunda casa, después de Botánica, y eso nunca lo olvidaré. Después de esta Tesis, quién sabe, ¿aceptaríais el reto de una nueva? Me ha encantado y me sigue encantando trabajar con "Idiomarinas" y ciclos biogeoquímicos. Espero no perder el contacto y que sigamos aportando nuestro granito de arena en el campo de la biomineralización. Mención especial a Fadwa, ¡qué hubiera hecho yo sin tus enseñanzas en el laboratorio de Microbiología!

A mis bichejos, Espe, Águeda, Miriam, Marina, M. Carmen, María, Santi, Juan Ardoy, César "de la Miri" por estar ahí animándome y apoyándome siempre; a mis niñas, Cristina, Natalia y Patricia; a mi jerezano favorito y hermano, David Arriaza.

Al migresforum, Juan, Rubén, Bea, Joaquín, Toni, Vega, Sheila, Fede, Juan Carlos, Cesc y parte de "mis bichejos", por esos momentos de pajareo, bailoteo y risas que espero que nunca terminen, que sigamos con los prismáticos mirando al cielo a ver si aparece lo impredecible para celebrarlo como hasta ahora.

Por último, no voy a olvidarme de los verdaderos sufridores, de los que me han aguantado treinta años, y seguirán haciéndolo, quieran o no: MI FAMILIA.

Mis padres, Juan y Concha, profesores ambos de Universidad, que saben y nos han inculcado el don y beneficio del estudio, del esfuerzo y del trabajo. Esta Tesis es POR y PARA vosotros, espero que os sintáis orgullosos y satisfechos de cómo nos habéis educado, pues creo que es imposible poder hacerlo mejor. Gracias por ser mis padres.

A mis hermanas Curri, Lucía y Sole por tener que soportar mis arrebatos, mis caprichos, mi forma de ser. Aunque esté mal decirlo, sois las mejores hermanas que una pueda tener. A mi abuela, por esas llamadas al móvil que nunca realizas, pero que me da alegría recibirlas y ver que estás bien. A mi cuñado Jesús, por estar ahí siempre que uno quiera, para lo que quiera y para lo que sea. A Jose, que aunque lo conozco menos, haces feliz a mi hermana y con eso me basta. A mis tíos y demás familia.

Por último, a todos los que en estos seis meses de mi vida no me han dejado sola en lo profesional y ante todo en lo personal, ya sabéis quienes sois, ni uno más ni uno menos, sin vosotros no hubiera salido adelante. GRACIAS por hacerme ver que la vida sigue y que hay que disfrutarla aún con revés, infortunios o contrariedades.

*A mis padres*  
*Juan y Concha*





## ÍNDICE GENERAL

<b>PRÓLOGO</b> .....	9
CAPÍTULO PRIMERO:	
<b>EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES POLÍNICAS</b> .....	11
CAPÍTULO SEGUNDO:	
<b>ACTIVIDAD ALERGÉNICA</b> .....	127
CAPÍTULO TERCERO:	
<b>INCIDENCIA EN LA POBLACIÓN ATÓPICA</b> .....	219
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	303



## ***PRÓLOGO***

En el desarrollo de esta Tesis Doctoral se pretende hacer un viaje en el estudio del polen aerovagante y la alergia, exponiendo los conocimientos científicos que existen en la actualidad sobre los tipos polínicos reconocidos como alergógenos, aportando datos sobre sus características botánicas, evolución estacional y contenido alergénico en la atmósfera, así como la sintomatología clínica que provocan en la población atópica; es probablemente, la primera Tesis Doctoral que aborda de forma conjunta estos tres aspectos de la Ciencia, Aerobiológico, Inmunológico y Alergológico.

El estudio se ha dividido en tres grandes Capítulos “Evolución de las concentraciones polínicas”, “Actividad alergénica” e “Incidencia en la población atópica”. Cada uno de ellos se inicia con una introducción en la que aparece un breve recuerdo histórico que, además de ilustrarnos, es una muestra de agradecimiento a nuestros predecesores, así como una revisión de los conocimientos más actuales.

El capítulo de Aerobiología contiene una amplia descripción del área de muestreo, un análisis morfológico de los tipos polínicos más importantes en la atmósfera de la ciudad de Granada, su evolución a lo largo de los 15 años de estudio y las tendencias y variaciones que han sufrido en este periodo. Además se analiza la influencia de las variables meteorológicas sobre el espectro polínico.

El estudio de las partículas aerovagantes en la atmósfera y de las reacciones alérgicas ha de pasar por el perfecto conocimiento de los diferentes aeroalergenos, ya que son una parte fundamental de las enfermedades atópicas. En esta línea, el segundo capítulo realiza un análisis de los diferentes alergenos que posee el polen de cinco especies vegetales reconocidas como potencialmente peligrosas en el área Mediterránea, su biología y su comportamiento en la atmósfera, para determinar la calidad del aire en

esta ciudad y el por qué de las sintomatologías que sufren los pacientes aquejados de polinosis.

Así mismo, e intentando no olvidar otros aspectos importantes, en el último capítulo se abordan temas específicos como las reacciones alérgicas, su incidencia en la población atópica y el importante papel que juega las concentraciones polínicas y alergénicas consideradas como agentes etiológicos del asma bronquial y rinitis alérgica.

Para el análisis, interpretación y exposición de los datos, en este trabajo se ha necesitado el uso y manejo de varios programas informáticos:

- *Access XP* para el almacenado y análisis de los registros polínicos y meteorológicos.
- *Excell XP* como hoja de cálculo y soporte gráfico.
- *SPSS v 14.0*, análisis estadístico de las series numéricas.
- *Arc GIS v 8.0*, generación de mapas de vegetación actual, procesamiento y análisis geográfico de la polinosis en la provincia de Granada.
- *Ascent Software v 2.6* (Multiskan Ex, Thermo Labsystems) para la lectura de las absorbancias obtenidas con la Técnica ELISA *indirecto*.
- *Table Curve 2D v 5.1*, ajuste de las curvas patrón.
- *dBASE IV*, almacenamiento y gestión de los datos procedentes de la Unidad de Alergología e Inmunología Pediátrica, Hospital Materno-Infantil.
- *WordPerfect XP* como procesador de texto.

CAPÍTULO PRIMERO

*EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES  
POLÍNICAS*



## ÍNDICE

1.1. INTRODUCCIÓN.....	13
1.1.1. AEROBIOLOGÍA COMO CIENCIA.....	17
1.1.2. ESTACIÓN DE CONTROL AEROBIOLÓGICO DE GRANADA.....	24
1.1.3. AEROBIOLOGÍA APLICADA.....	26
1.1.4. METODOLOGÍA AEROBIOLÓGICA.....	29
1.1.5. MORFOLOGÍA POLÍNICA.....	32
1.1.6. PROCESOS AEROBIOLÓGICOS.....	36
1.1.7. FACTORES QUE AFECTAN A LAS CONCENTRACIONES POLÍNICAS EN EL AIRE.....	38
1.2. ÁREA DE ESTUDIO.....	43
1.2.1. LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA.....	45
1.2.2. BIOGEOGRAFÍA.....	46
1.2.3. BIOCLIMA.....	46
1.2.4. PAISAJE VEGETAL.....	47
1.3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	53
1.4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	57
1.4.1. MUESTREO.....	59
1.4.2. ANÁLISIS CUALITATIVO.....	61
1.4.3. ANÁLISIS CUANTITATIVO.....	62
1.4.4. ESTUDIO POLÍNICO AL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO....	63
1.4.5. PRESENTACIÓN DE LOS DATOS.....	65
1.5. RESULTADOS.....	69
1.5.1. VARIABLES METEOROLÓGICAS DURANTE EL PERIODO DE ESTUDIO .	71
1.5.2. ESPECTRO POLÍNICO DE GRANADA.....	83
1.6. DISCUSIÓN.....	111
1.7. CONCLUSIONES.....	123





## **1.1. INTRODUCCIÓN**



### 1.1.1. AEROBIOLOGÍA COMO CIENCIA

#### Antecedentes históricos

Las primeras referencias históricas que legitiman la relación del ser humano con la palinología indican que, tanto babilonios como asirios conocían la bisexualidad de la palmera datilera, polinizando ellos mismos las flores de los pies de planta femeninos. En el antiguo Egipto, el documento médico recientemente encontrado *Papyrus Ebers* (1550 a.C.) refleja todo el saber de la época, aunque las interpretaciones de los procesos biológicos eran plenamente fantasiosos. Aristóteles (384-323 a.C.), uno de los más grandes filósofos de la Antigüedad Clásica, precursor de la anatomía y la biología, confirmó que por el aire se dispersaban partículas que desencadenaban enfermedades pero que además participaban en los mecanismos de reproducción vegetal.

Tuvieron que pasar más de trece siglos, desde que los griegos manifestaran su interés por el grano de polen y su relación con las enfermedades respiratorias, para que de nuevo en las reseñas históricas (S. X) se encontrara alguna referencia al polen, sus mecanismos de propagación y su relación con los procesos alérgicos, observándose, ya por entonces, que éstos tenían carácter estacional y que eran más frecuentes durante la primavera. Después de otro vacío histórico, la referencia a la palinología y a la sexualidad de las plantas, nos conduce hasta Monardi (1462-1536) que manifiesta su interés por los estambres y su papel en la reproducción de las plantas. En la segunda mitad del siglo XVII el uso generalizado del microscopio y su aplicación al estudio de las estructuras vegetales permitió a Marcello Malpighi (1628-1694) y a Nehemiah Grew (1628-1711) publicar sendos tratados de anatomía vegetal donde describieron minuciosamente todos los órganos de las plantas, incluidos los reproductores, dando a conocer distintas estructuras morfológicas de los granos de polen. En 1694 Rudolf Jacob Camerarius publicó los resultados de sus experimentos, donde señalaba que sin la participación del polen no se producen los frutos; siendo por ello el descubridor de la sexualidad en los vegetales, lo que supuso una prueba concluyente sobre la unidad de comportamiento entre animales y plantas. Años más tarde Koelreuter dedujo que existían plantas que dispersaban el polen por el viento, a las que llamó “anemófilas”, y otras que lo hacían gracias a los animales, denominándolas “entomófilas”.

En el segundo tercio del siglo XIX, Bauer (1758-1840) y Purkinje (1787-1869) aportaron conocimientos de indudable valor en la Taxonomía polínica actual, ya que teniendo en cuenta caracteres taxonómicos como la morfología, simetría, ornamentación, dimensión, etc., realizaron distintas clasificaciones polínicas.

### **La Aerobiología en el siglo XX y XXI**

Durante los últimos 100 años, la Aerobiología ha ido incorporando nuevas tecnologías que han mejorado y simplificado el estudio y análisis del grano de polen. Estos avances han aportado una cantidad ingente de datos que han ayudado a incrementar los conocimientos en esta materia y que han estimulado el desarrollo de la Aerobiología como Ciencia, habiéndose producido un gran paso cualitativo durante las dos últimas décadas.

En los inicios del siglo XX empezaron a desarrollarse los primeros sistemas de recogida de polen de la atmósfera; los más simples eran portaobjetos o filtros de algodón estratégicamente situados para la captación de partículas aéreas aunque los inconvenientes de estos rudimentarios sistemas eran numerosos. Esto provocó que Miquel (1850-1922) diseñase el primer prototipo de captador volumétrico; sus observaciones fueron de gran importancia en el conocimiento de los procesos aerobiológicos ya que por primera vez se señala que la lluvia ejerce un efecto negativo realizando un lavado atmosférico de partículas en ella suspendidas, o que los registros polínicos no son continuos en el tiempo, sino que presentan niveles más elevados en determinadas épocas del año o incluso a lo largo del día, quedando patente la existencia de ciclos circadianos en la emisión de polen.

Los avances en el campo de la Medicina para la enfermedad alérgica determinaron la gran importancia del contenido de polen en la atmósfera y sus variaciones estacionales a lo largo del año, surgiendo, en este momento, la disciplina Científica conocida como Aerobiología, término acuñado por el patólogo vegetal Meier como la Ciencia que se ocupa del estudio de los granos de polen, esporas de hongos y bacterias contenidas en la atmósfera (Hyde, 1952). En ese mismo año, Hirst (1952) diseñó un captador volumétrico que permitía conocer las oscilaciones horarias y diarias de las partículas biológicas contenidas en el aire. Al poco tiempo, Erdtman (1952, 1966, 1969) y Faegri (1956) publicaron sendos trabajos sobre morfología polínica y metodología aerobiológica, líneas

que actualmente continúan desarrollándose favorecidas por los avances bioquímicos y médicos.

La Aeropalinología se desliga del concepto general de Aerobiología como resultado de la definición dada por Hyde en 1952, quien la define como la línea de investigación que centra sus estudios en las concentraciones de polen y esporas de la atmósfera, fundamentalmente con objeto de prevenir y apoyar a la Medicina en el campo de las alergias. Una de las figuras más destacables en la década de los 70 fue Gregory quien dio una perspectiva nueva a la Aerobiología, definiéndola como la Ciencia que se encarga del estudio de toda partícula, viable o no viable, transportada pasivamente por el viento (Gregory, 1973). De esta forma, la definición dada por Meier quedó obsoleta, ampliándose el espectro de partículas incluidas en estos estudios y teniendo en cuenta la interacción de los factores meteorológicos sobre éstas. Aún así, no tardó mucho en llegar la definición admitida en la actualidad, y dada por Pathirane (1975), quien la describe como la Ciencia que se ocupa del estudio de la liberación, retención, dispersión, transporte, deposición e incidencia atmosférica de granos de polen, esporas y otros microorganismos aerovagantes.

Posteriormente, autores como R. Leuschner, G. Boehm, M. D. Lebowitz y M. K. O'Rourke amplían esta definición para incluir a las partículas no bióticas presentes en la atmósfera (Lebowitz & O'Rourke, 1991; Spieksma, 1992).

Durante el primer Congreso Mundial de Fitopatología, celebrado en Londres en 1968, se decide incluir a la Aerobiología como una de las disciplinas del Programa Internacional de Biología (IBP) y años después, 1974, adquiere identidad propia fundándose la Asociación Internacional de Aerobiología (IAA), donde entraron a formar parte todos los investigadores que centraban sus estudios en este campo. Dicha asociación se reúne cada cuatro años para discutir los resultados de sus trabajos aerobiológicos, siendo durante la celebración del Tercer Congreso Internacional (Suiza, 1986), cuando se crearon la European Aeroallergen Network (EAN)/ European Pollen Information (EPI) encargadas de difundir y divulgar la información aerobiológica de más de 400 estaciones de muestreo distribuidas por 28 países de Europa. La sede de la red europea de información está ubicada en HNO-Klinik de la Universidad de Viena (Austria) y su principal misión es la de actualizar el banco de datos europeo y facilitar el intercambio de información entre los científicos, fundamentalmente aerobiólogos de los países miembros, con el fin de calcular

tendencias en la distribución del polen mediante la aplicación de análisis estadísticos (Galán, 1998). La EPI centra su actividad en difundir la información polínica actual y previsiones a través de Internet y canales de televisión europeos vía satélite representando los niveles de polen con mapas de distribución (Jäger & Mandrioli, 1993).

La Aerobiología en España comenzó a principios del siglo XX con un primer trabajo sobre la atmósfera de Madrid en 1921 (Chaparro, 1991) y un segundo sobre la ciudad de Santander en 1924 donde se relacionaban los conidios de hongos presentes en la atmósfera con los procesos alérgicos (Jiménez Díaz, 1932). En la década de los 30 comenzó a estudiarse la biocontaminación de la atmósfera de Barcelona (Darder & Duran, 1936) aunque no fue hasta los años 40-50 cuando se pasa de hacer investigación estrictamente descriptiva a investigación analítico-explicativa, tratando de esclarecer las causas que originan el contenido de polen atmosférico con respecto a los parámetros meteorológicos y a la incidencia alérgica (Barrios, 1942; Montserrat, 1951; Surinyach *et al.*, 1956; Pla-Dalmau, 1958). Sin embargo, el verdadero auge de la Aerobiología como Ciencia en España tiene lugar a partir de la década de los 80 donde, tanto biólogos como médicos, comenzaron a realizar estudios sobre las partículas aerovagantes gracias al notable incremento de estaciones de control aerobiológico en todo el país. Entre los trabajos realizados destacan los de Andalucía (Candau *et al.*, 1981; Domínguez *et al.*, 1984; Gálvez & Ubera, 1985; Galán, 1987; Infante, 1987), Madrid (Subiza, 1980; Sáenz *et al.*, 1983), Cataluña (Suárez Cervera & Seoane Camba, 1983a; Belmonte, 1985; Martín, 1988; Belmonte, 1988), Valencia (Cambón, 1983), Navarra y País Vasco (Pérez de Zabalza & Álvarez, 1983; Echarri Prim *et al.*, 1986), Castilla León (Linares *et al.*, 1982), Galicia (Iglesias *et al.*, 1988) o Aragón (Portillo, 1988).

En 1992, tras una reunión celebrada en Zuheros (Córdoba) donde participaron numerosos grupos de investigación en el campo de la Aerobiología, se creó la Red Española de Aerobiología (REA), que integró todas las estaciones de monitorizaje activas en ese momento. Su principal objetivo fue coordinar los distintos centros de control y crear una base de datos aerobiológicos común para su difusión a los colectivos interesados. A partir de entonces y hasta la actualidad la REA cuenta con más de 54 puntos de muestreo repartidos por toda la Península y hoy en día es la red de información aerobiológica más importante de España. Cada estación se gestiona independientemente, pero sigue una metodología estandarizada y los resultados se envían semanalmente a la sede de dicha Red

ubicada en la Universidad de Córdoba. Desde entonces, REA está integrada en las Redes Europeas “EAN/EPI” contribuyendo semanalmente a actualizar el banco de datos europeo y facilitando el cálculo de tendencias y distribución espacial del polen mediante la elaboración de mapas.

Paralelamente a REA, se creó la Red Andaluza de Aerobiología (RAA), de la que forman parte las unidades de Aerobiología de las ocho Universidades andaluzas.

La incorporación de nuevas tecnologías en el ámbito de la información ha permitido que en la última década la difusión de las concentraciones polínicas diarias de cualquier punto de la Península Ibérica y del resto del mundo se haga de forma rápida y casi instantánea. Las Asociaciones y Redes nacionales e internacionales de Aerobiología, así como las distintas estaciones de control disponen de páginas Web en las que pueden consultarse los datos polínicos o fúngicos, así como la información relacionada con los procesos alérgicos. Algunas de las direcciones más importantes son:

---

## Nacionales

- REA. Red Española de Aerobiología  
[www.uco.es/miscelaneo/rea/index.html](http://www.uco.es/miscelaneo/rea/index.html)
- Aerobiología de Andalucía Oriental (Granada, Jaén, Almería y Motril)  
<http://www.ugr.es/~aerobio/>
- Aerobiología en la Universidad de Málaga  
<http://www.uma.es/Estudios/Departamentos/BiolVeg/02Aer/00HAer/01Aer.html>
- Aerobiología en la Universidad de León  
[http://www3.unileon.es/dp/dbv/web\\_aero/index.htm](http://www3.unileon.es/dp/dbv/web_aero/index.htm)
- RGA Red Gallega de Aerobiología  
<http://www.usc.es/aerobio/>
- Aerobiología en la Universidad de Vigo (Ourense)  
<http://webs.uvigo.es/aero/>
- Aerobiología en la Comunidad Valenciana  
<http://www.valencia.es/polen>



- LAP Laboratori d'Anàlisi Palinològiques UAM (Universitat Autònoma de Barcelona)  
<http://lap.uab.cat/>
  - Red Palinológica de la Universidad de Madrid  
<http://www.madrid.org/polen/>
  - AEA Asociación Española de Aerobiología  
<http://www.aea.uma.es/>
  - AEM Asociación Española de Micología  
<http://www.reviberoammicol.com/AEM/>
  - APLE Asociación de Palinólogos de Lengua Española  
<http://aple.usal.es/>
  - Comité de Aerobiología de la SEAIC  
<http://www.polenes.com/>
- 

## **Internacionales**

- IAA International Association for Aerobiology (Asociación Internacional de Aerobiología)  
<http://www.isao.bo.cnr.it/aerobio/iaa/index.html>
- EAN European Aeroallergen Network (Universidad de Viena)  
<http://www.univie.ac.at/ean/>
- European Pollen Information  
<http://www.polleninfo.org/>
- NPARU National Pollen and Aerobiology Research Unit. University of Worcester. UK  
<http://www.pollenuk.co.uk/>
- AIA Associazione Italiana di Aerobiologia  
<http://www.isao.bo.cnr.it/%7Eaerobio/aia/index.html>
- PAAA Pan-American Aerobiology Association  
<http://paaa.org/>
- Aerobiologian yksikkö (Finlandia)  
<http://www.sci.utu.fi/biologia/aerobiologia.html>

- Witamy w Serwisie Alergologicznym (Polonia)  
<http://www.alergen.info.pl/>
  - Palynologiska laboratoriet (Laboratorio Sueco de Palinología)  
<http://www.nrm.se>
- 

### **Publicaciones relacionadas con la Aerobiología**

- Revista de la REA (Red Española de Aerobiología)  
<http://www.uco.es/investiga/grupos/rea/publica1.htm>
  - Revista Iberoamericana de Micología  
<http://www.reviberoammicol.com/2006-23/issue4sp.shtml>
  - Aerobiologia (Journal Springer)  
<http://www.springerlink.com/content/1573-3025/>
  - International Journal of Biometeorology (Journal Springer)  
<http://www.springerlink.com/content/1432-1254/>
  - Grana (Journal Taylor & Francis)  
<http://www.tandf.co.uk/journals/titles/00173134.asp>
  - Allergy (Blackwell Publishing)  
<http://www.blackwellpublishing.com/journal.asp?ref=0105-4538&site=1>
  - Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology  
<http://www.jiacci.org/>
- 

### **Enlaces relacionados con la Alergia**

- AAAAI American Academy of Allergy Asthma and Immunology  
<http://www.aaaai.org/>
- SEAIC Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica  
<http://www.seaic.org/index.php>
- Respirar - To Breathe. El portal del asma en niños y adolescentes  
<http://www.respirar.org/>

- GEMA Guía Española para el Manejo del Asma  
<http://www.respirar.org/>
- La casa del alérgico  
<http://www.lacasadelalergico.com/frontend/lacasadelalergico/base.php>
- Allernet  
<http://www.allernet.com/>
- AllAllergy  
<http://www.allallergy.net/>
- Página FAQ sobre asma y alergia  
[Allergy and Asthma FAQ Page](#)

### **1.1.2. ESTACIÓN DE CONTROL AEROBIOLÓGICO DE GRANADA**

La unidad de monitorizaje de la Universidad de Granada comenzó en el Departamento de Biología Vegetal en el año 1989. Esta estación de control aerobiológico surge ante la necesidad de conocer cuáles son las partículas biológicas que afectan a un número considerable de personas alérgicas en las distintas épocas del año, de esta forma se realizan trabajos puntuales y fundamentalmente descriptivos (Fernández *et al.*, 1990; Díaz de la Guardia *et al.*, 1991; Fernández, 1991). La integración de la unidad de Granada en la Red Española de Aerobiología y Red Andaluza de Aerobiología en 1992 supuso la consolidación de este grupo de trabajo que desde sus inicios se fundó con el propósito de generar información aerobiológica útil para ser difundida en los medios de comunicación, que permitiese realizar análisis comparativos con otras estaciones aerobiológicas y, sobre todo, con la intención de continuar trabajando en investigación básica para ir incorporando progresivamente conocimientos de otras disciplinas que permitiese desarrollar investigación aplicada en el ámbito de la salud pública, medio ambiente, etc.

El Grupo de Aerobiología de la Universidad de Granada asume, en 1993, la responsabilidad de instalar una nueva estación de control aerobiológico en la ciudad de Jaén, ubicándose en la terraza de la Facultad de Ciencias (Universidad de Jaén). Desde ese año esta nueva estación de muestreo ha continuado siendo operativa, realizando análisis exhaustivos de la atmósfera en esta provincia.

Para cubrir la totalidad del territorio andaluz, y ante la necesidad de seguir ampliando el número de estaciones de muestreo, en 1997, y bajo la supervisión del Centro de Aerobiología de Granada, se instala un nuevo captador en la ciudad de Almería, ubicándose en la terraza del Hospital Virgen del Mar.

Con intención de caracterizar el contenido aeropolínico de las distintas comarcas que integran la provincia de Granada, hacia finales del año 2002 se instala una nueva estación de control aerobiológico en la ciudad de Motril. El captador fue proporcionado por la Consejería de Educación y Ciencia (Junta de Andalucía) y se ubicó en la terraza del Hospital Comarcal Santa Ana. Con este nuevo muestreador queda cubierta la franja litoral granadina que junto con la estación de Almería dan idea de la diversidad polínica y fúngica del litoral de la mitad oriental de Andalucía y su incidencia sobre la población.

En cuanto a los distintas líneas de investigación que se han desarrollado en el seno de este grupo de trabajo, destacan los estudios encaminados a describir el espectro polínico de determinadas localidades (Alba *et al.*, 1996; Alba *et al.*, 1997; Ruiz *et al.*, 1998; Alba *et al.*, 2003; Díaz de la Guardia *et al.*, 2003); contenido fúngico (Sabariego *et al.*, 1999; Sabariego *et al.*, 2000; Alba *et al.*, 2003; Sabariego *et al.*, 2004); investigación analítica y explicativa del comportamiento aerobiológico de especies como *Olea* (Díaz de la Guardia *et al.*, 1993; Ruiz, *et al.*, 1998; Díaz de la Guardia *et al.*, 2000; Alba *et al.*, 2000; Díaz de la Guardia *et al.*, 2003; Galán *et al.*, 2005), *Poaceae* (Díaz de la Guardia *et al.*, 1992; Díaz de la Guardia *et al.*, 1994; Díaz de la Guardia *et al.*, 1995; Fernández González *et al.*, 2000), *Urticaceae* (Díaz de la Guardia, 1995; Díaz de la Guardia *et al.*, 1998), *Cupressaceae* (Belmonte *et al.*, 2000; Díaz de la Guardia *et al.*, 2006), *Platanus* (Alba *et al.*, 1998; Díaz de la Guardia *et al.*, 2000), *Chenopodiaceae* (Sabariego *et al.*, 2003), *Plantago* (Díaz de la Guardia, 1995); estudios sobre la población atópica (Díaz de la Guardia *et al.*, 1991; Díaz de la Guardia & Valle, 1993; Mérida Morales *et al.*, 2003); modelos de estimación de series numéricas espaciales y/o temporales mediante sistemas neuronales, SIG y métodos geostadísticos (Díaz de la Guardia *et al.*, 2003; Alba *et al.*, 2006; Aznarte *et al.*, 2007); fenología (García-Mozo *et al.*, 2002;) y la recientemente incorporada línea de trabajo sobre la actividad alérgica en la atmósfera (De Linares *et al.*, 2007). Todos estos trabajos se han manifestado además en el desarrollo de distintas Tesis Doctorales, Memorias de Licenciaturas y Diplomas de Estudios Avanzados (Alba, 1997; Sabariego, 1997; De Pablos, 2000; Ruiz Valenzuela; 2001; De Linares, 2002; Sabariego, 2003; Nieto Lugilde,

2004). Además, de generar datos aerobiológicos y su interpretación de las ciudades de Granada, Almería y Jaén que con periodicidad anual son publicados en el *Boletín de la Red Española de Aerobiología (REA)*. Por último, a tenor de los avances informáticos y la demanda de información polínica por parte de la población, el Centro de Aerobiología de la Universidad de Granada posee una página Web “*Aerobiología de Andalucía Oriental: Granada, Jaén, Almería y Motril*”: <http://www.ugr.es/~aerobio/> donde semanalmente se integran los datos procedentes de los cuatro captadores de Andalucía oriental y previsiones a corto plazo. Además existe información complementaria por provincias como calendarios polínicos, vegetación natural, cultivada y ornamental alergógena, así como una dirección electrónica donde las personas que lo deseen pueden expresar sus opiniones o consultas aerobiológicas.

### **1.1.3. AEROBIOLOGÍA APLICADA**

En la actualidad son varios los campos de investigación donde la Aerobiología representa un papel de vital importancia. Durante muchos años estuvo únicamente ligada a la Medicina, por ser numerosas las partículas biológicas que desencadenaban procesos alérgicos; sin embargo, en las últimas décadas se ha vinculado con un amplio abanico de disciplinas científicas.

#### **Medicina**

Sin lugar a dudas, la aplicación más importante de la Aerobiología es la relacionada con la alergia. Los efectos que producen en la población las concentraciones aéreas de ciertas partículas biológicas, granos de polen o esporas, son bien conocidas. Más adelante, en el apartado dedicado a polinosis (Capítulo Tercero), se comentará que una de las principales causas de rinitis alérgica es el polen. Sin embargo, en los últimos años se ha venido detectando numerosos problemas relacionados con las esporas de hongos, sobre todo en personas que viven o trabajan en edificios inteligentes que padecen el llamado “síndrome del edificio enfermo” (Berenguer Subils, 1999) en los que la renovación de aire es escasa o nula (Comtois & Marcoux, 1999; Singh & Singh, 1999). La información sobre el contenido de las partículas que son susceptibles de producir fenómenos alérgicos en la

población es muy importante para las personas que padecen esta enfermedad, así como para los médicos implicados en esta materia.

## **Agricultura**

La Aerobiología también ha derivado sus estudios hacia la Agricultura, centrando sus líneas de actuación en varios aspectos: a) estudios fenológicos, b) malherbología, c) control de plagas fúngicas y d) previsión de cosechas. Con respecto a la fenología, son numerosos los trabajos realizados encaminados a predecir las particularidades de la estación polínica como inicio de la misma, severidad o concentración de polen puntual, etc. (Larsson & Nilsson, 1991; Galán *et al.*, 1998). En el campo de la fitopatología, numerosos trabajos relacionan las concentraciones de esporas en la atmósfera con las enfermedades fúngicas en comunidades vegetales, mientras que en malherbología se utiliza el polen para controlar la maleza sobre cultivos (Díaz *et al.*, 1997; Burt *et al.*, 1998; Isard & Cage, 2001; Isard & Ariatti, 2004). En el ámbito de la predicción de cosechas la Aerobiología es fundamental, ya que el rendimiento agrícola está fielmente regulado por la producción de polen en periodos previos, por lo que su conocimiento puede ayudar a planificar la política de mercado y subvenciones al agricultor (Cour & Van Campo, 1980; González Minero *et al.*, 1998; Fornaciari *et al.*, 2002; Galán *et al.*, 2003).

## **Cambio climático**

Del estudio del polen fósil se ha aprendido que la historia biológica y climática tiene poco de predecible y casi nada de gradual y uniforme. Los cambios globales no se han desarrollado de forma progresiva en los sistemas biológicos, ni han afectado de forma análoga a todos los ecosistemas. El análisis de la lluvia polínica se revela como un método de reconstrucción de la vegetación, ya que las concentraciones de polen en aire y sedimentos son una representación microscópica del paisaje vegetal (Carrión & Díez, 2004). Conocer cómo han respondido las plantas al cambio ambiental en el pasado puede proporcionar información valiosa a la hora de prever cuál podría ser la respuesta de la vegetación ante los nuevos escenarios climáticos que se avecinan, aunque todo parece indicar que la respuesta es impredecible

No obstante, algunos investigadores han constatado que el ciclo de vida de las especies vegetales puede verse influenciado por el llamado calentamiento global de la atmósfera, el

cual induciría el adelantamiento de la floración de algunas especies vegetales, lo que quedaría reflejado de forma directa en la secuencia del espectro polínico (Emberlin *et al.*, 1997; Jäger *et al.*, 1996; García Mozo *et al.*, 2003).

Las fases fenológicas que se desarrollan en primavera como el inicio de la polinación o floración completa son las que progresivamente van sucediendo de forma más temprana. Este anticipo es claramente evidente en Europa, siendo más patente en especies de floración primaveral y en plantas anuales que en perennes (Fitter & Fitter, 2002).

### **Contaminación atmosférica**

En cuanto al medio ambiente, son numerosos los trabajos que coinciden en señalar a los granos de polen y a las esporas como contaminantes biológicos (Cariñanos *et al.*, 1998). Las relaciones entre estas partículas y los contaminantes atmosféricos han sido ampliamente estudiadas (Emberlin, 1997; Alba *et al.*, 2003; Chehregani *et al.*, 2004; Schoene *et al.*, 2004).

### **Biodeterioro**

Las partículas biológicas presentes en el aire, también pueden ocasionar daños en caso de que éstas germinen en materiales del Patrimonio Histórico-Cultural, provocando el llamado biodeterioro. Este problema es especialmente preocupante cuando el elemento dañado es de carácter irrecuperable. En este sentido, existe un nutrido número de estudios que señalan esta problemática y reivindican una protección especial para la herencia cultural (Pethuskova & Kandyba, 1999; Pitzurra *et al.*, 1999; Mandrioli *et al.*, 2003).

### **Palinología forense**

La botánica forense en general y la palinología forense en particular son disciplinas que estudian los restos de tejidos vegetales o partículas de polen en relación con la investigación criminal y civil. La validez de la palinología forense como herramienta generadora de evidencias para resolver crímenes ha sido subestimada en el pasado y actualmente es utilizada como el último recurso disponible, cuando otras técnicas investigadoras han fallado en proveer una solución y se tiene que acudir a los restos microscópicos adheridos a la víctima y/o su homicida (Bryant & Jones, 2006).

La aplicación de la aeropalinología en la investigación criminalística se debe a que al ser partículas aerotransportadas pueden alcanzar casi cualquier objeto, al cual se adhieren, y en donde permanecen inalteradas por muchos años gracias a la exina. En el ser humano, el polen es encontrado frecuentemente en el pelo, piel, ropa y zapatos, y en la escena del crimen puede ser recuperado del suelo, polvo, barro, basura, sogas, y prácticamente cualquier objeto encontrado en las inmediaciones. Debido a que la vegetación varía geográficamente en su composición, una combinación de polen o esporas particular encontrada en una persona, víctima u objeto será indicativa de una localidad geográfica específica. En este sentido, las plantas de distribución más restringida serán las de mayor utilidad. La fenología de cada taxon, es otro dato a tener en cuenta, ya que esclarece la época del año en que ocurrió la deposición de partículas. Gracias a estas peculiaridades del polen, son cada vez más los casos resueltos con ayuda de la palinología forense (Mildenhall, 2006; Emberlin *et al.*, 2006).

#### **1.1.4. METODOLOGÍA AEROBIOLÓGICA**

Los distintos métodos de muestreo que se han desarrollado en el ámbito de la Aerobiología están basados en principios físicos, tales como la impactación, succión, filtración, precipitación electrostática o precipitación y la deposición gravitacional (Mandrioli *et al.*, 1998).

Cada uno de los muestreadores presenta una serie de características que los hace específicos a la hora de elegir el método más adecuado para el tipo de partículas y análisis que se quiera realizar. Los métodos de captación deben satisfacer los objetivos del programa de muestreo, ser eficientes en la captación de partículas y compatibles con los conteos requeridos y los métodos analíticos. En la actualidad no existe un prototipo eficaz con un amplio espectro de partículas aerovagantes y análisis específicos, por lo que cada parcela de la Aerobiología ha desarrollado métodos de muestreo propios (Mandrioli *et al.*, 1998).



### **Método de deposición gravitacional**

Se trata del método más simple y está basado en la existencia de una superficie horizontal sobre la cual se depositan las partículas por efecto de la gravedad, siendo retenidas en la superficie gracias a un adhesivo. La eficacia de este captador varía de manera muy significativa en función del tamaño de las partículas, velocidad y dirección del viento o turbulencias atmosféricas, e incluso con las concentraciones en aire. Otra limitación es la imposibilidad de calcular el volumen de aire muestreado con lo que los datos no se pueden expresar por unidad de volumen (Lacey *et al.*, 1996). Entre los captadores de deposición gravitacional se encuentran el *Durham* y el *Tauber*.

### **Métodos de impacto**

Si la velocidad del viento es mayor que la fuerza gravitacional de caída específica para cada partícula, éstas viajarán siguiendo una trayectoria generalmente horizontal. La inercia que adquiere la partícula le confiere resistencia a cambios inesperados en la velocidad y dirección del viento. Cuando una partícula se acerca a un obstáculo, las moléculas de aire que la rodean se desvían y el flujo pasa alrededor de la partícula y obstáculo. Si la partícula tiene suficiente inercia, continuará su curso original y golpeará el obstáculo quedando impactada. La eficacia de captación de un muestreador dependerá de la velocidad del viento, características morfológicas de la partícula y tamaño del colector (Mandrioli *et al.*, 1998).

Los muestreadores de impactación universalmente más utilizados son *Rotorod* y *Rotoslide*. Éstos poseen un buen funcionamiento para muestrear pólenes pero su principal desventaja estriba en que no pueden actuar durante periodos prolongados de tiempo, por lo que normalmente operan de manera intermitente.

### **Métodos de succión**

Estos métodos se basan en la absorción del aire donde están contenidas las partículas a muestrear mediante una bomba de vacío. Para retener dichas partículas se pueden emplear varios métodos, como la filtración, impactación, precipitación térmica y electrostática e intrusión en líquido. Estos muestreadores, a menudo, están siendo utilizados para capturar partículas grandes. Entre los captadores de succión se encuentra el "*Spore trap*" de Hirst

(1952) que fue diseñado especialmente para captar esporas de hongos por unidad de tiempo y volumen. Actualmente existen modelos fabricados por *Lanzoni s.r.l* (Lanzoni VPSS 2000) y *Burkard Manufacturing Co. Ltd.* (Burkard 7-days recording) donde las partículas penetran por un orificio y son depositadas por impacto en la superficie de una cinta plástica transparente cubierta de material adhesivo. La eficacia del muestreo es aceptable, pero varía con la velocidad del viento y con el tamaño de las partículas. Entre las ventajas podemos destacar su simplicidad y que permite tener un registro continuo del contenido atmosférico.

Otro de los captadores de succión es el llamado Impactador en Cascada, siendo el tipo *Andersen* uno de los más utilizados. Este prototipo será descrito de forma detallada en el segundo capítulo de la presente Memoria de Tesis Doctoral. Del mismo modo, está muy extendido el uso del *Cyclon*, que recoge partículas con un amplio rango de tamaños, quedando el material depositado en un tubo *Eppendorf* o placa de Petri, preparado para su posterior estudio inmunológico.

### **Métodos de filtración**

El aire pasa de largo a través de una superficie porosa donde las partículas, en función de su tamaño, quedan retenidas o la atraviesan. Los filtros con una superficie tipo membrana son funcionalmente los mejores para la observación al microscopio (Mandrioli *et al.*, 1998). Entre estos captadores se encuentra el *McLeod* modificado posteriormente por Suárez Cervera y el “captador de aeroplancton” (“CAP”) diseñado por Seoane Camba y García Balsa (Suárez Cervera & Seoane Camba, 1983a, 1985). El *McLeod* es útil para el estudio de los gases contaminantes atmosféricos, pero con la adaptación realizada por Suárez Cervera y Seoane Camba obtuvieron buenos resultados en el muestreo de polen y esporas (Suárez Cervera & Seoane Camba, 1983b). El “CAP” se basa en la filtración automática del aire y filtración con filtro *Millipore*. Las muestras que se obtienen están listas para su análisis al microscopio óptico.

Otro método de captación por filtración es el ideado por Cour (Cour, 1974) cuya superficie filtradora es una gasa hidrófila impregnada con aceite de silicona. Se usan cinco capas de gasas montadas sobre un bastidor metálico que a su vez se coloca sobre un eje vertical que mediante una veleta se orienta perpendicularmente al viento. El dispositivo móvil se completa con otro inmóvil colocado horizontalmente sobre la superficie,

permitiendo capturar partículas por sedimentación. El principal inconveniente estriba en que la eficacia varía con la velocidad del viento y que no es posible conocer la variación diaria de las concentraciones polínicas.

### **Métodos de precipitación electrostática y térmica**

Ambos suelen usarse para atrapar partículas de pequeño tamaño. Mientras que en el método electrostático las partículas atrapadas son cargadas eléctricamente y atraídas hacia un electrodo de carga opuesta, en el método térmico los flujos de aire entran en el captador y las partículas son conducidas desde una superficie caliente hacia otra fría.

### **Método de intrusión líquida**

Los métodos de intrusión líquida funcionan introduciendo aire en un contenedor de agua. Cuando el aire asciende en forma de burbujas, las partículas son transferidas al medio líquido y retenidas en él. Las intrusiones líquidas han sido recomendadas para capturar organismos como microalgas, donde preservar la viabilidad de éstas es vital para desarrollar el experimento (Mandrioli *et al.*, 1998).

## **1.1.5. MORFOLOGÍA POLÍNICA**

El grano de polen o microspora de las plantas fanerógamas se origina en el saco polínico o microsporangio como consecuencia de la meiosis de las células madre del polen, siendo en el interior de estos granos donde se desarrolla el gametofito masculino.

Un grano de polen está formado por una o varias células vivas protegidas por envolturas inertes. La parte viva dará lugar a las células espermáticas (o gametos en algunas Gimnospermas) y al tubo polínico. La función de la envoltura inerte es la de proteger a la parte viva en su desplazamiento. A esta pared se le denomina esporodermis o cubierta externa y está formada por dos capas: exina e intina, diferenciadas tanto por su ontogenia, como por su morfología y composición química.

Exina: es la pared más externa del grano de polen. Constituida por esporopoleninas, macromoléculas compuestas por polímeros de carotenos oxidados y ésteres de carotenos. Son muy resistentes a la oxidación, ataque de ácidos y bases, así como a temperaturas

superiores a 300°C. Esta capa ha sido diferenciada según criterios ontogénicos y químico-físicos en endexina y ectexina (Faegri & Iversen, 1975). La endexina (FIG. 1.1), tiene estructura lisa y homogénea, excepto en la parte apertural donde puede existir engrosamientos. La ectexina es la capa más externa formada a su vez por tres capas: téctum, infratéctum y capa basal.

Siguiendo criterios morfológico Erdtman (1969) divide a la cubierta del grano de polen en: intina y exina, ésta última la subdivide en sexina y nexina (FIG. 1.1). Según la morfología de la sexina el polen puede presentar perforaciones (espacios con y sin téctum), depresiones tectales o hendiduras más largas que anchas, denominándose al polen perforado, foveolado o fosulado, respectivamente.

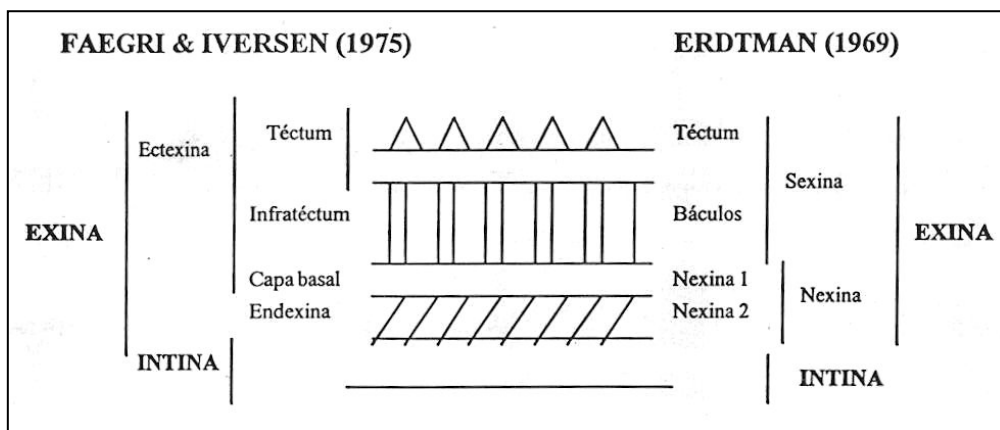


FIG. 1.1. Estructura de la cubierta del grano de polen: atendiendo a criterios ontogénicos y físico-químicos (Faegri & Iversen, 1975) o morfológicos (Erdtman, 1969).

Cuando el téctum es liso se habla de psilado, estriado cuando presenta estrías, rugulado si posee elementos irregulares, e insulado si éstos se reúnen en grupos aislados.

En los granos de polen tectados o intectados también pueden aparecer elementos ornamentales (FIG. 1.2).

Intina: es la pared más interna del grano de polen que suele ser delicada y químicamente poco resistente. Contiene celulosa, proteínas, glucoproteínas y enzimas que son consideradas, en muchas ocasiones, tanto responsables de las reacciones alérgicas como de la autoincompatibilidad entre los vegetales (Márquez *et al.*, 1997).

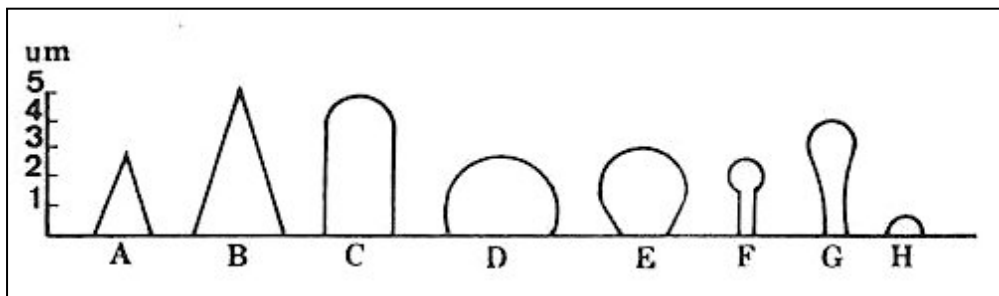


FIG. 1.2. Elementos esculturales del polen: (A) espínula, (B) espina, (C) báculo, (D) verruga, (E) gema, (F) filo, (G) clava, (H) gránulo.

La formación del grano en tétradas hace posible que se diferencie una zona proximal (la más cercana al centro de la tétrada) y una zona distal (la más alejada de ésta). Al centro de cada una de estas zonas se les denominan polo. La línea imaginaria que los une se llama eje Polar (P) y eje Ecuatorial (E) al perpendicular a éste. La relación entre ambos ejes (P/E) es imprescindible para determinar la forma del grano de polen (Erdtman, 1969).

P/E ( $\mu\text{m}$ )	
< 0,50	Peroblado
0,50 – 0,75	Oblado
0,75 – 0,88	Suboblado
0,88 – 1,00	Oblado-esferoidal
1,00	Esferoidal
1,00 – 1,14	Prolado-esferoidal
1,14 – 1,33	Subprolado
1,33 – 2,00	Prolado
>2,00	Perprolado

El tamaño del polen se define por las longitudes de sus ejes polar y ecuatorial. Atendiendo al eje de mayor de longitud se diferencian los siguientes tipos (Erdtman, l.c.).

P ( $\mu\text{m}$ )	
< 10	Muy pequeño
10 - 25	Pequeño
25 - 50	Mediano
50 - 100	Grande
100 - 200	Muy grande
> 200	Gigante

La simetría viene determinada por la distribución de las aperturas germinativas, pudiendo ser simétricos (si existe algún plano de simetría), o asimétricos (si no lo tienen). A su vez los granos de polen pueden ser isopolares, heteropolares o apolares.

Las aperturas son áreas delgadas de la pared del polen a través de las cuales sale el tubo polínico en el momento de la germinación. Además permiten el cambio de volumen de los granos de polen como respuesta a variaciones de humedad (harmomegatia). En función de su forma se denominan colpos si son alargados, poros si la relación longitud/anchura es menor o colporado si están compuestas por colpo y poro. Las aperturas pueden variar en función del número y de la posición. Así, según su número, pueden ser desde mono- hasta poliaperturados. Por su posición pueden disponerse por toda la superficie (panto-), en la zona ecuatorial (zono-) o en los polos denominándose (cata-) si es proximal, (ana-) si es distal o (anacata-) si presentan ambas posiciones. La combinación del número, posición y tipo de aperturas origina una gran variedad de tipos polínicos (FIG. 1.3).

	DI-		TRI-		TETRA-		PENTA-		HEXA-		POLY-	
	polar	eq	polar	eq	polar	eq	polar	eq	polar	eq	polar	eq
ZONOPORATE												
	Colchicum		Betula		←		Alnus, Ulmus		→			
ZONOCOLPATE												
			Acer		Hippuris		← Labiatae Rubiaceae		→			
ZONOCOLPORATE												
			Parnassia		Rumex		Viola		Sanguisorba		Urticaria	
PANTOPORATE												
			← Urtica		→ Plantago		→ Chenopodiaceae					
PANTOCOLPATE												
					Ranunculaceae				Spergula		Polygonum amphibium	
PANTOCOLPORATE												
					Rumex				Polygonum rau			

FIG. 1.3. Tipos de polen atendiendo al número y posición de aperturas.

## 1.1.6. PROCESOS AEROBIOLÓGICOS

### Presencia de partículas en la atmósfera

La atmósfera es un medio gaseoso e inestable que contiene un gran número de partículas en suspensión, éstas pueden ser de origen orgánico o inorgánico. Las partículas inorgánicas provienen mayoritariamente de la actividad industrial y de los productos de combustión de los vehículos (Cariñanos *et al.*, 1999), mientras que los componentes orgánicos son el resultado de algún proceso biológico en el que la atmósfera participa como medio de transporte. El medio aéreo es el que utiliza la mayoría de organismos, sobretodo esporas de hongos, granos de polen o restos de tejidos vegetales y animales (ácaros y pequeños insectos) para dispersarse ya que es energéticamente menos costoso e incrementa substancialmente la eficacia de los movimientos y la tasa de reproducción (Isard & Gage, 2001).

Durante el tiempo de permanencia en el aire, estas partículas serán transportadas a distancias más o menos largas para después sedimentar e incluso ser resuspendidas. El tiempo que se mantienen en la atmósfera viene determinado, en parte, por su tamaño, siendo éste último inversamente proporcional al tiempo de permanencia.

La presencia de los pólenes en la atmósfera se debe a una serie de factores que intervienen en su formación, liberación y subsistencia, denominados “Procesos aerobiológicos” (FIG. 1.4). La fuente de producción es el primer eslabón implicado; los granos de polen, una vez formados, son liberados al exterior y transportados hasta el estigma (Angiospermas) o primordio senival (Gimnospermas) en los espermatófitos, donde germinarán completando de este modo su función fisiológica.

Una vez que el polen se desarrolla en las anteras, pueden producirse dos fenómenos (Font Quer, 1993), polinación que será la acción y efecto de soltar el polen de las anteras y polinización que será cuando éste llegue o se haga llegar a la estructura reproductora femenina. El aerobiólogo “intercepta” al grano de polen antes de que se deposite en el órgano sexual femenino por lo que el proceso de polinización no se completa. Es por ello por lo que cuando el investigador analiza las concentraciones polínicas del aire, éstas son producto de una polinación y no de una polinización.

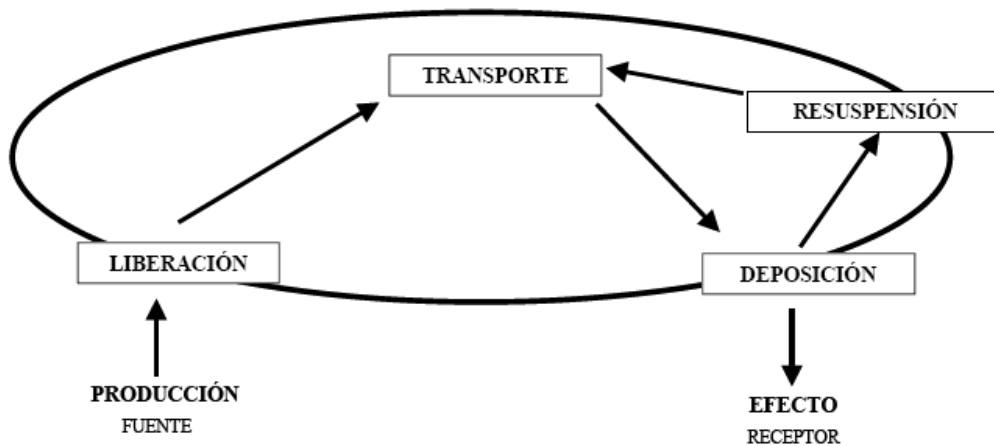


FIG. 1.4. Procesos aerobiológicos, según Spieksma (1992).

La polinización puede llevarse a cabo por distintos vectores, si es el viento se denomina anemófila, si es el agua será hidrófila, o mediante animales polinizadores recibiendo entonces el nombre de polinización zoófila; dentro de este último tipo destaca la de los insectos, llamada entomófila. Recientes estudios la han puesto demanifiesto la relación existente entre entomofilia y anemofilia produciéndose en algunas especie vegetales una combinación de ambos procesos denominándose entonces como anfifilia o ambofilia. Ésta puede haber surgido como una adaptación local o regional que varía en función de las condiciones meteorológicas y entomológicas (Culley *et al.*, 2002).

Una vez liberadas las partículas a la atmósfera, la evolución espacial y temporal que siguen viene determinada en gran medida por los factores meteorológicos, así como por la presencia/ausencia de obstáculos (orografía, valles, océanos, obras civiles, etc.) que podrían facilitar o interferir en su dispersión. Las corrientes atmosféricas facilitan el desplazamiento en altura, mientras que una topografía muy pronunciada limitará su dispersión longitudinal. Se puede diferenciar dos tipos de transporte: a) a escala local, en el que las partículas atmosféricas son depositadas en las proximidades de la fuente de producción; b) a escala regional, donde las corrientes atmosféricas provocadas por calentamiento de la superficie terrestre desempeñan un papel de vital importancia ya que permiten que las partículas asciendan a capas superiores de la atmósfera y sean desplazadas a mayor distancia (Isard & Cage, 2001).



Aunque la atmósfera es un medio inestable, la ausencia de turbulencias u otros factores pueden provocar la deposición de las partículas. Atendiendo a la causa que provoca este fenómeno, recibe el nombre “sedimentación” si ocurre por fenómenos de gravedad, afectando principalmente a las partículas de gran tamaño y/o peso; “impactación” cuando choquen contra un obstáculo, afectando fundamentalmente a partículas de tamaño medio, como es el caso del polen que llega a las vías respiratorias superiores; o “difusión” cuando éstas pueden inhalarse y exhalarse repetidas veces antes de la deposición en bronquios y bronquiolos, ocurriendo este tipo de fenómeno en partículas de tamaño muy reducido (inferior a 3  $\mu\text{m}$ ) que poseen velocidad de caída baja e inercia reducida.

Aún cuando una partícula haya sido depositada, puede volver a entrar en contacto con la atmósfera por un fenómeno de resuspensión, volviendo a permanecer en flotación por un tiempo variable, lo que explicaría en parte, la aparición de tipos polínicos en la atmósfera o muestreos fuera de su período de polinización (Mandrioli *et al.*, 1998).

### **1.1.7. FACTORES QUE AFECTAN A LAS CONCENTRACIONES POLÍNICAS EN EL AIRE**

#### **Factores meteorológicos**

Analizar de forma individualizada el efecto que produce cada parámetro meteorológico sobre el contenido de polen en aire es un error ya que todos interactúan de forma sinérgica sobre la nube polínica. La influencia de éstos varía de unos táxones a otros o incluso del estado fenológico en el que se encuentre la planta. La participación de todos estos elementos meteorológicos junto a la severidad de actuación de cada uno de ellos será decisiva para el contenido aeropolínico (Alba, 1997).

En términos generales, los parámetros meteorológicos actúan a dos niveles: a) en las etapas previas a la floración donde hay que tener en consideración tanto el periodo frío o fotoperiodo, factores decisivos para el inicio de la floración, así como la temperatura o lluvias que afectarán a la intensidad de la floración (Sánchez Mesa, 2003) y b) etapas de emisión, transporte, dispersión o deposición, donde las variables que afectan de forma más

directa son la Temperatura y la Precipitación, y en menor grado la Humedad relativa, Insolación o Viento (Bricchi *et al.*, 1992)

**TEMPERATURA:** en general ejerce un efecto positivo sobre los niveles polínicos. La temperatura interviene en todas las fenofases de las plantas, acelerando o retrasando la formación de yemas florales, antesis, emisión y dispersión del polen (Leuschner & Boehm, 1981).

La temperatura acumulada es un factor decisivo para el inicio de la floración en plantas leñosas, siendo objeto de estudio de numerosos trabajos realizados en los últimos años (Frenguelli & Bricchi, 1998; Wielgolaski, 1999; Chuine, 2000; Galán *et al.*, 2001; Vázquez, 2003). El umbral de temperatura a partir del cual la planta comienza a acumular calor depende de la zona geográfica y de sus condiciones ambientales (García-Mozo *et al.*, 2000; Jato *et al.*, 2002).

Cada especie debe alcanzar un umbral de temperatura específico para que se produzca la dehiscencia de las anteras. La antesis y emisión de polen se produce durante las horas centrales del día, coincidiendo con el aumento de las temperaturas. Un descenso brusco de las mismas provoca un retraso de la dehiscencia o impide la emisión. En los estudios de variación horaria se ha comprobado que las máximas concentraciones de polen atmosférico coinciden con la franja horaria de temperaturas más elevadas (Galán *et al.*, 1991; Recio, 1995; Alba, 1997; Alba *et al.*, 2000). Además, las temperaturas máximas favorecen los fenómenos convectivos que facilitan el transporte vertical de las partículas e incrementa la permanencia de éstas en la atmósfera (Galán *et al.*, 2000).

**PRECIPITACIÓN:** la lluvia también ejerce su influencia en las distintas fases de los procesos aerobiológicos, aunque la intensidad de ésta dependerá del estado fenológico de las plantas, del momento del día en que se registren, o de la intensidad con que éstas caigan (Alba, l.c.). Las precipitaciones registradas en fases previas a la estación polínica intensifican las concentraciones de polen. Durante las etapas de liberación o dispersión, éstas bloquean la liberación y ejercen una acción mecánica sobre las partículas aerovagantes precipitándolas al suelo, siendo el lavado atmosférico más efectivo en primavera-verano (Belmonte & Roure, 1985, Recio *et al.*, 1997; Fornaciari *et al.*, 1997). Las precipitaciones suaves y prolongadas son más eficaces que las intensas y poco duraderas (Iglesias *et al.*, 1993).

La sequía, especialmente la edáfica, es un factor que constituye un riesgo de primera magnitud en el área Mediterránea. Existen territorios en los que la precipitación no cubre la demanda evaporativa de la atmósfera, es decir, donde la precipitación es menor que la evapotranspiración potencial. En términos fisiológicos esto se traduce para la vegetación en estrés hídrico provocado por un extenso y severo periodo de escasez de agua (Alba *et al.*, 2007) En cuanto a la fenología, cada especie necesita un umbral de precipitación previa para poder iniciar su ciclo de crecimiento anual, por eso la falta de precisión de cuánto y cuándo lloverá genera incertidumbre en el comportamiento de las plantas originando patrones fenológicos muy confusos.

**INSOLACIÓN:** este parámetro está íntimamente relacionado con la temperatura y con los fotoperiodos. La ampliación del fotoperiodo está íntimamente asociada con el fin de la dormición de las plantas y con la activación de la síntesis de hormonas del crecimiento (giberelinas y citoquininas) que regulan el inicio de la floración. El incremento de la insolación favorece la presencia de aeropolen, puesto que produce una deshidratación de los tejidos, facilitando la dehiscencia (Galán *et al.*, 1995). Además Tormo *et al.*, (1996) indican que la producción polínica, número de inflorescencias y flores es proporcional a la cobertura vegetal y radiación solar atrapada por cada taxon.

**HUMEDAD RELATIVA:** Este factor favorece el desarrollo de la planta y facilita la floración, pero un incremento por encima de un umbral específico impide la dehiscencia de las anteras y disminuye los niveles de polen en el aire. Además actúa sobre la viabilidad y germinación de los granos de polen (Bassani *et al.*, 1994), siendo el rango de tolerancia de la misma muy variable entre las especies.

De forma general, cuando la humedad del aire disminuye, las paredes de la antera se deshidratan, lo que favorece su rotura y la salida de los granos de polen. La sequedad ambiental favorece la dispersión de los granos de polen, mientras que su capacidad para absorber la humedad, fenómeno conocido como “harmomegatia”, hace que se vuelvan más pesados y sedimenten (Emberlin, 1994).

**VIENTO:** es indiscutible que el viento es un factor primordial para que las partículas sean aerotransportadas alejándolas de su fuente de emisión y depositándolas en lugares apartados, no obstante el estudio de las relaciones entre ambos parámetros y su interpretación mediante análisis matemáticos es, a menudo, bastante complejo. Para

acometer el estudio de esta variable debemos desmembrarla en sus dos principales componentes, dirección y velocidad.

La dirección juega un papel primordial y tiene una clara influencia sobre la composición polínica recogida en las muestras aerobiológicas. Una comunidad vegetal situada en el recorrido del viento dominante, provocará una nube polínica compuesta por partículas provenientes de la misma. Los táxones que no se hallen en el recorrido del viento estarán infrarrepresentados en tanto en cuanto domine una dirección concreta.

Con respecto a la velocidad, si es fuerte se produce una dilución del contenido polínico, por lo que la eficacia de recogida se reduce, pero si es excesivamente baja, no balancea las anteras e impide que éstas liberen el polen, por lo que la dispersión polínica se ralentiza (Bricchi *et al.*, 1992). Por otra parte, el viento favorece la reflatación del polen ya sedimentado, incorporando a la atmósfera tipos polínicos que ya han finalizado su periodo de polinización, lo que en determinadas ocasiones se traduce en un periodo postpico muy prolongado.

## **Fenología**

La fenología es el estudio de los fenómenos biológicos que se repiten periódicamente en el tiempo, de los factores bióticos y abióticos que los causan, y la interrelación entre estos fenómenos en la misma o varias especies (Lieth, 1974).

Fenología y Aerobiología han evolucionado de forma paralela en los últimos años ya que el inicio de la floración registrados por medio de la producción polínica pueden ser usados en la predicción de la cosecha (González Minero *et al.*, 1998; Fornaciari *et al.*, 2002) o en la elaboración de mapas espacio-temporales de floración y emisión polínica de especies anemófilas (Hidalgo *et al.*, 2002; Alba *et al.*, 2006).

## **Flora y Vegetación**

Existe una correspondencia entre el espectro polínico aéreo local y las formaciones vegetales colindantes, aunque no siempre es fácil dar una interpretación simple a esta relación, ya que las especies vegetales que integran dichas comunidades no siempre contribuyen de igual forma, pudiendo variar considerablemente la producción polínica de

unos táxones a otros, la eficacia de transporte de los granos de polen, así como el tipo de polinización que utilizan las mismas.

Las formaciones vegetales están sujetas a continuos cambios, de tal manera que la vegetación actual es el resultado de una serie de factores ecológicos y climáticos, unidos a la acción de la actividad humana (cultivos, fuegos, pastoreo, etc.). De acuerdo con Alba (1997) el aporte de la vegetación del entorno al espectro polínico registrado en un captador se puede clasificar en tres categorías: a) aporte local, cuando el radio es de 5-10 Km con respecto a la estación aerobiológica, b) aporte regional, si el radio es de hasta 40-50 Km y c) aporte alóctono, si éste procede de vegetación situada a más de 50 Km.

### **Producción polínica y dispersión**

La producción polínica de un taxon no es fija en el tiempo sino que puede ser alterada por distintos factores que permiten que ésta fluctúe diacrónicamente (Rogers, 1993). La cuantificación del número de granos que produce una especie es de gran valor ya que puede ser utilizado para estimar el número granos de polen que se dispersan por el aire durante una estación si *a priori* se conoce la densidad de la vegetación por unidad de superficie (Tormo *et al.*, 1996). La relación existente entre el número de anteras por inflorescencia y el de granos de polen por antera describe una función hiperbólica, de forma que especies como *Quercus rotundifolia* incrementan la cantidad de inflorescencias para compensar el bajo número de anteras por flor, otras como *Olea europaea* o *Fraxinus angustifolia* aumentan la producción de polen por antera para suplir los pocos estambres por flor.

## **1.2. ÁREA DE ESTUDIO**



### 1.2.1. LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA

La provincia de Granada está situada al sureste de la P. Ibérica, en el extremo oriental de Andalucía, formando parte de esta Comunidad Autónoma. Tiene una extensión de 12.637 Km<sup>2</sup>, lo que representa el 2,5% de la superficie nacional. Limita al norte con la provincia de Jaén aunque en la zona más oriental lo hace también con Murcia y Albacete, al sur con el mar Mediterráneo, al este con Almería y al oeste con Málaga.

La orografía de esta provincia hace que en ella se localicen tres sistemas montañosos:

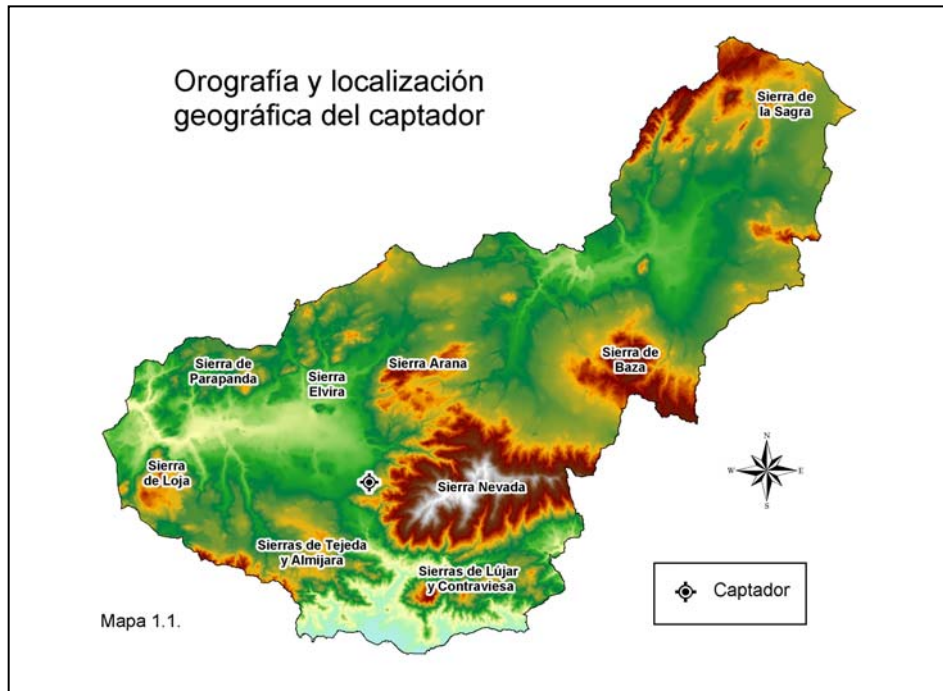
**Sierras Subbéticas.** Se trata de una serie de alineaciones montañosas de naturaleza carbonatada, definidas por depresiones periféricas de naturaleza margosa. En ellas destacan las Sierras de Parapanda, Arana, La Sagra, entre otras, con altitudes medias próximas a 2.000 m. La naturaleza y estructura de los materiales que lo forman originan un relieve muy heterogéneo con una marcada erosión provocando en la zona más meridional pequeños macizos aislados como Sierra Elvira.

**Surco Penibético o Intrabético.** Separa las unidades Penibéticas y Subbéticas; constituido por materiales sedimentarios en donde puede definirse dos complejos: la depresión de Granada-Loja y la depresión de Guadix-Baza-Huéscar. La altitud media aumenta desde el oeste al este teniendo en Granada una altura de 685 m, en Guadix 915 m y en Huéscar 953 m.

**Cordillera Penibética.** Compuesta por dos alineaciones, la litoral formada por las Sierras de Tejeda, Almjara, Lújar y La Contraviesa con altitudes que no superan los 2.000 m; y la interior en la que destaca Sierra Nevada, donde se presentan picos por encima de los 3.000 m.

La Estación de Control Aerobiológico se encuentra ubicada en la ciudad de Granada a 37° 11' Lat. N, 3° 35' Long. O; teniendo en cuenta la topografía del entorno, así como de las principales direcciones de viento Alba (1997) consideró que el área de influencia del captador era de 30 Km en dirección norte y sur, 40 Km al este y 50 Km al oeste actuando como límites o barreras naturales las zonas montañosas de S<sup>a</sup> de Arana al nordeste, S<sup>a</sup> de Parapanda al noroeste, S<sup>a</sup> de los Guájares al sur, S<sup>a</sup> de Almjara al suroeste, S<sup>a</sup> Nevada al sureste y S<sup>a</sup> de Loja al oeste (MAPA 1.1.).





MAPA 1.1. Orografía y localización geográfica del captador.

### 1.2.2. BIOGEOGRAFÍA

La provincia de Granada se localiza en la región Mediterránea dentro de la provincia corológica Bética. De los sectores en que se divide esta provincia, el más extendido es el Malacitano-Almijarenses, donde se ubica la ciudad de Granada, aunque su provincia también participa de otros sectores como el Alpujarreño-Gadorenses, Nevadenses, Subbéticos, Guadiciano-Bacenses, Rondeños e incluso el Hispalenses en las proximidades de Loja.

### 1.2.3. BIOCLIMA

El clima constituye el factor natural condicionante más importante para la vegetación. Según la clasificación bioclimática de Europa (Rivas Martínez, 1996) el área de estudio presenta un bioclima mediterráneo pluviestacional-oceánico estando presentes en la provincia los seis termotipos descritos para la región Mediterránea (TABLA 1.1).

Termotipo	Ombrotipo	Litología	Biogeografía	Vegetación
Termomediterráneo (<600m)	Semiárido	Indiferente	Alpujarreño-Gadoreense Guadiciano-Bacense Nevadense	Lentiscal Coscojar
	Seco	Calizas, filitas	Alpujarreño-Gadoreense	Encinar basófilo
Mesomediterráneo (600-1.500m)	Seco	Calizas, filitas	Alpujarreño-Gadoreense Hispalense Malacitano-Almijareense Rodeño	Encinar basófilo
	Subhúmedo sin xericidad estival	Micaesquistos, filitas y cuarcitas	Nevadense	Melobar
	Seco /Subhúmedo	Calizo- dolomías	Alpujarreño-Gadoreense Malacitano-Almijareense Subbético	Encinar basófilo
Supramediterráneo (1.500-1.900m)	Seco /Subhúmedo	Micaesquistos y cuarcitas	Guadiciano-Bacense Nevadense Rondeño	Encinar acidófilo
	Subhúmedo sin xericidad estival	Micaesquistos, filitas y cuarcitas	Nevadense	Melobar
	Subhúmedo /Húmedo	Calizo- dolomías	Alpujarreño-Gadoreense Malacitano-Almijareense Subbético	Pinar-Sabinar
Oromediterráneo (1.900-2.900m)	Subhúmedo /Húmedo	Calizas y Calizo- dolomías	Malacitano-Almijareense Subbético	Pinar-Sabinar oromediterráneo
	Subhúmedo /Húmedo	Micaesquistos	Nevadense	Enebral-Piornal
Crioromediterráneo (>2.900m)	Indiferente	Micaesquistos	Nevadense	Pastizal psicroxerófilo

TABLA 1.1. Relación entre termotipo, ombrotipo, litología, biogeografía y vegetación dominante presentes en la provincia de Granada. Tomado de Blanca *et al.* (2002)

#### 1.2.4. PAISAJE VEGETAL

Para analizar el contenido polínico de la atmósfera de Granada, es necesario conocer la vegetación natural, cultivada u ornamental que circunda al captador.

##### Vegetación natural

La serie de vegetación más extensa y representada en las zonas próximas al captador es la del *Paeonio coriaceae-Querceto rotundifoliaceae* S. (Rivas Martínez, 1987). Sin embargo, la fuerte acción antrópica ha reducido esta comunidad climax a pequeñas manchas de bosques casi relictos. El estrato arbóreo está formado casi exclusivamente por la encina (*Quercus rotundifolia*) aunque en ocasiones cuando la humedad es elevada puede

ir acompañado de quejigos (*Quercus faginea*). El sotobosque es rico en arbustos como enebros (*Juniperus oxycedrus*), ruscus (*Ruscus aculeatus*) o torvizcos (*Daphne gnidium*). El estrato herbáceo lo forman especies anuales o vivaces como las peonías (*Paeonia coriacea*), primaveras (*Primula vulgaris*), violetas (*Viola* spp.), etc.

En las etapas de sustitución la composición vegetal depende del tipo de degradación; en aquellas donde la humedad es mayor el matorral está formado por majuelos (*Crataegus monogyna*) o rosales silvestres (*Rosa* spp.), mientras que en las más secas dominan los retamales de *Retama sphaerocarpa* y *Genista speciosa*. Cuando la degradación es aún más intensa se desarrollan los espartales (*Stipa tenacissima*) en sustratos margosos y romerales (*Thymus* spp. y *Lavanda lanata*) en pedregales con poco desarrollo edáfico.

Los sustratos básicos del piso supramediterráneo se componen de la serie *Berberido hispanicae-Querceto rotundifoliae* S., aunque estos bosques son poco frecuentes siendo más fácil encontrar el espinar correspondiente a la serie *Lonicero-Berberidetum hispanicae* refugiados en enclaves umbrosos y húmedos.

Entre los 900-1.800 m y sobre materiales silíceos se presenta la serie *Adenocarpodectocans-Querceto rotundifoliae* S., fundamentalmente representada en Sierra Nevada y pequeños enclaves de la Sierra de Huétor. Sobre los mismos materiales pero con un ombroclima subhúmedo aparecen los bosques de robles melojos acompañados a veces de *Acer granatense*, *Quercus faginea*, e incluso *Fraxinus angustifolia*.

La vegetación de rivera es importante en el entorno del captador siendo la serie de vegetación rupícola mesomediterránea *Rubio tinctorum-Populeto alabe* S.; *Siliceto neutrichae* S. la más representativa.

El piso oromediterráneo de sierras calizas está compuesto por la serie *Daphno oleoidi-Pineto sylvestris* S., cuya etapa madura corresponde a un sabinar-enebral. En las etapas de degradación estas series son sustituidas por el espinal (*Lonicero-Berberidetum hispanicae*), o por el matorral xeroacántico (*Festuco-Astragaletum granatensis*). En las sierras silíceas se encuentra la serie *Genisto baeticum-Junipereto nanae* S. siendo sustituido en algunas ocasiones por *Sideritis glacialis* y *Arenaria* sp. Sin embargo, y debido a la proliferación de incendios, la comunidad más extensa corresponde a los lastonares de *Festuca indigesta*.

## Replantaciones

En toda la provincia se han llevado a cabo numerosas replantaciones sobretodo de especies del género *Pinus*; se trata de masas arbóreas prácticamente monoespecíficas.

## Cultivos

El olivar es el cultivo más importante en la provincia ocupando un total de 290.860,92 hectáreas (Rubio Pérez *et al.*, 2002). Además son frecuentes los cultivos de almendros, cereales (trigo, cebada, centeno, maíz) y los de girasol, localizados fundamentalmente en zonas del Temple y Montes Orientales. Por último la Vega de Granada se ha dedicado al tabaco, maíz, remolacha y espárragos.

## Flora ornamental

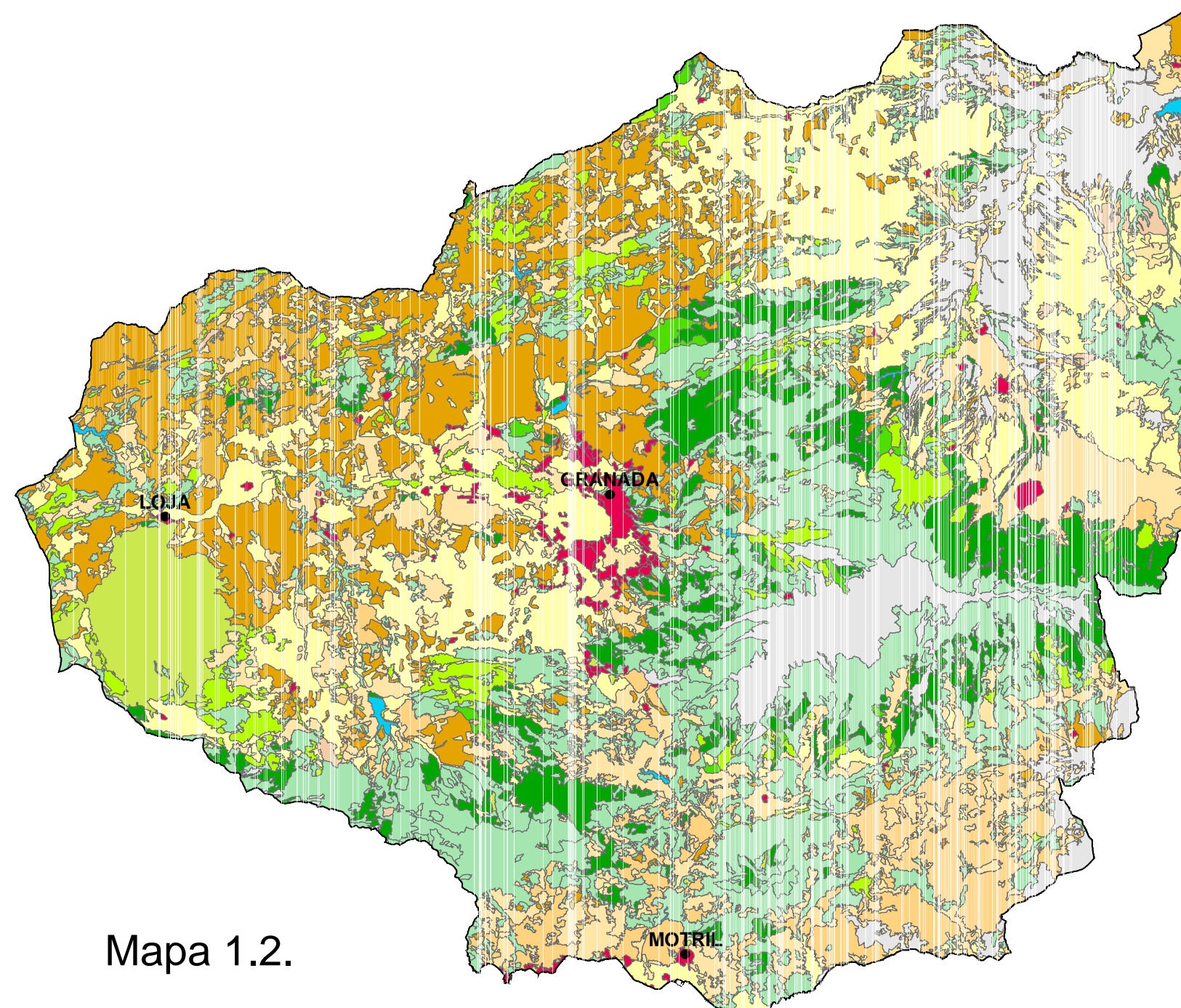
La ciudad de Granada destaca por su riqueza en parques y zonas ajardinadas destacando los magníficos jardines del Generalife y la Alhambra. La utilización de plantas mediterráneas y autóctonas junto con otras introducidas proporciona una flora ornamental con una gran diversidad de árboles, arbustos y hierbas (Díaz de la Guardia & Blanca, 1994). Entre los árboles que pueblan las avenidas y calles de la ciudad se encuentran el Plátano de paseo (*Platanus hybrida*), Olmos (*Ulmus minor*), Tilos (*Tilia platyphyllos*), Álamos (*Populus* spp.), Áceres (*Acer* spp.), Aligustres (*Ligustrum* spp.), Catalpas (*Catalpa bignonioides*), Olivos (*Olea europaea*), siendo probablemente las especies de *Cupressus* (*C. sempervirens* y *C. arizonica*) las más extendidas en la ciudad sobretodo en el barrio del Albayzín. Además esta ciudad se caracteriza por la vegetación exótica procedente de China, Japón y América del Norte como Gingos (*Ginkgo biloba*), Secuoya (*Sequoia sempervirens*), Magnolios (*Magnolia grandiflora* y *M. x soulangiana*), Calicantos (*Calycanthus floridus*) o Carpes (*Carpinus betulus*).

## Mapa de vegetación actual (MAPA 1.2.)

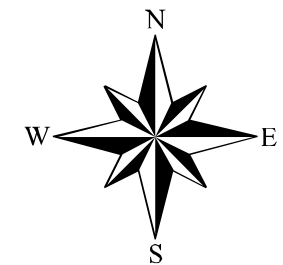
Un estudio realizado por la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía (Agencia de Medio Ambiente, 1997) muestra cómo durante el periodo 1976 a 1987 los usos y coberturas del territorio granadino han experimentado algunos cambios importantes. Buena parte de ellos se deben a la disminución de las masas que, replantadas con anterioridad a 1976, once años después ofrecen una cobertura vegetal de matorral o

matorral arbolado siendo frecuentes en las sierras de Almirajara y Baza, sur y surdeste de Sierra Nevada, valle del río Guadalfeo y el entorno del embalse de Negratín; o bien a grandes incendios forestales, situados al sur y suroeste de Sierra Nevada, que ocasionaron una merma de superficie forestal, por lo que actualmente existe en esa zona una mayor diversificación de coberturas de matorral y arbolado. Las áreas cultivadas han aumentado en este periodo en un porcentaje del 2% debido a pequeños incrementos de cultivos de secano en el norte y centro de la provincia, así como el aumento de las zonas irrigadas en el litoral y de las áreas urbanas en la Vega de Granada. Por otra parte, en 1991 la leyenda de coberturas del suelo, se homogeniza y recoge extensas superficies calificadas en 1987 como tierras muy erosionadas o dedicadas a usos agrícolas específicos, situadas en la Hoya de Baza o altiplanos de Guadix, denominándolas ahora como zonas de cultivos con espacios de vegetación natural, ya que se trata de tierras marginales dedicadas a cultivos de secano extensivo o bien como mosaicos de cultivos por ser mezclas o combinaciones de regadíos y secanos. Del análisis también se desprende el aumento de las superficies de cultivos de frutales de secano que se aprecia en los sectores próximos al litoral.











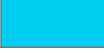
# Usos del suelo en la provincia de Granada



Mapa 1.2.



## Leyenda

	Zonas Antrópicas		Quercíneas
	Cultivos Arables		Coníferas
	Viñedos		Bosques Mixtos
	Frutales		Pastizales Naturales
	Olivares		Matorrales de transición
	Cultivos Mixtos		Escasa cobertura vegetal
	Cultivos Agroforestales		Reservas de Agua



### **1.3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**





## **Hipótesis de trabajo**

La evaluación de la calidad del aire es en la actualidad una de las líneas de investigación que más se está potenciando en el ámbito de las ciencias que se ocupan de la calidad medioambiental, sobre todo en lo referente a los contaminantes de origen antrópico (dióxido de nitrógeno, dióxido de azufre, monóxido de carbono, partículas en suspensión y ozono) ya que son uno de los mayores desencadenantes de enfermedades asmáticas en los países industrializados (D'Amato, 2002). Sin embargo, aún habiéndose establecido que una cuarta parte del total de partículas sólidas atmosféricas tiene un origen biológico (Knox, 1993), son pocas las investigaciones que relacionan la calidad del aire con el polen, esporas, virus o bacterias.

Los estudios aerobiológicos que actualmente se están llevando a cabo, indican que sin lugar a dudas, el polen de las plantas anemófilas es el principal contaminante biológico del aire y que su presencia está en continuo aumento (Baeza Ocariz, 2002).

La hipótesis planteada en este capítulo es analizar el contenido polínico de la ciudad de Granada a lo largo de 15 años de muestreo ininterrumpido, para poder explicar las tendencias, el aumento de polen alergógeno y el desplazamiento de la estacionalidad de determinados tipos polínicos en este periodo; además de valorar la influencia de los parámetros meteorológicos sobre los niveles de polen anuales y estacionales.

## **Objetivos**

Los objetivos planteados son los siguientes:

- Evaluar el comportamiento aerobiológico de nueve tipos polínicos altamente alergógenos, a lo largo de 15 años de muestreo continuado (1992-2006), analizando su evolución interanual y estacional.
- Analizar la evolución de las variables meteorológicas durante la misma serie de años, para conocer su influencia sobre la intensidad y estacionalidad de estos táxones.

- Establecer el inicio, severidad y duración del periodo de polinación principal (PPP) de cada uno de los tipos polínicos, con objeto de valorar la presencia de alteraciones o estabilidad cíclica en la serie de 15 años.
- Comprobar el incremento de polen alergógeno en los últimos años en la atmósfera de Granada, conocer a qué táxones es debido y las tendencias a largo plazo.

## **1.4. MATERIAL Y MÉTODOS**



### 1.4.1. MUESTREO

#### Toma de muestras de la atmósfera

En esta Memoria de Tesis Doctoral se presenta un estudio del contenido polínico de los nueve táxones más alergógenos del área Mediterránea. El periodo de muestreo ha sido desde enero de 1992 hasta diciembre de 2006; la recogida de muestras aerobiológicas se ha realizado utilizando un captador volumétrico tipo Hirst “Burkard Spore-trap modelo 7-day recorder” (FIG. 1.5. **Captador Burkard**). Éste se encuentra situado en una de las terrazas de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada, a 23 metros de altura, donde ninguno de los edificios colindantes ejerce un efecto pantalla, permitiendo la libre circulación del aire.

El captador Burkard está formado por:

1. Cabezal o unidad de impacto: formado por un orificio de entrada o ranura de captación de aire con unas dimensiones internas de 14 mm de largo y 2 mm de ancho; una veleta externa que posibilita que esta ranura quede enfrentada hacia la dirección del viento dominante; una visera de protección de sección semicircular situada a 7 cm por encima del orificio de entrada de aire y un tambor que da movimiento a la cinta de muestreo gracias a su conexión con un mecanismo de relojería que permite una rotación de 2 mm/hora, con autonomía de 7 días y que completa su ciclo giratorio en idéntico periodo. El cabezal completo se abre por la parte superior y lleva acoplada una pieza donde se encuentra el sistema de relojería y se incorpora el tambor.
2. Motor: situado en la parte inferior del captador se compone de una bomba de vacío que aspira un volumen de 10 litros de aire por minuto, gracias a su conexión con una fuente de alimentación eléctrica externa.
3. Cinta transparente (Melinex) de 14 x 373 mm, que se coloca sobre las señales de principio y final del tambor. Sobre dicha cinta se deposita una fina y homogénea capa de una sustancia adhesiva, que en nuestro caso ha sido vaselina filante en los primeros 4 años y solución de silicona el resto del periodo muestreado. El flujo de aire incide sobre la cinta, donde quedan retenidas todas las partículas aerovagantes, tanto orgánicas

como inorgánicas. Transcurridos 7 días el tambor es sustituido por otro con una nueva cinta.

Con regularidad se realiza una comprobación del estado del captador controlando que la ranura de entrada de aire y la zona de conexión entre el cabezal y el motor estén siempre limpios y no se encuentren obstruidos. Del mismo modo y con la ayuda de un caudalímetro se comprueba que el volumen total de aire succionado sea de 10 l/min.



FIG. 1.5. Captador Burkard.

### **Preparación de las muestras diarias**

La preparación de las muestras diarias se ha realizado de la siguiente manera:

1. La cinta de Melinex que contenía el tambor se corta en 7 trozos, cada uno de 48 mm de longitud correspondiente a un día.
2. Cada fragmento se monta sobre un medio de glicerogelatina <sup>(1)</sup> que previamente ha de licuarse durante 10 minutos al baño María, a una temperatura de 80°C.

3. Se etiquetan las preparaciones con la fecha correspondiente al muestreo, en la parte izquierda del portaobjetos, para dejar así indicada la zona a partir de la cual se ha de comenzar a realizarse el conteo.
4. Con una pipeta Pasteur, se depositan sobre el portaobjetos unas cuantas gotas de glicerogelatina.
5. Con la ayuda de unas pinzas de punta fina, se coloca uno de los trozos de cinta, correspondiente a 24 horas, sobre el portaobjetos impregnado.
6. Seguidamente, se depositan tres gotas de glicerogelatina en un cubreobjetos que se coloca suavemente sobre la cinta, evitando, nuevamente, la formación de burbujas.
7. Solidificada la glicerogelatina a temperatura ambiente, para obtener una mayor dureza, se introduce en el frigorífico cinco o diez minutos a 4°C.

Transcurrido ese tiempo, se eliminan los restos de glicerogelatina que quedan adheridos en los bordes del portaobjetos con una cuchilla. Se sellan las preparaciones con esmalte transparente, evitando así, la contaminación o posibles desplazamientos de los elementos de la muestra en el almacenaje y permitiendo la conservación de éstas durante un tiempo indefinido.

---

<sup>(1)</sup> El protocolo seguido para la elaboración de la glicerogelatina ha sido el siguiente:

Glicerina químicamente pura	50 ml
Gelatina en escamas	7 gr
Agua destilada	42 ml
Fenol	1 gr

Se mezcla la gelatina en escamas junto con el agua destilada, una vez licuada se añade la glicerina hasta obtener una solución homogénea, a la que finalmente se le añade el fenol. Antes de que el preparado solidifique, se le agrega fucsina básica suficiente hasta que la mezcla se tiña ligeramente.

---

#### 1.4.2. ANÁLISIS CUALITATIVO

Las muestras diarias se analizan a microscopio óptico, barriendo la preparación de izquierda a derecha con el objetivo 40x y ocular 10x, identificando los diferentes granos de polen que aparecen.



En el presente trabajo se han estudiado nueve tipos polínicos pertenecientes a los siguientes táxones: *Olea*, *Poaceae*, *Cupressaceae*, *Urticaceae*, *Chenopodiaceae*/*Amaranthaceae*, *Artemisia*, *Platanus*, *Plantago* y *Populus*.

Los criterios seguidos para la elección de estas partículas biológicas han sido:

1. Que fueran partículas bióticas con una importante representación en la atmósfera de Granada.
2. Que provocaran una elevada incidencia en personas atópicas.
3. Que presentaran una morfología bien definida, para permitir una observación correcta de las mismas.

Para la identificación de los tipos polínicos se ha utilizado la palinoteca de referencia de la Estación de Control Aerobiológica de la Facultad de Ciencias de Granada, así como claves y obras generales sobre polen (Erdtman, 1966, Smith, 1986; Valdés *et al.*, 1987; Díaz de la Guardia & Blanca, 1994; Jato *et al.*, 2001).

### 1.4.3. ANÁLISIS CUANTITATIVO

Sobre la preparación diaria se efectúa un muestreo, por convenio se utiliza un *Muestreo no probabilística de Conveniencia*, realizando cuatro barridos horizontales lo que supone el 12,9% de la muestra diaria. Aceptada la validez de la metodología por parte de la Red Española de Aerobiología, es necesario extrapolar el área total impactada multiplicando por un “factor de corrección” que permita expresar los datos en “número de granos de polen por metro cúbico de aire” (granos de polen/m<sup>3</sup> de aire). Dicho factor de corrección es de 0,53. Para la obtención del mismo se aplica el siguiente algoritmo <sup>(2)</sup>.

---

<sup>(2)</sup> Como el captador aspira un volumen de aire de 10 l/min, durante 24 horas, el volumen total aspirado es 14,4 m<sup>3</sup>:

$$10 \text{ l/min} \times 60 \text{ min} \times 24 \text{ horas} = 14.400 \text{ l/día} = 14,4 \text{ m}^3 \text{ aire/día}$$

Para 1 m<sup>3</sup> el factor es:

$$1 \text{ m}^3 / 14,4 \text{ m}^3 = 0,069^{(*)}$$

El fragmento de cinta examinado tiene 48 mm de longitud, equivalente a 2 mm cada hora; puesto que el diámetro del objetivo (40x) es 0,46 mm, la superficie total de lectura en cuatro barridos es:

$$48 \text{ mm} \times 0,46 \text{ mm} \times 4 \text{ barridos} = 88,32 \text{ mm}^2^{(**)}$$

Como la ranura de entrada de aire mide 14 mm y se recorren 48 mm cada día, el área real impactada en 24 horas es:

$$14 \text{ mm} \times 48 \text{ mm} = 672 \text{ mm}^2^{(***)}$$

Por tanto, el factor de corrección será:

$$(672 \text{ mm}^2^{(***)} / 88,32 \text{ mm}^2^{(**)}) \times (0,069^{(*)}) = \mathbf{0,53}$$


---

La plantilla utilizada en los recuentos polínicos (TABLA 1.2) muestra las horas del día en el eje vertical y el número de barridos realizados para cada hora en el horizontal. Además, en la parte superior de la misma se indica la fecha de la preparación a analizar, la estación de control a la que pertenece, el factor de corrección, el número total de granos contabilizados y los táxones observados.

#### **1.4.4. ESTUDIO POLÍNICO AL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (MEB)**

##### **Preparación de la muestras**

Se realizó una acetólisis, mediante el cual la exina queda limpia y los detalles de ornamentación muy nítidos. Este método, elimina restos vegetales cuya composición principal es la celulosa siendo por ello uno de los mejores métodos de laboratorio para purificar las muestras.

La técnica de la acetólisis se ha realizado según Erdtman (1969), tomada de Díaz de la Guardia (1985):

- Se añade lentamente a cada tubo de centrifuga que contiene el material polínico una parte de ácido sulfúrico concentrado (0,5 ml) a nueve partes de anhídrido acético puro (4,5 ml).

Captador:

Fecha:

Totales:

Coefficiente:

Taxon:

:

Taxon

Taxon:

Taxon:

	1	2	3	4		1	2	3	4		1	2	3	4		1	2	3	4
1					1					1					1				
2					2					2					2				
3					3					3					3				
4					4					4					4				
5					5					5					5				
6					6					6					6				
7					7					7					7				
8					8					8					8				
9					9					9					9				
10					10					10					10				
11					11					11					11				
12					12					12					12				
13					13					13					13				
14					14					14					14				
15					15					15					15				
16					16					16					16				
17					17					17					17				
18					18					18					18				
19					19					19					19				
20					20					20					20				
21					21					21					21				
22					22					22					22				
23					23					23					23				
24					24					24					24				

TABLA 1.2. Modelo de plantilla para la recogida de los datos horarios

- Se calientan los tubos a un baño de agua y hasta ebullición (hay que tener la precaución de que el líquido acetolítico no salte sobre el agua del baño), removiendo con una varilla de vidrio durante todo el tratamiento.
- Se dejan 5 minutos después de que se alcance la ebullición del agua.
- Posteriormente se elimina el líquido acetolítico, se dejan enfriar, se añaden
- Se añaden unos 3 ml de mezcla de glicerina y agua a partes iguales. A los 1-3 minutos se centrifuga, decanta y se mantienen los tubos con el sedimento polínico boca abajo sobre un papel de filtro de 2 a 24 horas.
- Una vez realizado el proceso, se suspenden en alcohol a diferentes proporciones consiguiendo así que los granos se encuentren en el punto crítico.
- Para la observación al MEB el montaje se realizó sobre unos soportes especiales (setas), recubriendo la muestra con una película de oro. La observación de las muestras se realizó en el centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada.

#### **1.4.5. PRESENTACIÓN DE LOS DATOS**

Para el desarrollo del presente trabajo se han obtenido datos meteorológicos procedentes de dos estaciones diferentes: Estación Agrometeorológica nº 5 del Centro de Investigación y Formación Agraria CIFA-Granada (1992-2001) y Servicio de Meteorología del Aeropuerto-Granada (2002-2006). Dichas estaciones se sitúan a una distancia de 4 y 10 Km respectivamente de la Unidad de Control Aerobiológico de Granada.

Los parámetros meteorológicos utilizados en este estudio han sido:

1. Temperatura máxima, media y mínima y Humedad relativa, presentándose gráficos de promedios anuales y decenales de cada una de las variables a lo largo de los 15 años de estudio.

2. Precipitación e Insolación, donde se incluyen gráficos con datos totales anuales y decenales del mismo periodo.

A estos parámetros se les ha aplicado el *Test de Kruskal-Wallis one-way* <sup>(3)</sup> para estimar la variabilidad interanual de los valores anuales y decenales respectivamente, así como análisis de las tendencias interanuales mediante Test de Regresión <sup>(4)</sup>.

En cuanto a los datos aerobiológicos se presenta:

1. Una ficha por cada taxon estudiado donde quedan reflejados aspectos botánicos, fenológicos y de morfología polínica.
2. Gráficas de la variación interanual de los datos totales anuales de cada tipo polínico con análisis de tendencias o Test de Regresión <sup>(4)</sup>.
3. Variación estacional (1992-2006) de los promedios decenales de cada taxon siguiendo la metodología de las clases exponenciales propuesta por Spieksma (1991), cálculo del periodo de polinación principal (PPP) <sup>(5)</sup> al 90 y 95% según la metodología de Nilsson & Persson (1981) y Test *Kruskal-Wallis* <sup>(3)</sup> para evaluar su dinámica estacional.

---

<sup>(3)</sup> Se ha seleccionado un análisis no paramétrico *Test de Kruskal-Wallis one-way* que nos permite medir la varianza por rangos del conjunto de datos. Esta prueba compara los promedios o medianas de  $K$  muestras independientes y decide si éstas proceden de poblaciones idénticas con respecto a los promedios.

Las hipótesis que tratamos de contrastar son:

$H_0$ =La mediana de las poblaciones consideradas son iguales

$H_1$ =Al menos una de las poblaciones tiene mediana distinta a las otras

A la hora de interpretar los resultados, hemos de tener en cuenta el valor de  $P$  ó "*P-value*", de tal forma que si éste es menor de 0,05, se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) y se concluye que las muestras son diferentes, o al menos una de ellas tiene mediana distinta a las otras. Por el contrario si "*P-value*" es mayor de 0,05 se acepta la hipótesis nula ( $H_0$ ), concluyéndose que las poblaciones consideradas son todas iguales.

<sup>(4)</sup> Con el fin de obtener un patrón de tendencias y un modelo predictivo que indique, con un error mínimo, el comportamiento interanual de las variables meteorológicas y tipos polínicos, se ha realizado un **Test de Regresión** de tipo lineal o polinomial. En una muestra de  $n$  valores ( $x$ ,  $y$ ) existe regresión de una variable cuando hay una línea que se ajusta a una nube de puntos. El índice de determinación  $R^2$  indica el porcentaje de variabilidad que posee cada una de las variables analizadas.

<sup>(5)</sup> Para conocer el comportamiento aerobiológico de los distintos tipos polínicos, se hace necesario acotar la estación polínica total de los táxones y determinar sus periodos de máxima emisión polínica denominada **Periodo de Polinación Principal** (PPP). En esta Tesis Doctoral se ha seguido la metodología propuesta por Nilsson & Persson (1991), acumulando la serie de datos al 95% en el caso de táxones con estacionalidad más o menos marcada, y al 90% en táxones con polinación muy extensa.

Si la serie temporal se calcula al 95%, el arranque de la estación principal se considera el día en que la suma de las concentraciones medias diarias acumuladas alcanza el 2,5% y finaliza el día en que se logra en 97,5%; y para el segundo cuando el porcentaje acumulado es del 5% y 95%, respectivamente. En el caso de *Artemisia*, *Cupressaceae* y *Urticaceae* se ha establecido como fecha de inicio del PPP mayo, septiembre y octubre, respectivamente.

---



## **1.5. RESULTADOS**





### 1.5.1. VARIABLES METEOROLÓGICAS DURANTE EL PERIODO DE ESTUDIO

En este apartado se presentan los valores obtenidos de las variables meteorológicas (Temperatura máxima, media y mínima, Humedad relativa, Insolación y Precipitaciones) durante los 15 años de estudio que pueden influir de forma positiva o negativa sobre los niveles de polen de la atmósfera de Granada, así como en el desarrollo de la variación estacional de los distintos tipos polínicos.

#### TEMPERATURA (TABLA 1.3 y FIG. 1.6)

##### Evolución del promedio anual

El promedio de la temperatura media anual registrado durante el periodo de estudio ha sido 15,4°C (TABLA 1.3), siendo 1993 cuando se alcanzan los valores más bajos (13,8°C) y 1999 los mayores (16,8°C), por lo que esta variable difiere de unos años a otros hasta 3°C. El promedio de la temperatura máxima anual ha oscilado entre 22,5°C (1992) y 25,4°C (1999) registrándose el valor mensual extremo en julio de 1995 con 44,5°C. Los datos promediados de la temperatura mínima han variado entre 4,9°C (1993) y 11,2°C (2004), alcanzándose la cifra mínima absoluta en enero de 1992 con -8,6°C.

Año	TEMPERATURA (°C)				
	T Max	T Med	T Min	M	m
1992	22,5	14,6	6,7	39,8	-8,6
1993	22,8	13,8	4,9	40,7	-7,3
1994	23,6	14,3	5,0	40,5	-8,4
1995	24,3	15,8	7,3	44,5	-5,3
1996	23,5	15,9	8,4	39,9	-4,5
1997	23,6	15,6	7,5	37,6	-0,8
1998	24,4	16,2	8,1	39,6	-4,6
1999	25,4	16,8	8,3	41,3	-4,6
2000	23,6	15,8	8,0	40,6	-5,8
2001	23,5	16,2	8,9	41,4	-3,8
2002	23,3	16,0	8,6	37,6	-2,2
2003	22,9	15,9	8,9	40,6	-4,8
2004	23,3	14,7	11,2	39,2	-4,9
2005	23,0	14,0	6,3	38,7	-8,4
2006	23,3	15,1	7,9	38,5	-4,2
Promedio	23,5	15,4	7,7	40,0	-5,2

TABLA 1.3. Temperaturas medias anuales registradas durante los años 1992-2006. T Max, temperatura máxima; T med, temperatura media; T min, temperatura mínima. Valores extremos de temperatura máxima absoluta (M) y temperatura mínima absoluta (m).

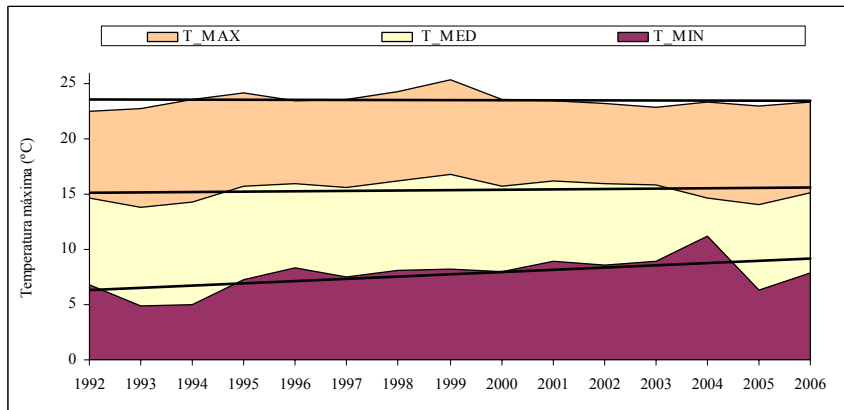
Cuando observamos la evolución de los valores anuales de temperatura (FIG. 1.6), las tres variables presentan un comportamiento muy similar en el periodo analizado, a excepción de los registros de temperatura mínima que en los últimos tres años han experimentado un pequeño aumento de hasta 3°C (2004). El estudio de los análisis de regresión o tendencias muestra que la temperatura mínima es la única variable que ha ido ascendiendo.

La prueba de *Kruskal-Wallis* para los valores totales anuales indica que no existe variabilidad significativa entre las series interanuales de temperatura máxima, media y mínima durante el periodo de estudio. En este caso aceptamos la hipótesis nula ( $H_0$ ) ya que la mediana de las poblaciones consideradas es idéntica y por tanto no existen grandes diferencias entre los datos.

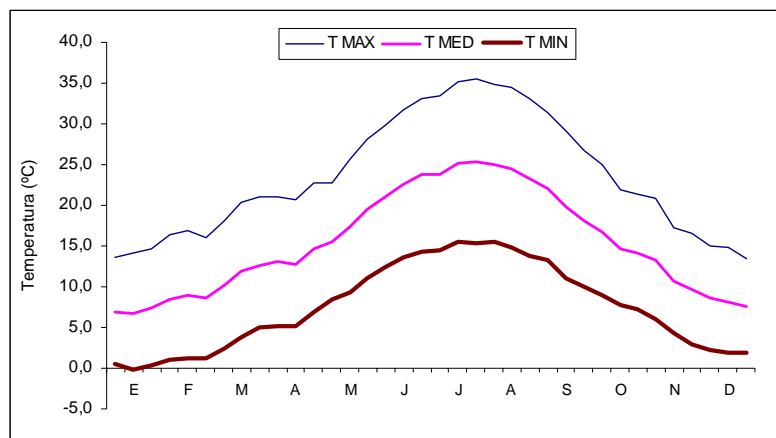
### **Evolución del promedio decenal**

El promedio de los valores decenales de temperatura máxima, media y mínima (1992-2006) evolucionan de forma paralela, describiendo una curva ascendente desde la primavera temprana hasta el periodo estival, donde se logran los registros termométricos más elevados del año. A partir de septiembre, las temperaturas vuelven a descender hasta situarse en las cotas más bajas del año, generalmente en enero. Como era de esperar en una ciudad de interior con clima mediterráneo continental, la oscilación térmica entre el invierno y el verano ha sido muy amplia, variando desde 7,1°C en el mes más frío (enero) hasta 24,8°C en el más cálido (julio).

Con objeto de comprobar la existencia de fluctuaciones interanuales significativas entre los promedios decenales de temperatura (1992-2006), se realiza un *Test de Kruskal-Wallis*. Esta prueba corrobora que la mediana de las poblaciones considerada es igual, por lo que se deduce que no existen diferencias significativas. Sin embargo el P-value = 0,075 obtenido para las temperaturas mínimas es próximo a 0,05, lo que nos podría indicar que ha habido un leve ascenso en las temperaturas mínimas diarias durante el periodo analizado.



$y = b1x + c$	Resumen del modelo				Estimaciones de los parámetros	
	R <sup>2</sup>	F	gl	Sig.	Constante	Coef. b1
T MAX	0,001	0,008	14	0,930	23,565	-0,004
T MED	0,019	0,258	14	0,620	15,157	0,028
T MIN	0,331	6,443	14	0,025	6,093	0,206



<b>Kruskal-Wallis</b>	Rango promedio <sup>1</sup>	Rango promedio <sup>2</sup>	N	g.l.	Chi-cuadrado	P ≤
T MAX anual	83,67	103,08	180	14	2,013	1,000
decenal	250,03	309,43	540	14	5,132	0,984
T MED anual	77,92	102,00	180	14	3,566	0,998
decenal	231,33	303,76	540	14	9,662	0,786
T MIN anual	68,17	105,29	180	14	7,511	0,913
decenal	205,32	307,24	540	14	22,188	0,075

FIG. 1.6. Evolución del promedio anual y decenal de la Temperatura máxima, media y mínima en los 15 años de estudio; análisis de regresión para cada una de las variables; *Test de Kruskal-Wallis* para comprobar las diferencias interanuales en el periodo 1992-2006. <sup>1</sup>Rango promedio mínimo; <sup>2</sup>Rango promedio máximo.

## PRECIPITACIÓN (FIG. 1.7)

### Evolución del total anual

El valor promediado de las precipitaciones totales anuales registradas en los 15 años es de 373,7 mm, lo que determina la existencia de un ombroclima seco. El régimen de precipitaciones anuales en Granada se caracteriza por ser irregular, de forma que los años más lluviosos han sido 1996 y 1997 con 786 y 711 mm, respectivamente, mientras que los años en los que se puede hablar de sequía fueron 1995 (244,9 mm), 1998 (264,2 mm) y 2005 (171,5 mm). El Test de Regresión no es concluyente; puesto que las precipitaciones fluctúan considerablemente de un año a otro, no podemos hablar de tendencia interanual sino de falta de predecibilidad de las mismas.

El análisis de la varianza *Kruskal-Wallis* indica que no existen grandes diferencias entre los datos anuales de precipitación acumulada durante el periodo de estudio (1992-2006) y por tanto se rechaza la hipótesis  $H_0$ .

### Evolución del total decenal

La distribución de las precipitaciones parece mostrar un patrón relativamente constante a lo largo del estudio, de forma que los máximos valores se registran fundamentalmente en invierno (57,9 mm de diciembre y 51,2 mm de noviembre) seguido de primavera y otoño. Las precipitaciones más bajas corresponden a los meses estivales donde ha obtenido un promedio de 0,3 mm. No obstante, no podemos hablar de un modelo de distribución de lluvias estable sino de un comportamiento irregular de máximas y mínimas precipitaciones.

El *Test de Kruskal Wallis* indica que el *P-value* obtenido en las series decenales es próximo a 0,05 ( $=0,095$ ), lo que corrobora que la distribución intranual de las precipitaciones en Granada se comporta de forma irregular y poco previsible, como es propio del clima mediterráneo.

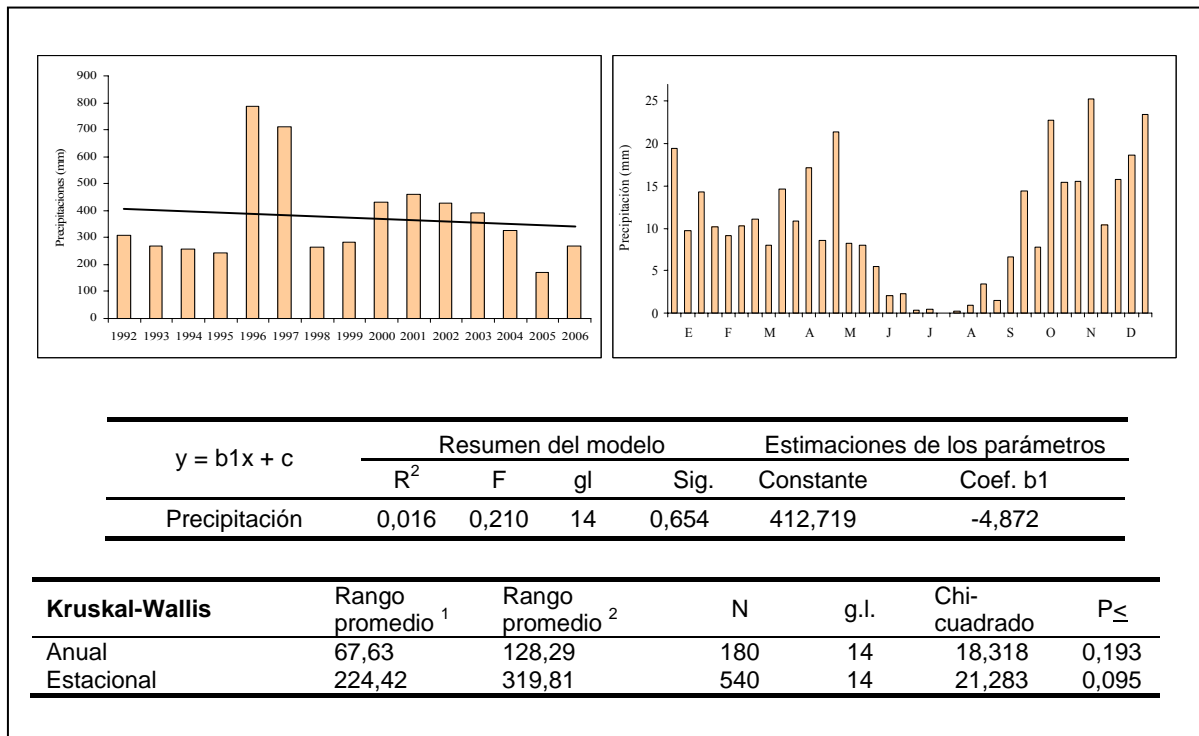


FIG. 1.7. Evolución del total anual y decenal de la Precipitación en los 15 años de estudio; análisis de regresión; *Test de Kruskal-Wallis* para comprobar las diferencias interanuales en el periodo 1992-2006. <sup>1</sup>Rango promedio mínimo; <sup>2</sup>Rango promedio máximo.

### DIAGRAMA OMBROTÉRMICO (FIG. 1.8)

Obtenidos los promedios de Temperaturas medias y Precipitaciones del periodo 1992-2006 se realiza el diagrama ombrotérmico de Gaussen & Bagnols para la ciudad de Granada. En él se muestra la existencia de un periodo de xericidad estival típico de las regiones Mediterráneas. Estos resultados son prácticamente los mismos que los observados durante el periodo 1935-1960 para esta zona, confirmándose por tanto que no han existido cambios patentes en lo que respecta al ombro y termoclima.

### HUMEDAD RELATIVA MEDIA (FIG. 1.9)

#### Evolución del promedio anual

El promedio anual de Humedad relativa media del aire ha presentado un valor de 63,5%. Los resultados obtenidos en los 15 años muestran que las variaciones han oscilado entre los 55,1% en 1992 y 71,0% en 2006. El análisis de regresión indica un coeficiente de determinación elevado ( $R^2 = 0,63$ ) para una ecuación polinomial de tercer grado, lo que

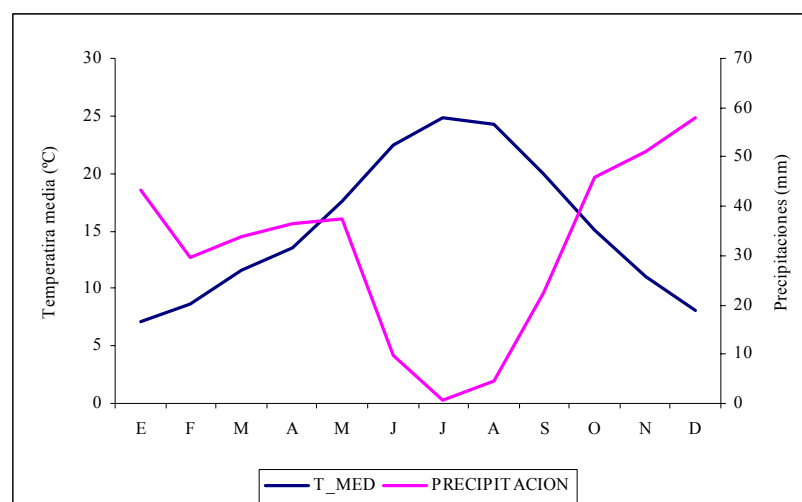


FIG. 1.8. Diagrama ombrotérmico de Gaussen & Bagnols obtenidos con los datos promediados del periodo 1992-2006 para la ciudad de Granada.

indica una cierta tendencia al alza en la humedad registrada durante 1992-2006.

La prueba de *Kruskal-Wallis* ha permitido medir la varianza del conjunto de datos interanuales de Humedad relativa. Esta prueba verifica la hipótesis de que la humedad ha aumentado ligeramente a lo largo de los últimos años.

### **Evolución del promedio decenal**

La evolución decenal muestra la existencia de un descenso gradual desde enero hasta julio, siendo en este último mes cuando la humedad relativa alcanza registros mínimos anuales (51,9%), debido a la ausencia de precipitaciones y altas temperaturas. Desde agosto a diciembre esta tendencia se invierte, siendo diciembre el mes con índices más elevados (73,9%).

Con objeto de contrastar la variabilidad interanual de los datos decenales, el análisis *Kruskal-Wallis* indica que se ha de rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ ), ya que para la muestra poblacional se obtiene un  $P \leq 0,000$ , y por tanto las series numéricas difieren entre sí. Esta prueba confirma que la evolución de la humedad relativa se comporta de forma irregular a lo largo del tiempo.

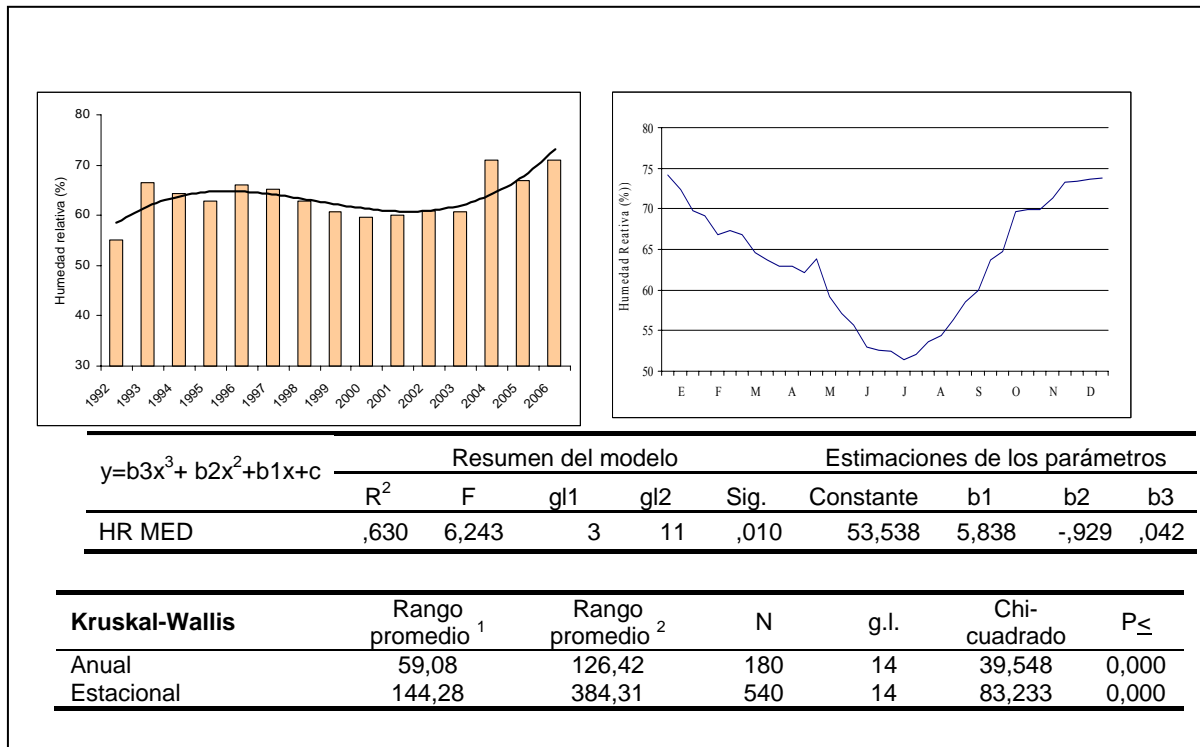


FIG. 1.9. Evolución del promedio anual de la Humedad relativa media en los 15 años de estudio; análisis de regresión; *Test de Kruskal-Wallis* para comprobar las diferencias interanuales en el periodo 1992-2006. <sup>1</sup>Rango promedio mínimo; <sup>2</sup>Rango promedio máximo.

## INSOLACIÓN (FIG. 1.10)

### Evolución del total anual

Los datos promediados anuales (1992-2006) muestran que la insolación en Granada es alta, con valores de 3.075,5 horas de sol (69,5% de la insolación teórica). El año de máxima insolación se produjo en 1999 con 3.732,3 horas (84,3% de la insolación teórica) y el mínimo en 2005 con tan solo 2.579,3 horas (58,2% de la insolación teórica). El análisis de regresión señala que es difícil establecer un patrón en la tendencia interanual, puesto que no sólo depende de la duración teórica del día sino que además está influenciada por la nubosidad y la precipitación.

La prueba de *Kruskal-Wallis* obtenida nos obliga a rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ ) ya que la mediana de todas las poblaciones consideradas o, al menos, alguna de ellas no son idénticas. Esto indica que ha habido gran variabilidad interanual en la insolación total, por lo que este parámetro podría influir en el inicio y duración de la floración de algunas especies.



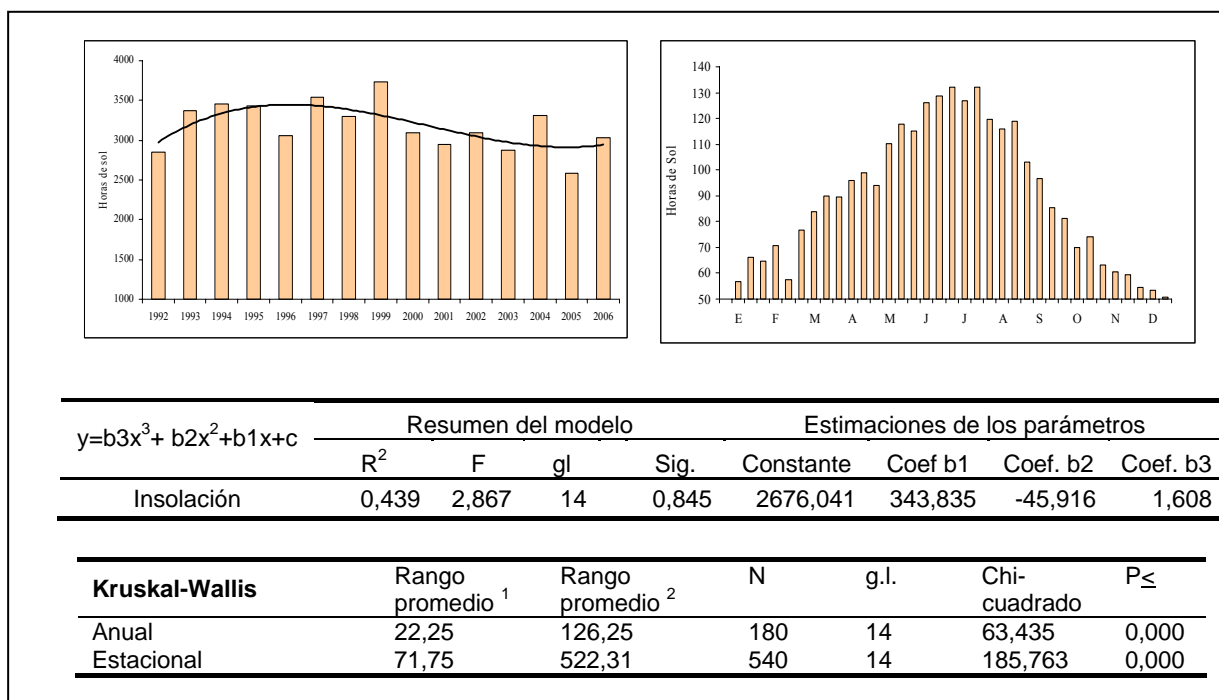


FIG. 1.10. Evolución del total anual y decenal de la Insolación en los 15 años de estudio; análisis de regresión; *Test de Kruskal-Wallis* para comprobar las diferencias interanuales en el periodo 1992-2006. <sup>1</sup>Rango promedio mínimo; <sup>2</sup>Rango promedio máximo.

## Evolución del total decenal

La dinámica decenal muestra el marcado contraste existente entre los meses de primavera-verano y otoño-invierno. El mes más soleado en la ciudad de Granada es julio con 602,5 horas de sol y el menos soleado, diciembre con 238,4 horas, debido fundamentalmente a la reducción del fotoperiodo y la nubosidad de la estación invernal.

Con objeto de contrastar la variabilidad interanual de los datos decenales se realiza el análisis *Kruskal-Wallis*. De nuevo se ha de rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ ), ya que para la muestra poblacional se obtiene  $P \leq 0,000$ , y por tanto las series numéricas difieren entre sí. Esto es debido fundamentalmente al mencionado carácter irregular y poco previsible que poseen las borrascas que entran desde el atlántico y por consiguiente a la nubosidad, siendo estos factores los que más afectan a la insolación.

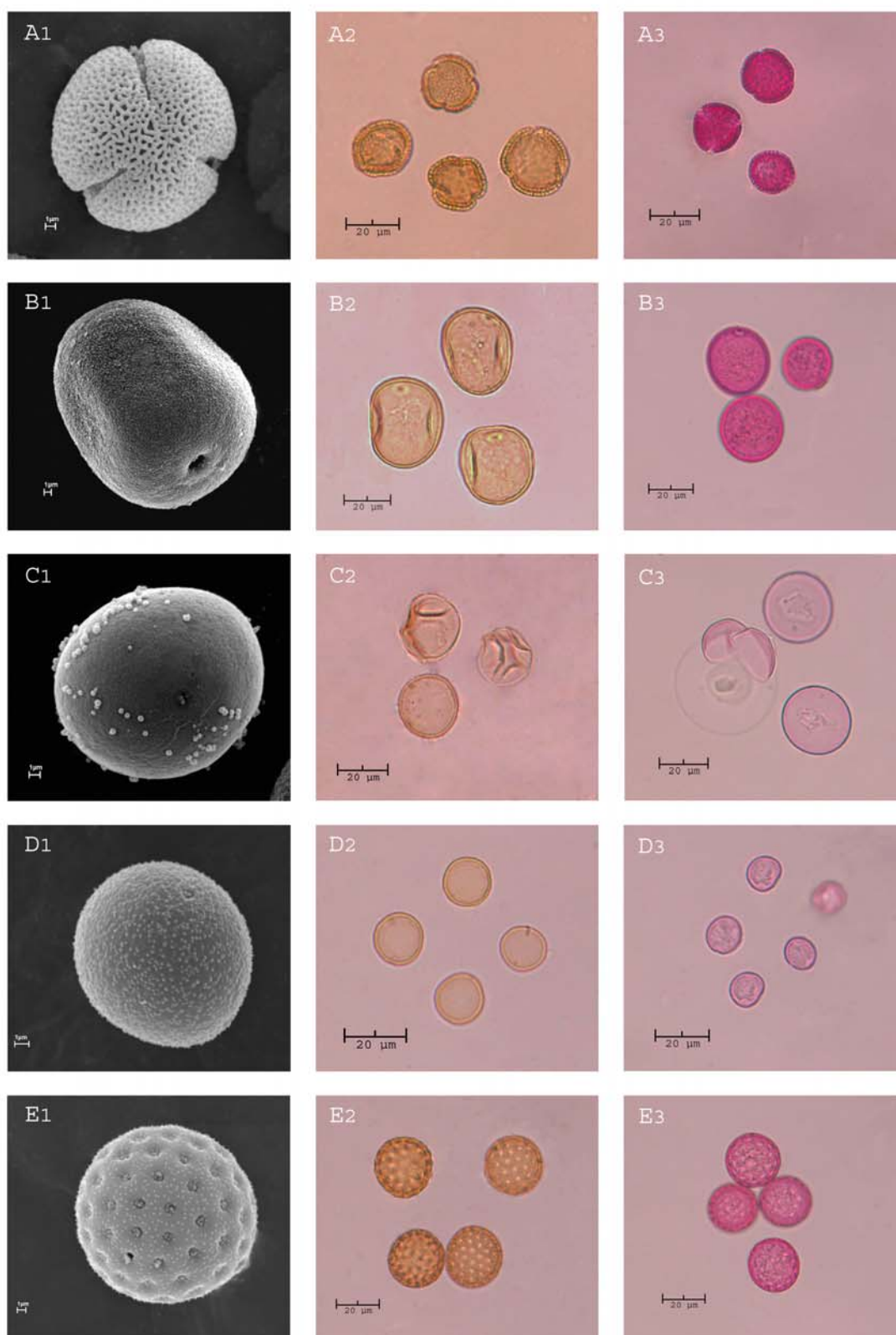


Lámina 1.1. A1-A3, *Olea europaea*; B1-B3, *Lolium perenne*; C1-C3, *Cupressus sempervirens*; D1-D3, *Parietaria judaica*; E1-E3, *Chenopodium album*. 1, MEB; 2, MO (polen acetolizado); 3, MO (polen al natural con fucsina).



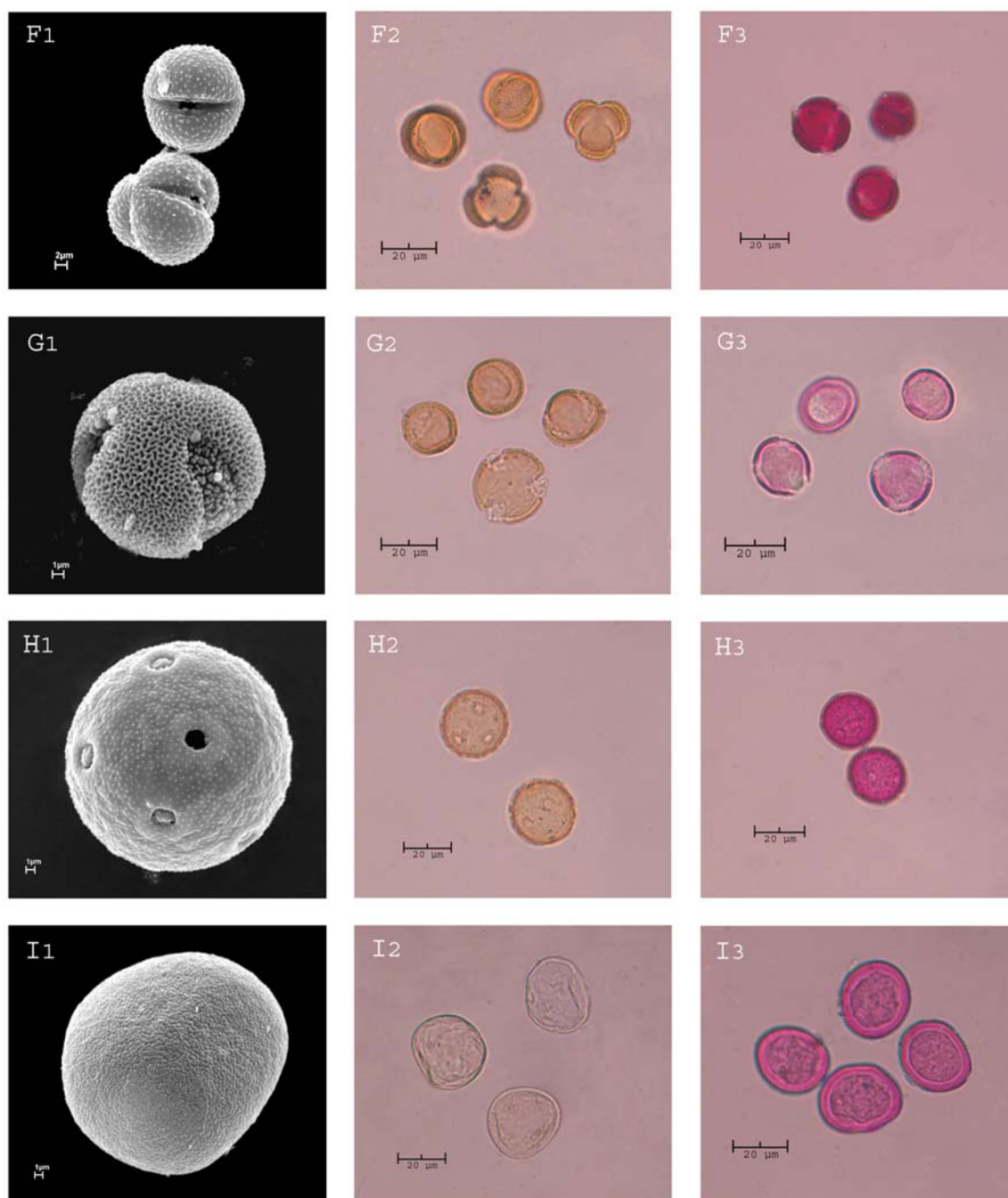


Lámina 1.2. F1-F3, *Artemisia vulgaris*; G1-G3, *Platanus hybrida*; H1-H3, *Plantago lanceolata*.; I1-I3, *Populus alba*. 1, MEB; 2, MO (polen acetolizado); 3, MO (polen al natural con fucsina).



## 1.5.2. ESPECTRO POLÍNICO DE GRANADA

*Olea europaea* L.

- Olivo, Acebuche-

### Tipo polínico *Olea*

En este tipo polínico se incluye el polen procedente de la especie *Olea europaea*. Este árbol se halla ampliamente cultivado en la provincia de Granada, representando aproximadamente el 50% de la superficie agrícola. Se desarrolla sobre todo tipo de suelos entre los pisos bioclimáticos termo- y mesomediterráneo. A pesar de haberse utilizado tradicionalmente para la extracción de aceite y aceituna, en los últimos años se ha extendido su uso como ornamental en zonas urbanas.

**Época de floración:** Florece durante un periodo relativamente corto, desde finales del mes de abril hasta junio.

**Polinización:** Entomófila/Anemófila (Anfífila)

**Morfología polínica:** (Lámina 1.1.A1-A3)

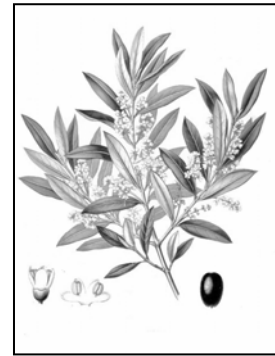
**SIMETRÍA Y FORMA:** Isopolar, con simetría radial; elíptico en visión ecuatorial, subcircular-lobulado en visión polar, fosaperturado; prolado-esferoidal con P/E= 1,10.

**TAMAÑO:** Pequeño a mediano; P=22-28 (25,9± 2,1) µm, E=19-30 (23,5± 2,2) µm.

**APERTURAS:** Polen trizonocolporado, ectoaperturas de tipo colpo, estrechos, subterminales; membrana apertural granulada; endoaperturas tipo poro, a veces poco visibles.

**PAREDES:** Exina de 2-2,5 µm de grosor, con sexina aproximadamente dos veces más gruesa que la nexina. Tectum parcial; infratectum columelado, con columelas simples. Intina engrosada en las aperturas formando un oncus.

**ORNAMENTACIÓN:** Superficie reticulada, con lúmenes irregulares de 1,5-2 µm tan anchos o más que los muros; muros escábrido-verrugosos (MEB).



**Variación interanual** (FIG. 1.11). En los 15 años de muestreo realizado en la ciudad de Granada el contenido polínico de *Olea europaea* ha tenido un considerable incremento en sus concentraciones totales anuales. Durante el periodo 1992-2000 se contabilizaron valores promediados de 12.601 granos/m<sup>3</sup>, mientras que a partir del año 2001 se registraron 23.039 granos/m<sup>3</sup>. Este tipo polínico ha experimentado a lo largo del periodo de estudio un aumento del 183%. Dicho incremento se observa también en la curva de tendencia descrita para este taxon mediante regresión lineal (R<sup>2</sup>=0,49).

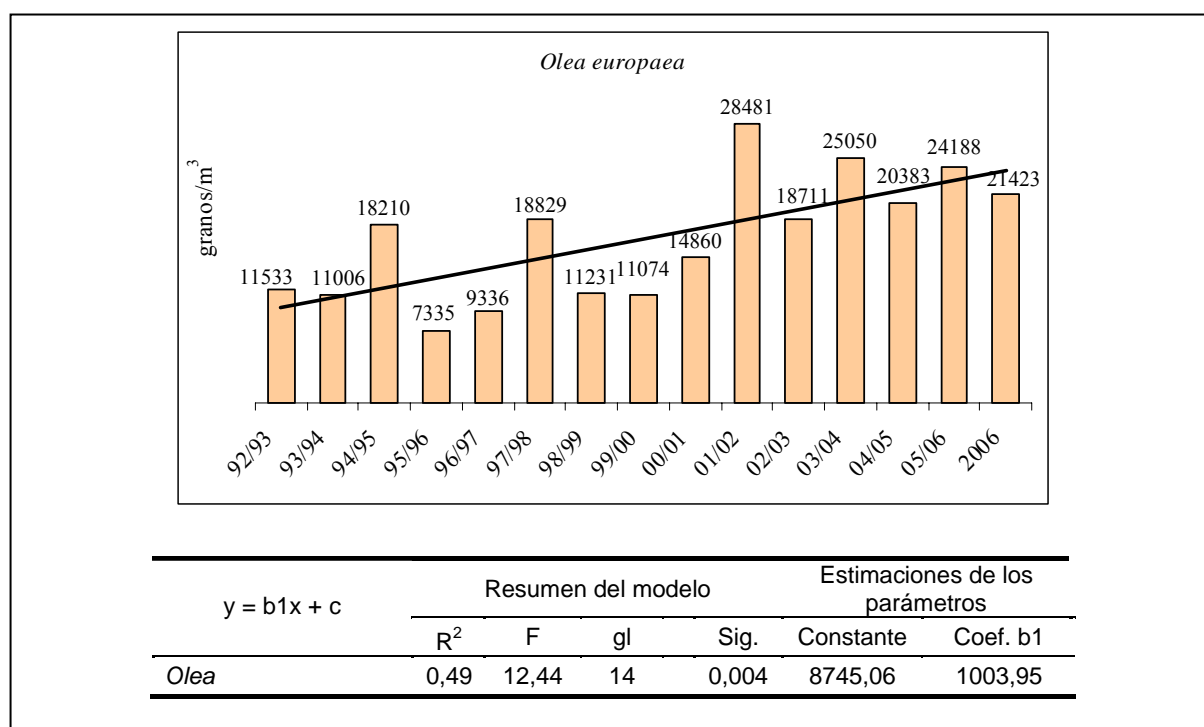


FIG. 1.11. Evolución interanual del polen de *Olea* (1992-2006). Análisis de tendencias: Test de Regresión.

**Variación estacional** (FIG. 1.12). El análisis del PPP revela que éste fluctúa, tanto en el inicio como en la extensión de la floración. La duración del PPP oscila considerablemente, siendo muy breve (~ 45 días) en 1992 y 1996, o demasiado prolongada (90 a 120 días) en otros años (1993, 1998, 2003, 2004).

Sin embargo, de la observación de la dinámica estacional se desprende que este taxon presenta un comportamiento relativamente estable, con una estacionalidad muy marcada centrada en los meses de mayo y junio. Los primeros registros polínicos se detectan en la última decena de abril mientras que los últimos se recogen en agosto, observándose en ocasiones polen en invierno debido a fenómenos de refluencia. La máxima clase exponencial se alcanza entre la última quincena de mayo y primera de junio, siendo en el periodo 1992-2000 de 400-799 granos/m<sup>3</sup> y en los años 2001-2006 de 800-1.599 granos/m<sup>3</sup>.

La prueba de *Kruskal-Wallis* (Tabla 1.4) nos obliga a rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ ), ya que para los datos decenales se obtiene  $P \leq 0,016$ , lo que indica que las series numéricas poseen diferencias significativas fundamentalmente debidas a las fluctuaciones que experimenta el PPP a lo largo de los 15 años.

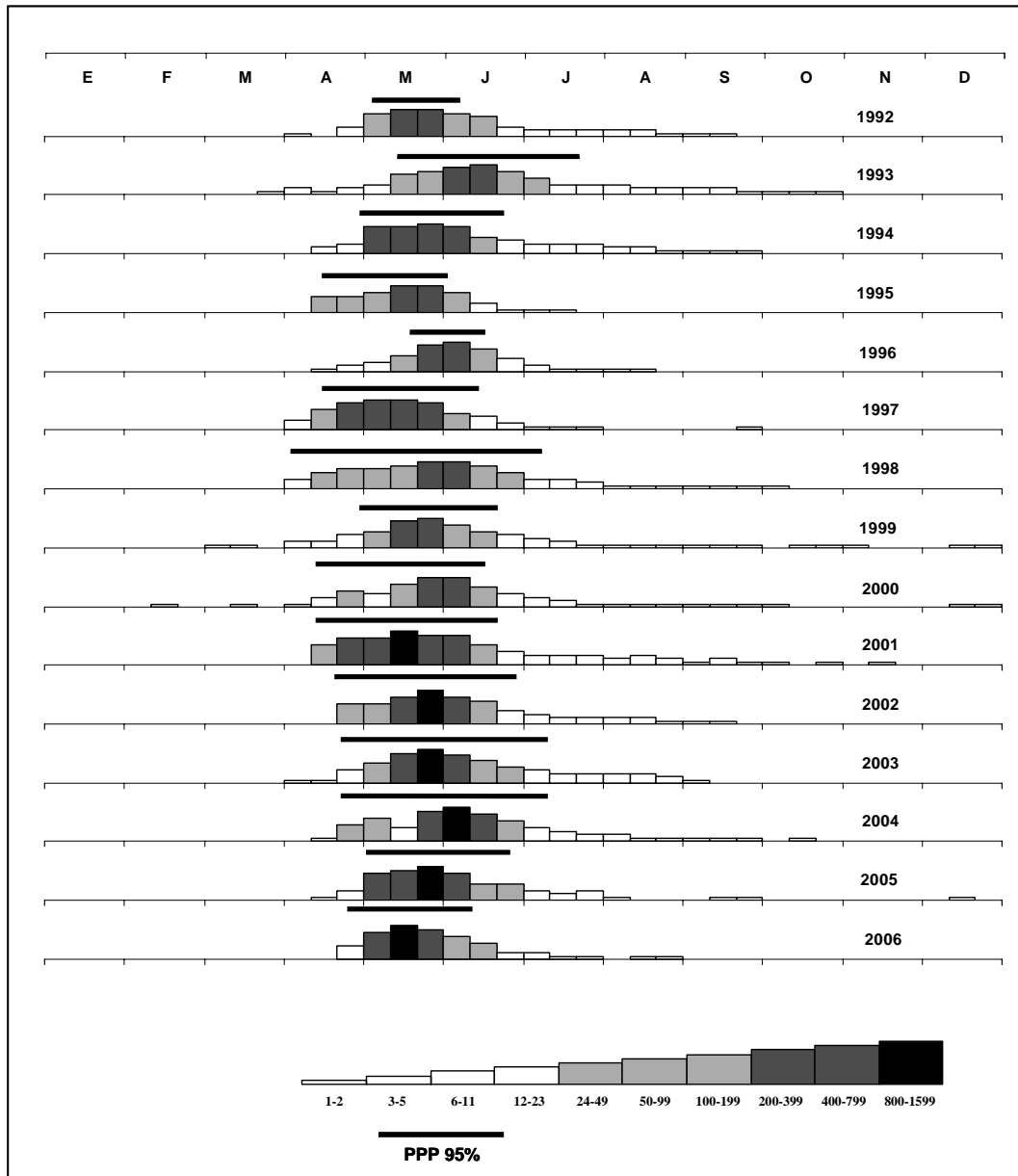


FIG. 1.12. Variación estacional de las concentraciones medias decenales de *Olea europaea* durante el periodo de estudio (1992-2006).

Kruskal-Wallis	Rango promedio <sup>1</sup>	Rango promedio <sup>2</sup>	N	g.l.	Chi-cuadrado	P <sub>≤</sub>
<i>Olea</i>	213,43	327,01	540	14	27,63	0,016

Tabla 1.4. Test de Kruskal-Wallis: comparación de promedios entre datos decenales interanuales (1992-2006). <sup>1</sup>Rango promedio mínimo; <sup>2</sup>Rango promedio máximo.



**Poaceae Barnhart**

-Gramíneas, Cereales, Grama-

**Tipo polínico *Poaceae***

Este tipo polínico está presente en todas las especies de la familia *Poaceae*. En la provincia de Granada se han catalogado hasta 230 géneros que forman parte los distintos ecosistemas. Se desarrollan sobre suelos de naturaleza silíceo o caliza, más o menos profundos, entre los pisos termo y criomediterráneo. La mayoría de las especies forman parte de la vegetación natural siendo frecuentes en el entorno urbano las especies de *Lolium*, *Bromus*, *Avena*, *Brachypodium*, *Poa*, *Stipa*, etc. Entre los géneros cultivados destacan los de *Secale*, *Avena*, *Triticum* o *Zea*, y los que forman céspedes como *Cynodon*.



**Época de floración:** Al tratarse de un grupo taxonómico muy extenso podemos encontrar especies en floración durante prácticamente todo el año. Sin embargo, la mayoría florece entre marzo y junio.

**Polinización:** Anemófila

**Morfología polínica:** (Lámina 1.1.B1-B3)

**SIMETRÍA Y FORMA:** Heteropolar, con simetría radial; circular en visión polar, de circular a ligeramente elíptico en visión ecuatorial; monoaperturado; esferoidal con P/E= 0,001-1,53.

**TAMAÑO:** Pequeño a grande; P= 16-47  $\mu\text{m}$ .

**APERTURAS:** Polen mono-anaporado. Aperturas simples de tipo poro, de 2-7  $\mu\text{m}$ ; operculados aunque el opérculo en la mayoría de los casos desaparece con la acetólisis.

**PAREDES:** Exina de 1,31-6,40  $\mu\text{m}$  de grosor en el anillo y de 1,07-2,80 en la zonal poral proximal, con sexina de ligeramente a más gruesa que la nexina, aunque esta última se engruesa en las proximidades de la apertura para formar un anillo. Téctum completo; infractéctum columelado.

**ORNAMENTACIÓN:** Superficie granulada-insulada (MEB).

**Variación interanual** (FIG. 1.13). La evolución de los registros totales anuales ha oscilado de forma importante en este periodo de estudio. Es de destacar que durante los años de pocas precipitaciones (1995, 1999 y 2005) las concentraciones totales fueron muy bajas (535, 994 y 871 granos/ $\text{m}^3$ , respectivamente), mientras que en años lluviosos (1996, 2002 y 2004) ocurre el fenómeno contrario (>2.700 granos/ $\text{m}^3$ ). La producción polínica de Gramíneas ha aumentando a lo largo del periodo 1992-2006 un promedio del 174%.El análisis de tendencias muestra los mejores resultados con ajuste lineal ( $R^2=0,21$ ).

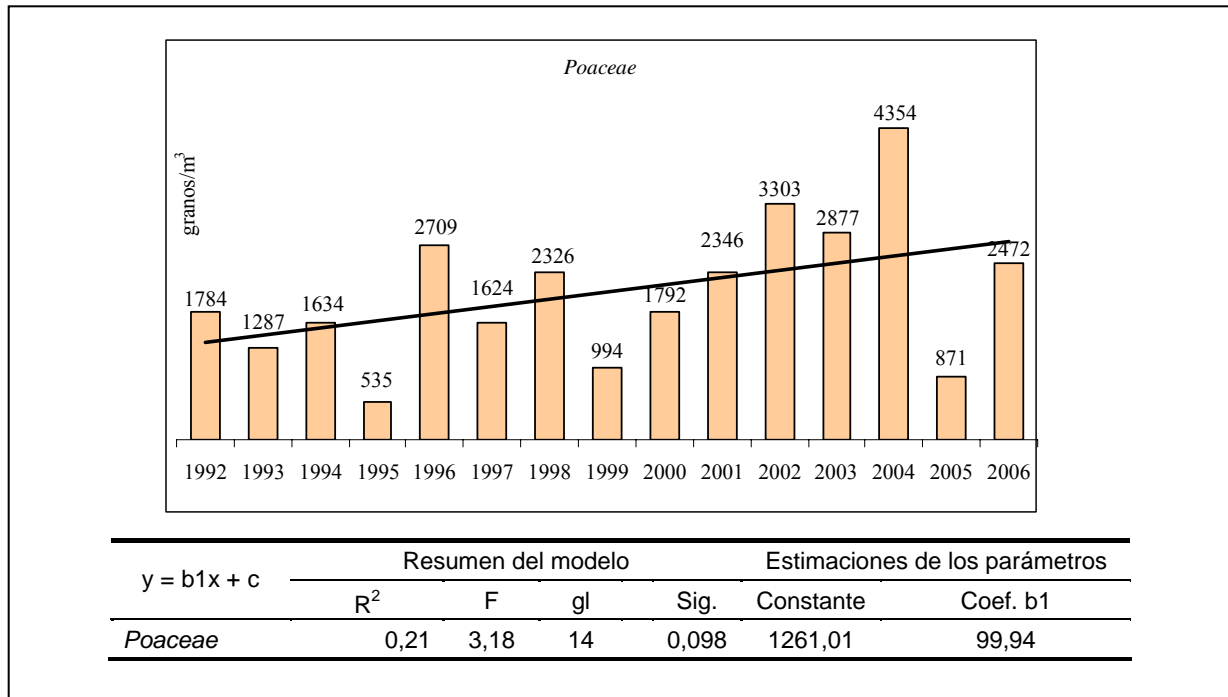


FIG. 1.13. Evolución interanual del polen de *Poaceae* (1992-2006). Análisis de tendencias: Test de Regresión.

**Variación estacional** (FIG. 1.14). El polen de las Gramíneas se caracteriza por tener un PPP muy extenso, de forma general se inicia en abril y finaliza en junio. Excepcionalmente se prolonga hasta agosto (1992) y durante cuatro años (1999, 2002, 2003 y 2004) se inició en la primavera temprana (marzo), probablemente debido a la floración anticipada de *Poa annua* y su elevada producción polínica.

El estudio de la dinámica indica que el polen de esta familia está presente casi todo el año; no obstante la mayor incidencia se produce de marzo a septiembre, con una clara estacionalidad centrada en primavera e inicios del verano. Las máximas concentraciones de *Poaceae* se producen en mayo o junio, habiéndose registrado valores exponenciales decenales de 100-199 granos/m<sup>3</sup> en 1996 y 2004.

El análisis de la varianza *Kruskal-Wallis* (TABLA 1.5) verifica que la estacionalidad de Gramíneas permanece estable y que no existen grandes diferencias entre los datos decenales interanuales (1992-2006) pese a tener una presencia continuada y constante en la atmósfera.

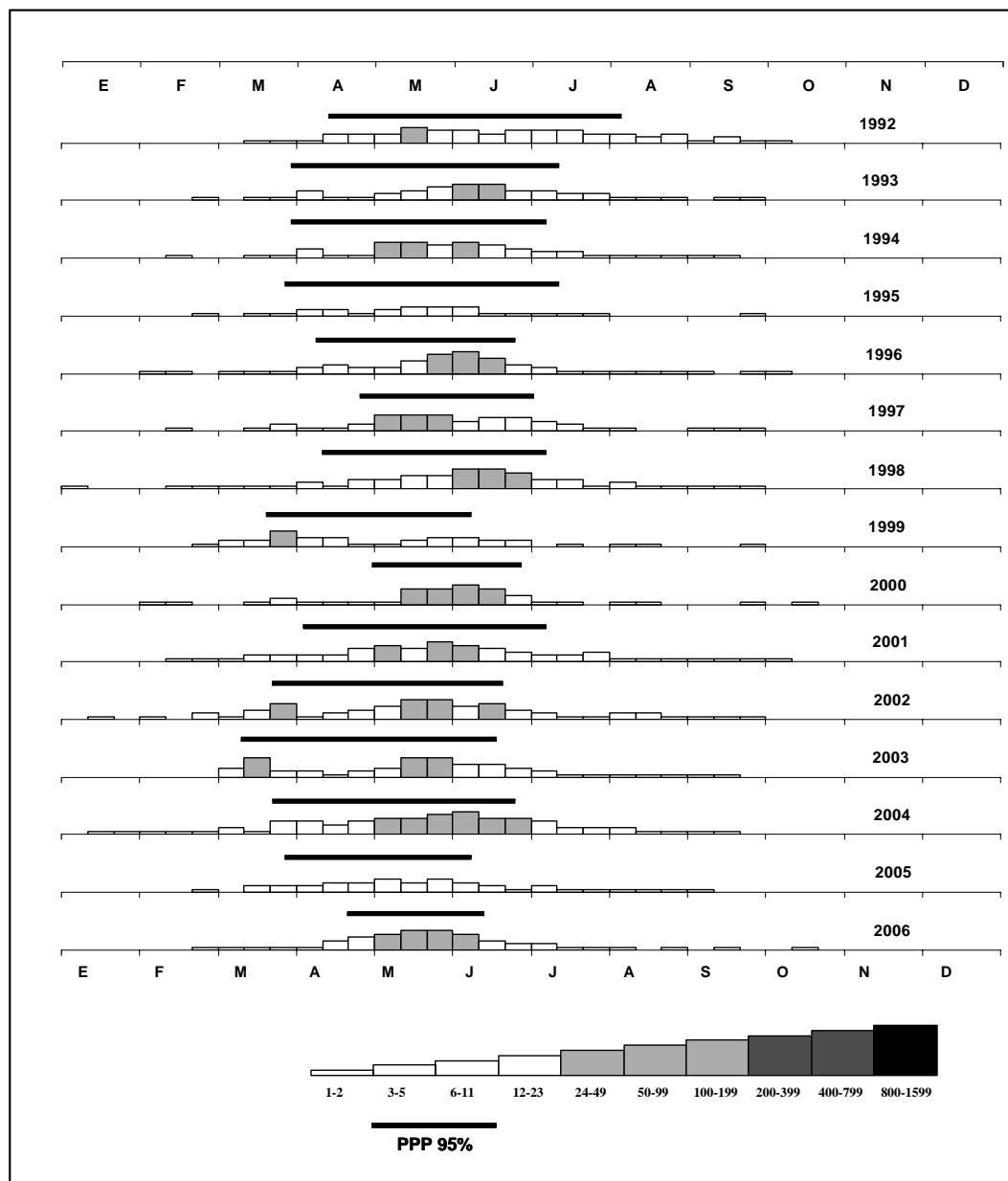


FIG. 1.14. Variación estacional de las concentraciones medias decenales de *Poaceae* durante el periodo de estudio.

Kruskal-Wallis	Rango promedio <sup>1</sup>	Rango promedio <sup>2</sup>	N	g.l.	Chi-cuadrado	P <sub>≤</sub>
<i>Poaceae</i>	229,32	317,50	540	14	13,85	0,461

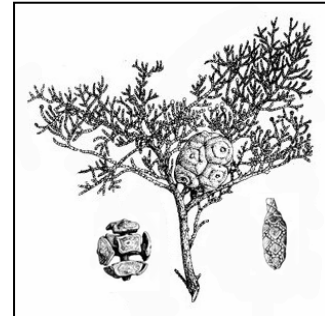
TABLA 1.5. *Test de Kruskal-Wallis*: comparación de promedios entre datos decenales interanuales (1992-2006). <sup>1</sup>Rango promedio mínimo; <sup>2</sup>Rango promedio máximo.

**Cupressaceae Bart.**

–Cipreses, Tuyas, Enebros, Sabinas–

**Tipo polínico *Cupressaceae***

Está representado por las familias *Taxodiaceae*, *Cefalotaxaceae*, *Taxaceae* y *Cupressaceae*, siendo esta última la mejor caracterizada en la provincia de Granada. Entre las formaciones vegetales naturales destacan los géneros *Juniperus* con una alta representación en matorrales xerófitos, zonas montañosas o grietas de rocas, y *Taxus baccata* con una distribución puntual en barrancos húmedos y umbríos de S<sup>a</sup> Nevada y S<sup>a</sup> de Baza. De los géneros introducidos y ornamentales destacan varias especies de *Cupressus*, *Cryptomeria*, *Chamaecyparis*, *Platycladus*, *Thuja*, *Calocedrus*, *Tetraclinis* o *Taxus*.



**Época de floración:** El periodo de floración varía con la especie; durante septiembre-diciembre cabe señalar *J. oxycedrus*, *J. phoenicea*, *T. articulata* o *C. macrocarpa*. Entre enero-mayo (junio) las especies *C. arizonica*, *C. sempervirens*, *T. articulata*, *J. sabina* o *J. communis*.

**Polinización:** Anemófila

**Morfología polínica:** (Lámina 1.1.C1-C3)

**SIMETRÍA Y FORMA:** Heteropolar, con simetría radial; circular, en visión polar y en visión ecuatorial; esferoidal (P/E= 1).

**TAMAÑO:** Pequeño a mediano; D=23-30 (26,0± 1,8) µm.

**APERTURAS:** Apertura tipo ulcera o leptoma situada en el polo distal, muy difícil de apreciar al MO.

**PAREDES:** Exina 1,2-1,5 µm de grosor; sexina de 1,5 a 2 veces más gruesa que la nexina. Tectum completo e infratectum sin columelas.

**ORNAMENTACIÓN:** Psilada a débilmente granulada con orbículos que suelen desprenderse con la acetólisis y sobre los que se observan espinulas muy pequeñas, de menos de 1 µm (MEB).

**Variación interanual.** La producción total anual del polen de *Cupressaceae* (FIG. 1.15) se ha calculado considerando como fecha de partida septiembre, coincidiendo con la floración de algunos enebros y sabinas. Los resultados obtenidos muestran como en el periodo 1994/95 se registraron los valores absolutos más bajos con 6.612 granos/m<sup>3</sup>, mientras que en 2003/04 las concentraciones aumentaron hasta 28.744 granos/m<sup>3</sup>, presentando un incremento del 229%. El test de tendencias también refleja este significativo aumento con una regresión lineal (R<sup>2</sup>=0,35).

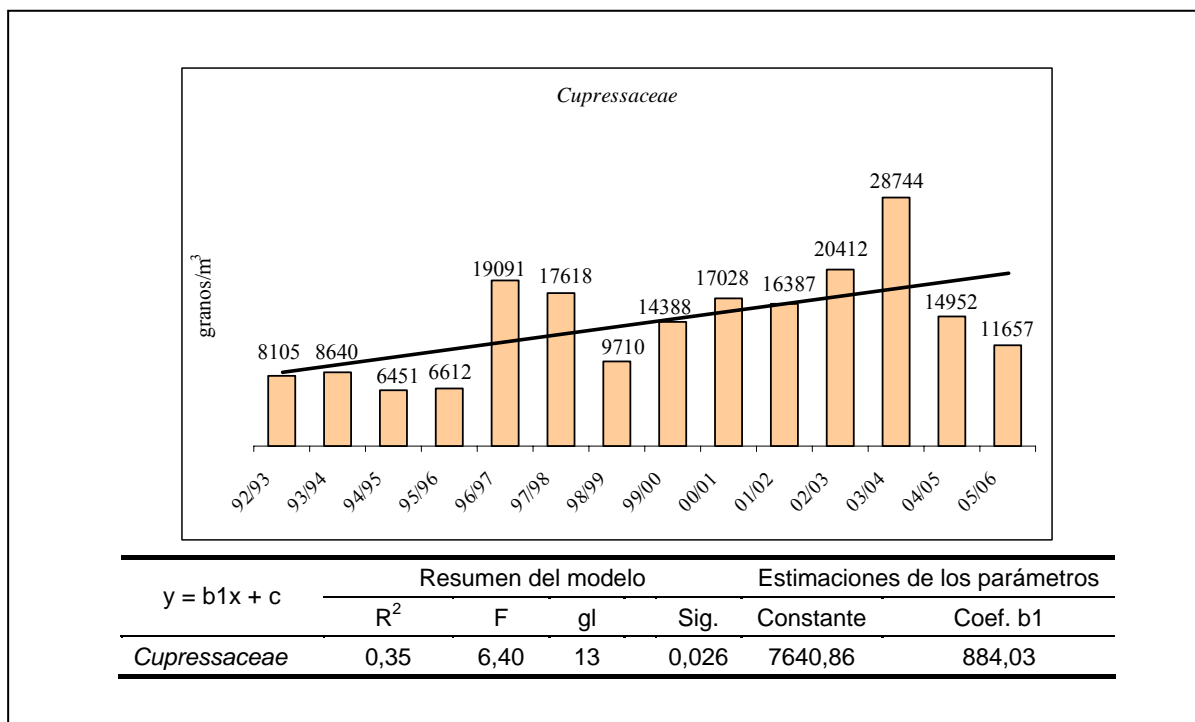


FIG. 1.15. Evolución interanual del polen de *Cupressaceae* (1992-2006). Análisis de tendencias: Test de Regresión.

**Variación estacional.** El comportamiento estacional de este tipo polínico (FIG. 1.16) revela que el PPP ha presentado diferencias significativas a lo largo del estudio, en cuanto al inicio, duración y fin. En los periodos 1992/93 y 2004/05 éste se prolonga durante cuatro meses pero con niveles aeropolínicos dentro de la clase exponencial de 100 a 799 granos/m<sup>3</sup>. Sin embargo, en los años donde el PPP es corto (1997/98 a 2001/02) las concentraciones medias decenales son más cuantiosas, llegando a alcanzar la máxima clase exponencial (799 a 1.599 granos/m<sup>3</sup>).

Del análisis de la evolución estacional se desprende que generalmente aparecen dos estacionalidades muy marcadas, una primera que se desarrolla entre septiembre y noviembre y una segunda más intensa de enero a abril. Los mayores registros polínicos se producen en los tres primeros meses del año, debido principalmente a la polinación de *C. arizonica* y *C. sempervirens*.

La prueba de *Kruskal-Wallis* (TABLA 1.6) verifica que *Cupressaceae* posee un patrón estacional que se repite de forma relativamente constante a lo largo del tiempo.

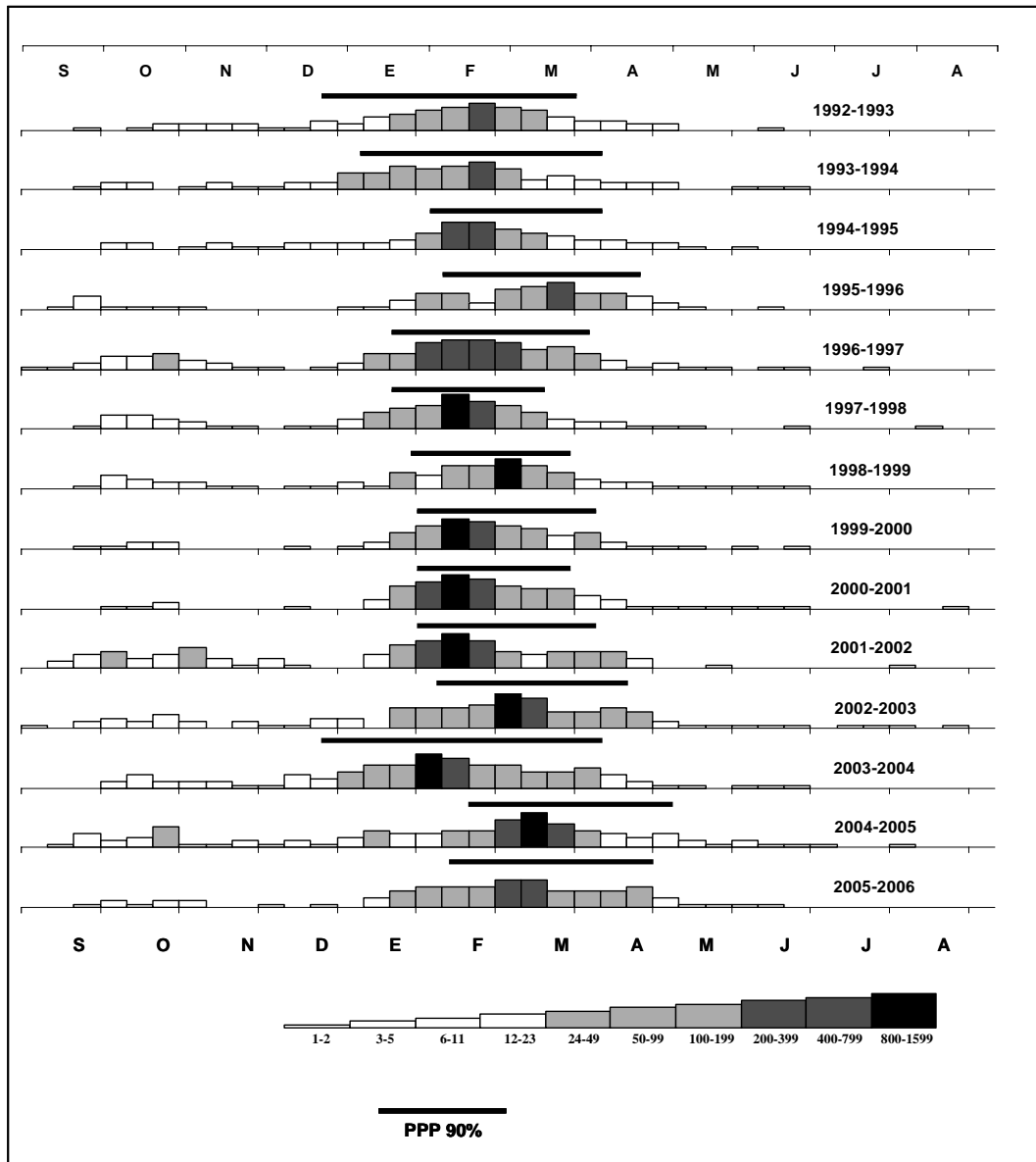


FIG. 1.16. Variación estacional de las concentraciones medias decenales de *Cupressaceae* durante el periodo de estudio.

Kruskal-Wallis	Rango promedio <sup>1</sup>	Rango promedio <sup>2</sup>	N	g.l.	Chi-cuadrado	P <sub>≤</sub>
<i>Cupressaceae</i>	213,97	322,82	540	14	18,87	0,170

TABLA 1.6. Test de Kruskal-Wallis: comparación de promedios entre datos decenales interanuales (1992-2006). <sup>1</sup>Rango promedio mínimo; <sup>2</sup>Rango promedio máximo.

**Urticaceae Juss.****-Ortigas, Parietarias-****Tipo polínico *Urticaceae***

Tipo polínico representado en Granada por los géneros *Parietaria* y *Urtica*. Del género *Parietaria* las especies más frecuentes son *P. mauritanica* y *P. judaica*, la primera se desarrollan sobre suelos húmedos y algo nitrificados, colonizando grietas de roquedos, mientras que la segunda posee un comportamiento más ruderal, creciendo en paredes y muros de zonas habitadas. Del género *Urtica* están presentes *U. urens* y *U. dioica* caracterizadas por una conducta ruderal-nitrófila.



**Época de floración:** Florecen durante prácticamente todo el año, sin embargo existe un periodo de máxima actividad que se extiende desde febrero a junio.

**Polinización:** Anemófila

**Morfología polínica:** (Lámina 1.1.D1-D3)

**SIMETRÍA Y FORMA:** Isopolar, con simetría radial; subcircular, en visión polar y ecuatorial; oblado-esferoidal (P/E= 0,86-0,95).

**TAMAÑO:** Pequeño; P= 10,91-14,19  $\mu\text{m}$ ; E= 12,14-15,58  $\mu\text{m}$ .

**APERTURAS:** Polen tri-zonoporado, a veces tetra-zonoporado. Aperturas simples, tipo poro, circulares de 1,5-2  $\mu\text{m}$  de diámetro, operculadas. Márgenes aperturales engrosados, aspidados.

**PAREDES:** Exina de 0,98-1,23  $\mu\text{m}$  de grosor en la zona polar. Sexina delgada, nexina indistinguible en *Parietaria* y con sexina aproximadamente dos veces más gruesa que la nexina en *Urtica*; tectum completo; infratectum formado por colmuelas muy pequeñas y densas.

**ORNAMENTACIÓN:** Microespinulada-verrugosa. Espinulas y verrugas de tamaño diverso y distribución irregular (MEB).

**Variación interanual** (FIG. 1.17). La producción polínica total de *Urticaceae* desde octubre a septiembre ha presentado un patrón irregular en los 15 años de muestreo. Los valores anuales han oscilado entre 2.147 granos/ $\text{m}^3$  (1998/99) y 7.340 granos/ $\text{m}^3$  (2003/04), revelándose un aumento de las concentraciones del orden del 129%. El comportamiento de este taxon ha estado muy ligado a los registros pluviométricos, de forma que en periodos de sequía (1995, 1999 y 2005) disminuye drásticamente y en años lluviosos aumenta de forma significativa. Esta relación se argumenta por el hecho de que las especies que forman parte de esta familia necesitan un umbral de humedad edáfica para florecer. El análisis de regresión lineal corrobora la tendencia ascendente de los últimos años.

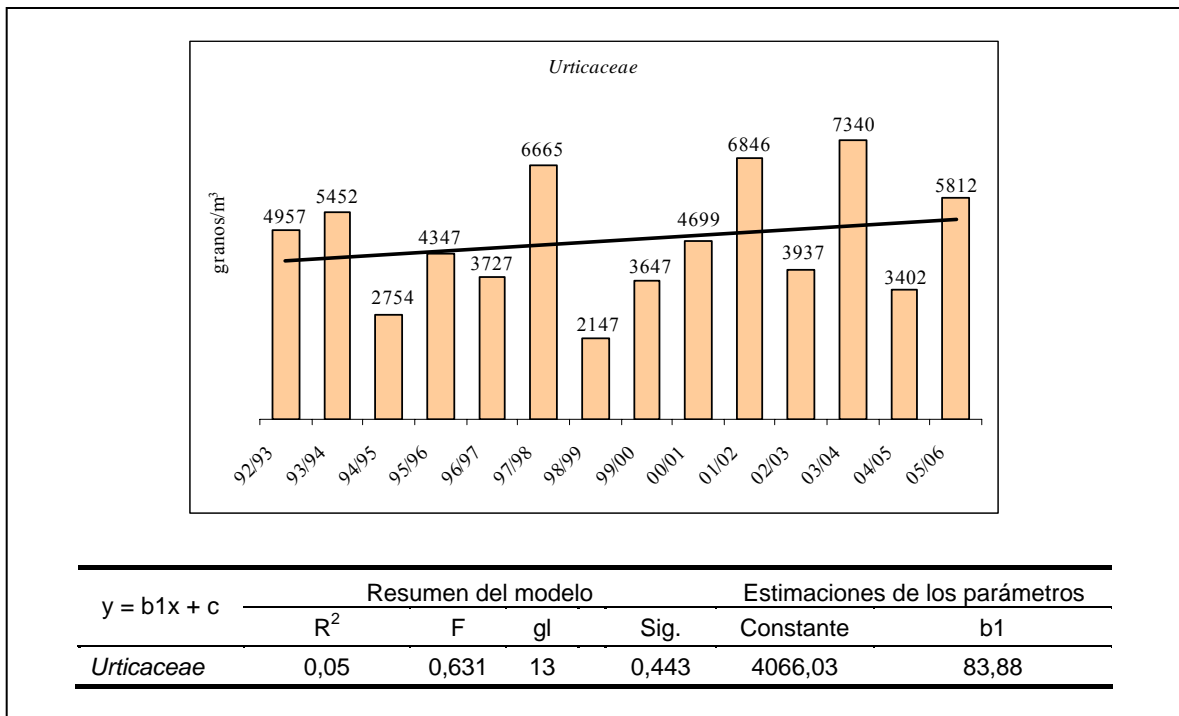


FIG. 1.17. Evolución interanual del polen de *Urticaceae* (1992-2006). Análisis de tendencias: Test de regresión.

**Variación estacional** (FIG. 1.18). Para estudiar la dinámica estacional de este taxon no se han considerado años naturales, sino los meses comprendidos entre octubre y septiembre. La extensión del periodo de polinación nos obliga a delimitarlo hasta el 90% de los valores acumulados. A pesar de ello presenta un PPP muy dilatado que oscila entre los 146 días (1999/00) y los 250 días (1992/93). El inicio del periodo de polinación principal fluctúa de forma importante mientras que la fecha de finalización se mantiene relativamente constante.

La representación gráfica de la evolución estacional muestra que *Urticaceae* describe unos histogramas irregulares en cuanto intensidad polínica. No obstante, presenta una estacionalidad generalmente comprendida entre los meses de noviembre a junio, y una mayor emisión polínica en primavera. En la mayoría de los años, durante el PPP se consiguen valores incluidos en la clase exponencial 50-99 granos/m<sup>3</sup>, siendo el periodo 2005/06 el único que en la última semana de marzo alcanza la máxima clase exponencial (100-199 granos/m<sup>3</sup>).



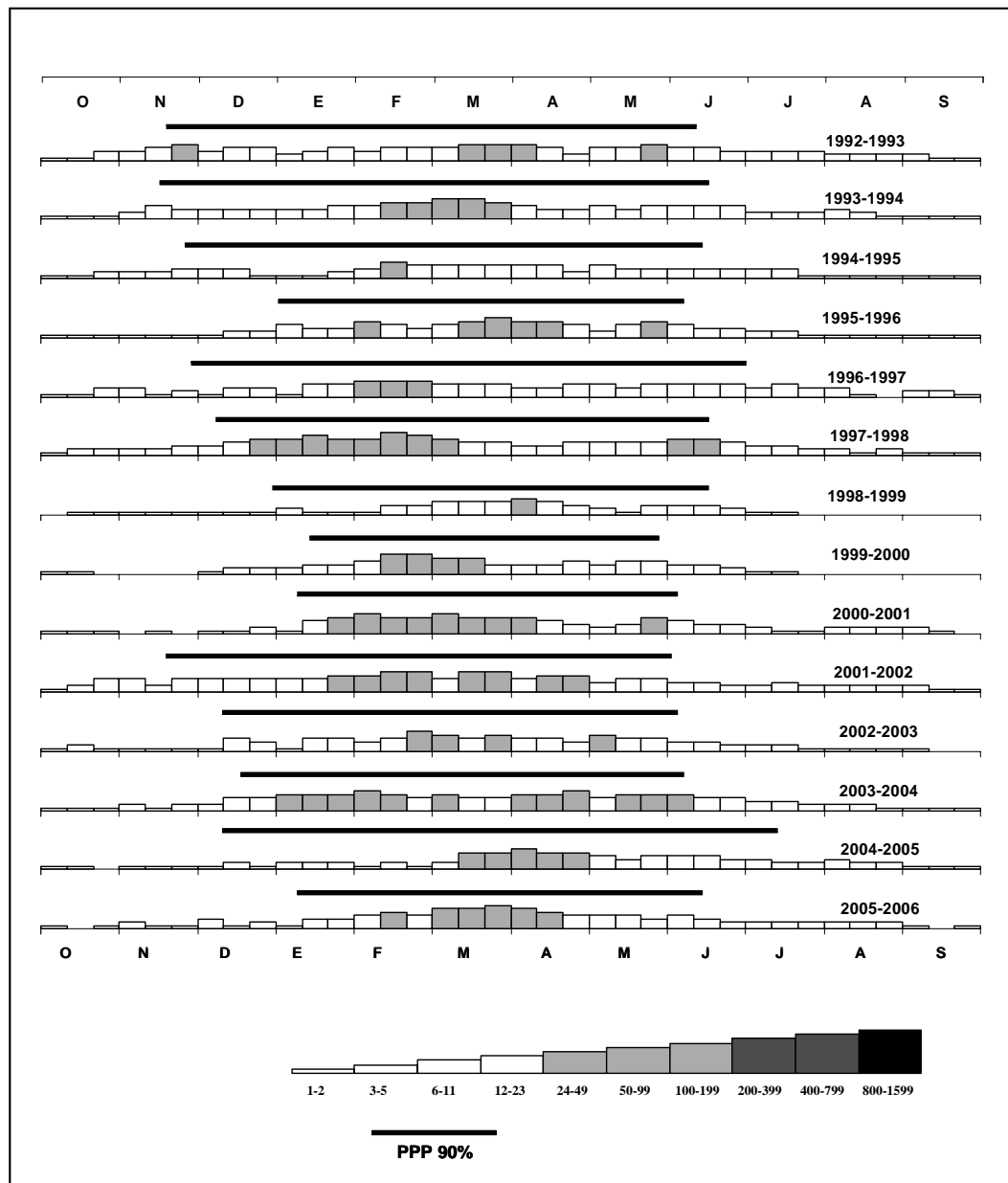


FIG. 1.18. Variación estacional de las concentraciones medias decenales de *Urticaceae* durante el periodo de estudio.

El análisis *Kruskal-Wallis* (TABLA 1.7) ha permitido medir la varianza entre las estaciones polínicas de *Urticaceae*, confirmando la hipótesis de que el comportamiento interanual ha sido muy inestable ( $P \leq 0,001$ ) debido principalmente a que su PPP ha sido muy irregular a lo largo de los años a pesar de su continuada presencia en la atmósfera de Granada.

Kruskal-Wallis	Rango promedio <sup>1</sup>	Rango promedio <sup>2</sup>	N	g.l.	Chi-cuadrado	P <sub>≤</sub>
<i>Urticaceae</i>	170,57	318,07	540	14	35,87	0,001

TABLA 1.7. Test de Kruskal-Wallis: comparación de promedios entre datos decenales interanuales (1992-2006). <sup>1</sup>Rango promedio mínimo; <sup>2</sup>Rango promedio máximo.

### *Chenopodiaceae* Vent./*Amaranthaceae* Juss. -Cenizos, Quenopodios-

#### Tipo polínico *Chenopodiaceae/Amaranthaceae*

Tipo polínico propio de los táxones pertenecientes a las familias *Chenopodiaceae* y *Amaranthaceae*. En la provincia de Granada son frecuentes los géneros *Chenopodium* y *Amaranthus* de comunidades ruderales, nitrófilas. Otros géneros como *Atriplex*, *Salicornia* o *Sarcocornia* viven en sustratos con alta concentraciones de sales, principalmente en la zona nordeste de la provincia.

**Época de floración:** Las distintas especies que forman estas familias presentan una floración que se extiende desde primavera hasta otoño, en el caso de *Chenopodiaceae*, o desde verano hasta inicio del invierno para *Amaranthaceae*.

**Polinización:** Anemófila

**Morfología polínica:** (Lámina 1.1.E1-E3)

**SIMETRÍA Y FORMA:** Apolar, con simetría radial; circular (P/E= 1), contorno más o menos ondulado-festoneado al corte óptico.

**TAMAÑO:** Pequeño a mediano, D= 14-30 μm.

**APERTURAS:** Polen polipantoporado. Aperturas simples de tipo poro, muy numerosas (de 25 a 59), formando círculos concéntrico por toda la superficie, con un diámetro de aproximadamente 1,39-6,62 μm; membrana apertural granulada.

**PAREDES:** Exina de 2-2,5 μm de grosor, con sexina tan gruesa como la nexina. Tectum completo; infratectum columelado, con columelas gruesas y numerosas.

**ORNAMENTACIÓN:** Superficie equinulada y punteada, con perforaciones distanciadas, sólo visibles al MEB.



**Variación interanual.** El gráfico interanual (FIG. 1.19) muestra que durante los 15 años de estudio se ha registrado un ligero descenso en la producción polínica, especialmente observable desde 1992, donde se registraron 1.658 granos/m<sup>3</sup>, hasta 2000 en el que los valores alcanzan sólo 362 granos/m<sup>3</sup>. En años posteriores, se advierte una cierta estabilidad en cuanto a las cantidades totales anuales, variando las mismas entre 485 granos/m<sup>3</sup> (2003) y 759 granos/m<sup>3</sup> (2006). El análisis de regresión muestra que

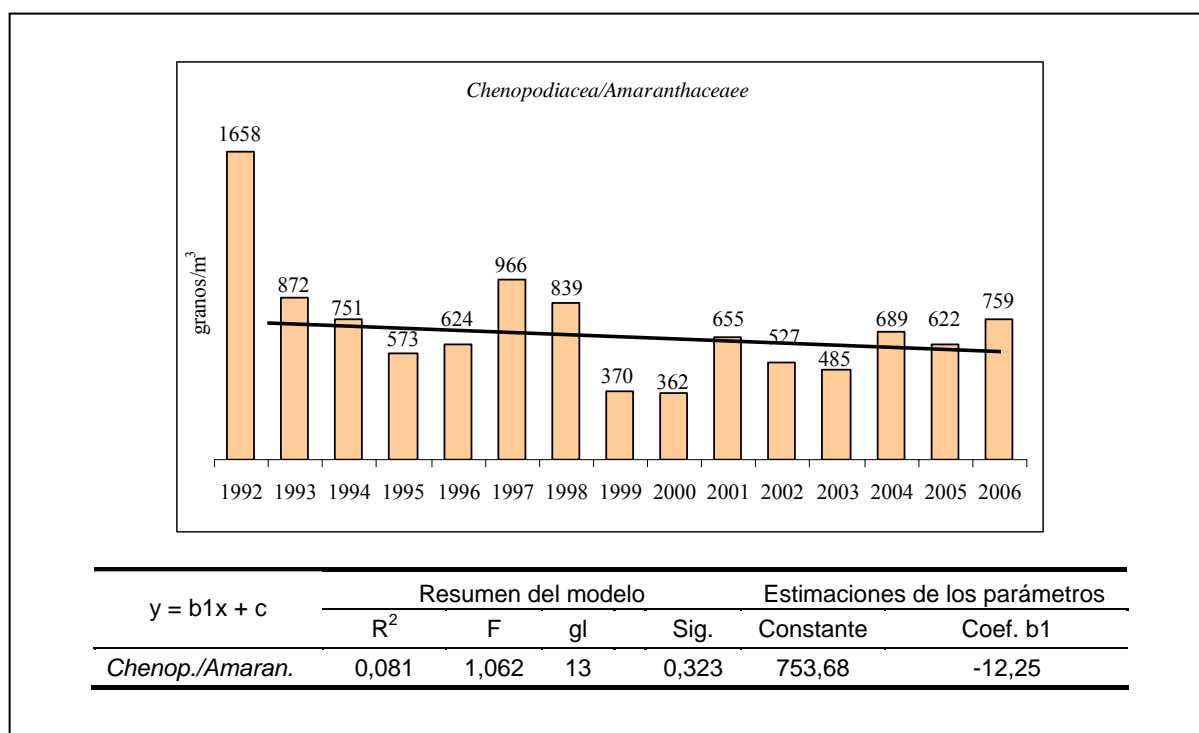


FIG. 1.19. Evolución interanual del polen de *Chenopodiaceae/Amaranthaceae* (1992-2006). Análisis de tendencias: Test de Regresión.

efectivamente la producción polínica tiende a disminuir levemente a lo largo del periodo de estudio.

**Variación estacional.** El cálculo de la estación principal al 95% revela que la variación estacional (FIG. 1.20) se mantiene relativamente estable a lo largo del estudio. El PPP comienza en mayo y generalmente finaliza en octubre. La longitud del periodo de polinación es muy extensa, en valores promediados se han contabilizado 184 días.

En su estacionalidad se observa que existen dos periodos claramente diferenciados, el primero en los meses de abril a junio de bajas concentraciones, atribuible a especies de la familia *Chenopodiaceae*, y el segundo (julio-octubre) de niveles más elevados aplicable a la familia *Amaranthaceae*. Los niveles decenales máximos se han alcanzado en los años 1992 y 1993 con valores incluidos en la clase exponencial 50-99 granos/m<sup>3</sup>.

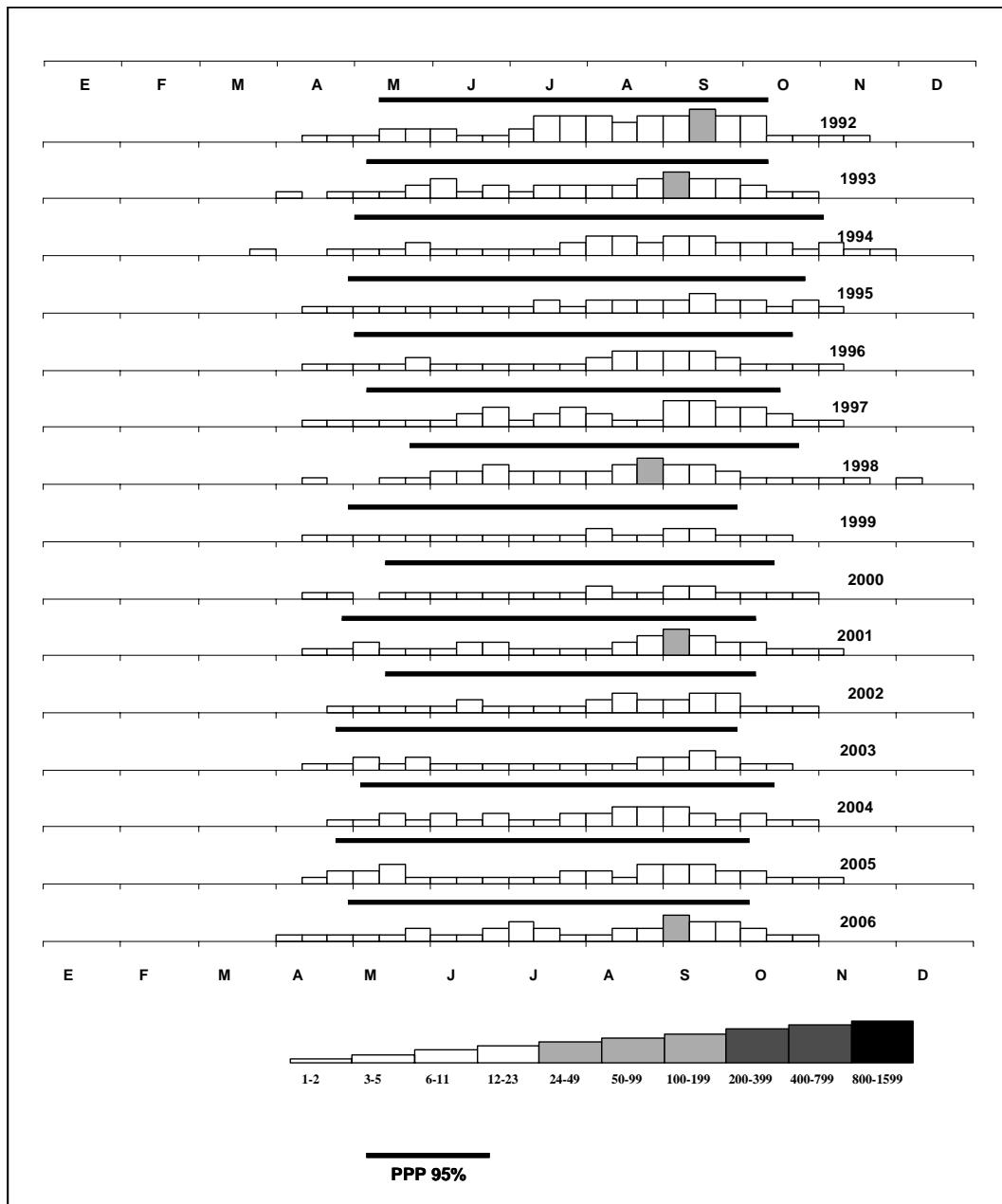


FIG. 1.20. Variación estacional de las concentraciones medias decenales de *Chenopodiaceae/ Amaranthaceae* durante el periodo de estudio.

La prueba de *Kruskal-Wallis* (TABLA 1.8) corrobora la estabilidad inter-estacional señalada anteriormente, por lo que aceptamos la hipótesis de que no existen diferencias significativas entre las distintas dinámicas estacionales.

Kruskal-Wallis	Rango promedio <sup>1</sup>	Rango promedio <sup>2</sup>	N	g.l.	Chi-cuadrado	P <sub>≤</sub>
<i>Chenop./Amaran.</i>	234,82	307,00	540	14	12,28	0,584

TABLA 1.8. *Test de Kruskal-Wallis*: comparación de promedios entre datos decenales interanuales (1992-2006). <sup>1</sup>Rango promedio mínimo; <sup>2</sup>Rango promedio máximo.

## **Artemisia L.**

-Artemisia, Boja, Tomillo negro-

### Tipo polínico *Artemisia*

Se incluye sólo el polen del género *Artemisia* representado por las especies *A. barrelieri* y *A. campestris*, localizadas de forma abundante en tomillares nitrófilos. Con una distribución más puntual, también se puede encontrar otras especies como *A. herba-alba* en zonas áridas o *A. absintium* y *A. granatensis* en las altas cumbres de S<sup>a</sup> Nevada.

**Época de floración:** *A. campestris* florece desde julio a noviembre, mientras que *A. barrelieri* tiene un periodo de floración más tardío desde noviembre a enero.

**Polinización:** Anemófila

**Morfología polínica:** (Lámina 1.2.F1-F3)

**SIMETRÍA Y FORMA:** Isopolar, con simetría radial; subcircular, en visión ecuatorial; de circular-lobulado a subtriangular en visión polar. Oblado-Esferooidal, con P/E= 0,98.

**TAMAÑO:** Pequeño o ligeramente mediano; P= 17-26 (23,5 ± 1,8) µm; E= 19-26 (24 ± 1,6) µm.

**APERTURAS:** Polen tri-zonocolporado, a veces bi-sincolporado o hexa-pantocolporado. Ectoaperturas de tipo colpo, terminales, estrechas; endoaperturas de tipo poro, lalongadas, con los extremos agudos, constreñidas en la zona media; membrana apertural escábrida.

**PAREDES:** Exina en general más gruesa en la mesocolpia que en los polos: de 2-4,5 µm en la mesocolpia, en la que la sexina en general es tres veces más gruesa que la nexina, y de 1-3 µm en los polos donde la sexina es dos veces más gruesa que la nexina. Téctum completo; infratécum columulado.

**ORNAMENTACIÓN:** Superficie equinulado-granulada, con elementos ornamentales siempre de menos de 1 µm (MEB).



**Variación interanual.** Para estudiar las concentraciones interanuales de *Artemisia* (FIG. 1.21) no se han considerado años naturales, sino los meses comprendidos entre mayo y abril; los resultados revelan que la producción polínica anual ha oscilado de forma considerable a lo largo del estudio. Previsiblemente, los registros de polen están relacionados con el volumen de precipitaciones caídas, de forma que en los periodos de otoño-invierno con mayor déficit hídrico (1995, 1999 y 2000) la producción es baja (105, 8 y 189 granos/m<sup>3</sup>); por el contrario, cuando la pluviosidad es generosa (1996, 1998 y 2001)

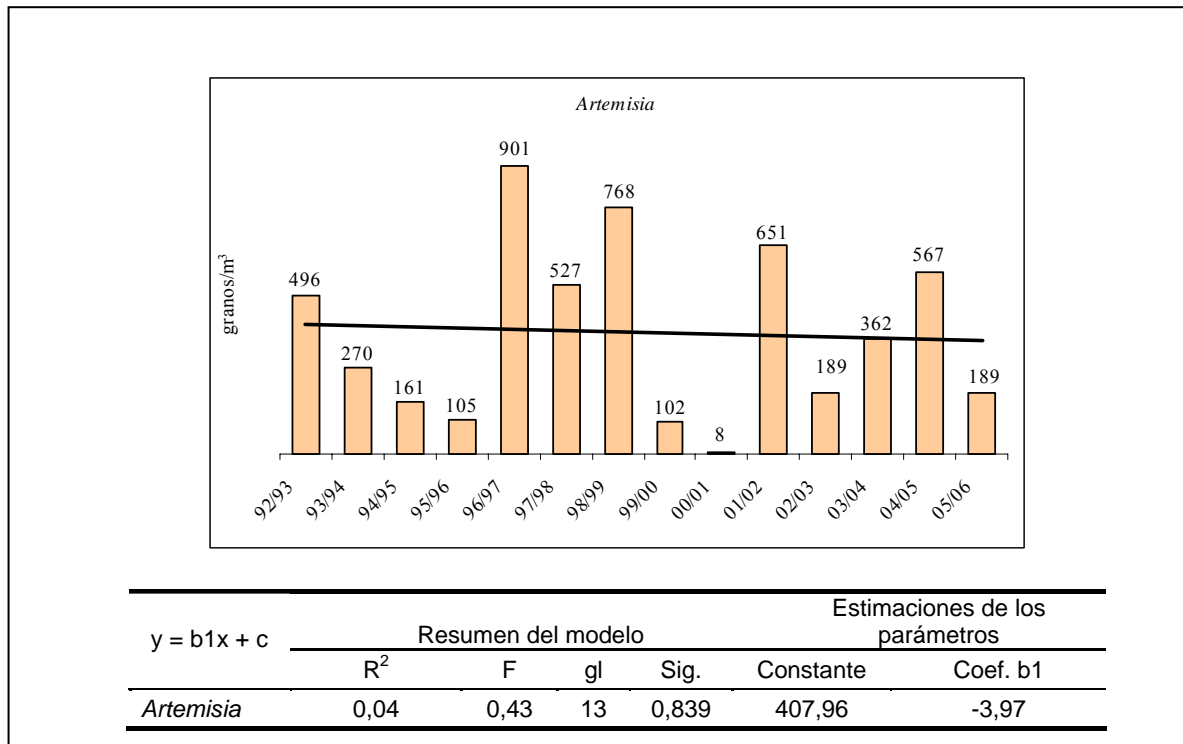


FIG. 1.21. Evolución interanual del polen de *Artemisia* (1992-2006). Análisis de tendencias: Test de Regresión.

se contabilizan cifras más elevadas (901, 768 y 651 granos/m<sup>3</sup>). El análisis de regresión indica una inapreciable tendencia a la baja debida a las fluctuaciones interanuales.

**Variación estacional.** El periodo de máxima polinación (90%) indica que este taxon (FIG. 1.22) tiene un comportamiento estable en los años estudiados en cuanto al desarrollo del PPP. Éste comienza generalmente en el mes de agosto y finaliza en diciembre; su extensión media es 150 días.

Si analizamos comparativamente las estaciones, observamos patrones muy dispares, posiblemente ligados a presencia de precipitaciones. A pesar de ello, la dinámica estacional de este taxon describe dos periodos claramente diferenciados, uno usualmente con niveles más bajos, que se desarrolla entre agosto y septiembre, atribuible a *A. campestris*, y otro con niveles más elevados desarrollado en noviembre-enero debido a la polinación de *A. barrelieri*. El año 1996 es el único en el que se alcanza la máxima clase exponencial de 50-99 granos/m<sup>3</sup> en la última decena de octubre.

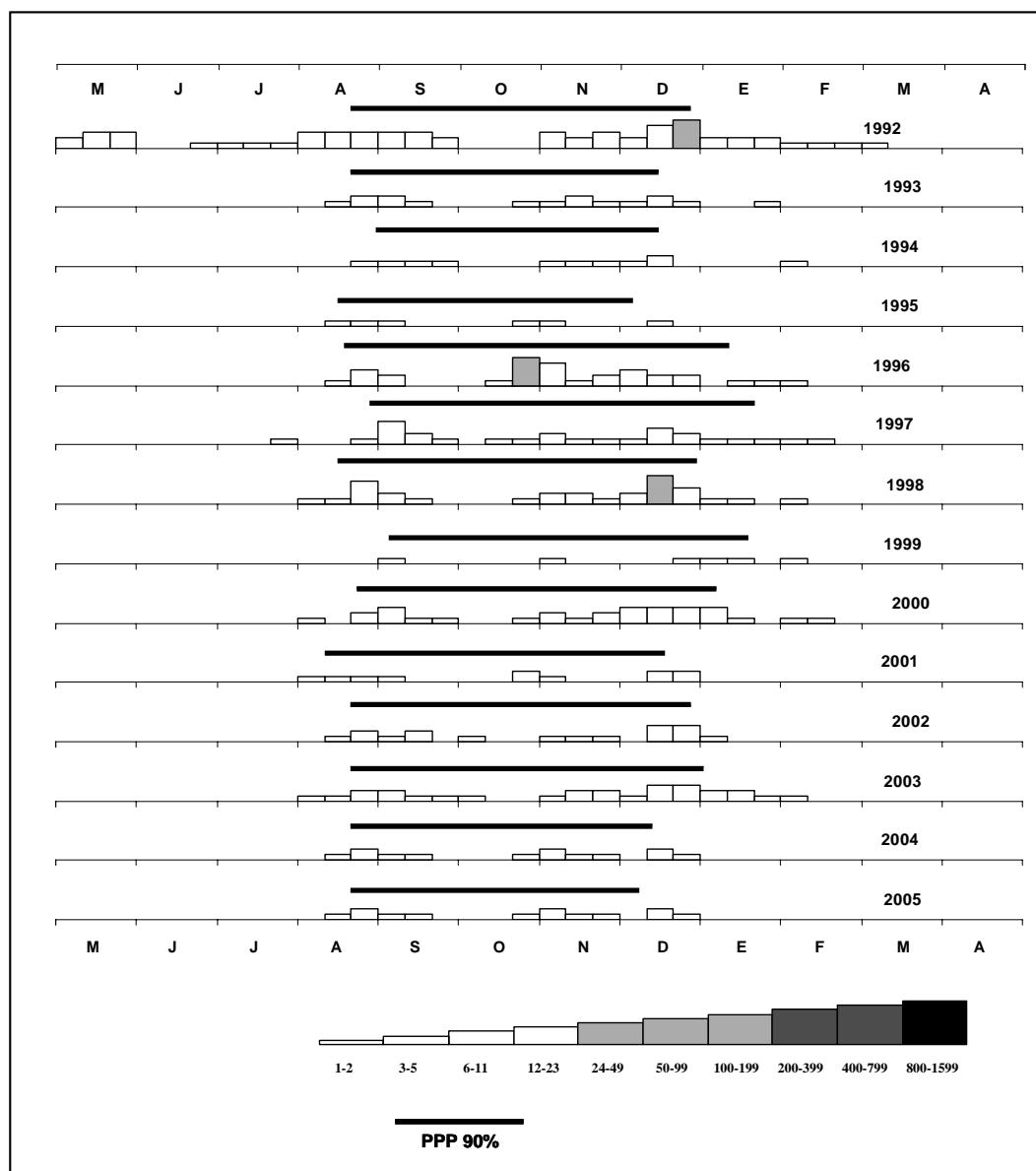


FIG. 1.22. Variación estacional de las concentraciones medias decenales de *Artemisia* durante el periodo de estudio.

La prueba de *Kruskal-Wallis* (TABLA 1.9) obtiene  $P \leq 0,000$ , ratificando de esta forma que la dinámica de *Artemisia* es irregular y muestra variaciones significativas a lo largo del estudio.

<b>Kruskal-Wallis</b>	Rango promedio <sup>1</sup>	Rango promedio <sup>2</sup>	N	g.l.	Chi-cuadrado	$P \leq$
<i>Artemisia</i>	168,36	385,43	540	14	50,02	0,000

TABLA 1.9. *Test de Kruskal-Wallis*: comparación de promedios entre datos decenales interanuales (1992-2006). <sup>1</sup>Rango promedio mínimo; <sup>2</sup>Rango promedio máximo.

***Platanus L.***

-Plátano de paseo, Plátano de sombra-

**Tipo polínico *Platanus***

Tipo polínico que incluye solo al género *Platanus* estando únicamente representado por la especie *P. hybrida* en la ciudad de Granada. Es un árbol de crecimiento rápido que tolera bien los ambientes muy contaminados, lo que en parte le ha convertido en un árbol de extensivo uso ornamental.

**Época de floración:** Esta especie tiene un periodo de floración muy corto desarrollado entre la segunda mitad de marzo y la primera de abril.

**Polinización:** Anemófila

**Morfología polínica:** (Lámina 1.2.G1-G3)

**SIMETRÍA Y FORMA:** Isopolar, con simetría radial, oblato-esferoidal ( $P/E = 0,89$ ) subtriangular a subcircular en visión polar; planaperturado a sinaperturado.

**TAMAÑO:** Pequeño,  $P = 17-20 (18,6 \pm 0,5) \mu\text{m}$ ,  $E = 19-24 (21,0 \pm 1,3) \mu\text{m}$ .

**APERTURAS:** Polen trizonocolpado, aperturas simples de tipo colpo, subterminales, anchos, membrana apertural granulada.

**PAREDES:** Exina de  $1,5-2 \mu\text{m}$  de grosor; relación  $\text{sex}/\text{nex} = 2/1$ . Tectum parcial, infratectum columelado.

**ORNAMENTACIÓN:** Superficie reticulada, con lúmenes irregulares y muros apiculados en los ángulos (MEB).



**Variación interanual.** La producción de polen de *Platanus* (FIG. 1.23) ha presentado unos niveles más bajos ( $1.055-2.000 \text{ granos}/\text{m}^3$ ) en los años centrales y mucho más elevados ( $3.590-4.472 \text{ granos}/\text{m}^3$ ) a principio y finales del periodo de estudio. Destaca el año 2006 con  $5.152 \text{ granos}/\text{m}^3$ . El descenso en 1994-2001 se atribuye por un lado a las podas excesivas a las que se ven sometidos estos árboles y por otro a las lluvias acaecidas durante la polinación de este taxon. La curva de tendencia, realizada mediante Test de Regresión con ajuste curvilíneo, describe una parábola, con un claro aumento en la producción polínica en los últimos años.

**Variación estacional.** El PPP de *Platanus* se caracteriza por ser muy efímero (FIG. 1.24) iniciándose, generalmente, en la primera o segunda decena de marzo y finalizando en la primera quincena del mes de abril. Cabe destacar el retraso sufrido en el inicio de la floración (1996, 2003 y 2005) como consecuencia de las intermitentes precipitaciones



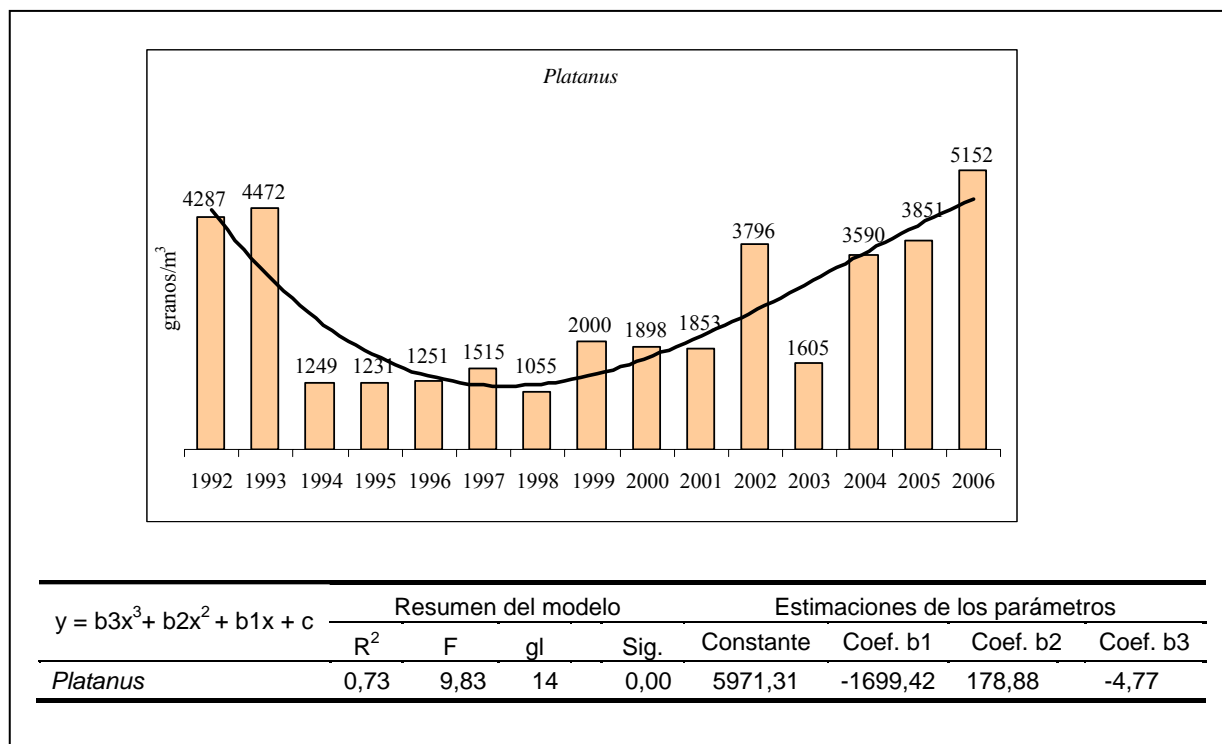


FIG. 1.23. Evolución interanual del polen de *Platanus* (1992-2006). Análisis de tendencias: Test de Regresión.

acaecidas a principios de marzo.

El comportamiento estacional ha sido muy estable a lo largo de los años, alcanzando concentraciones medias decenales máximas correspondientes a la clase exponencial 400-799 granos/m<sup>3</sup> en 1992-1993 y 2004-2006, siempre durante la última decena de marzo.

El análisis de la varianza *Kruskal-Wallis* (TABLA 1.10) confirma la estabilidad en la evolución estacional de este taxon, no mostrando grandes diferencias entre los datos decenales interanuales (1992-2006).

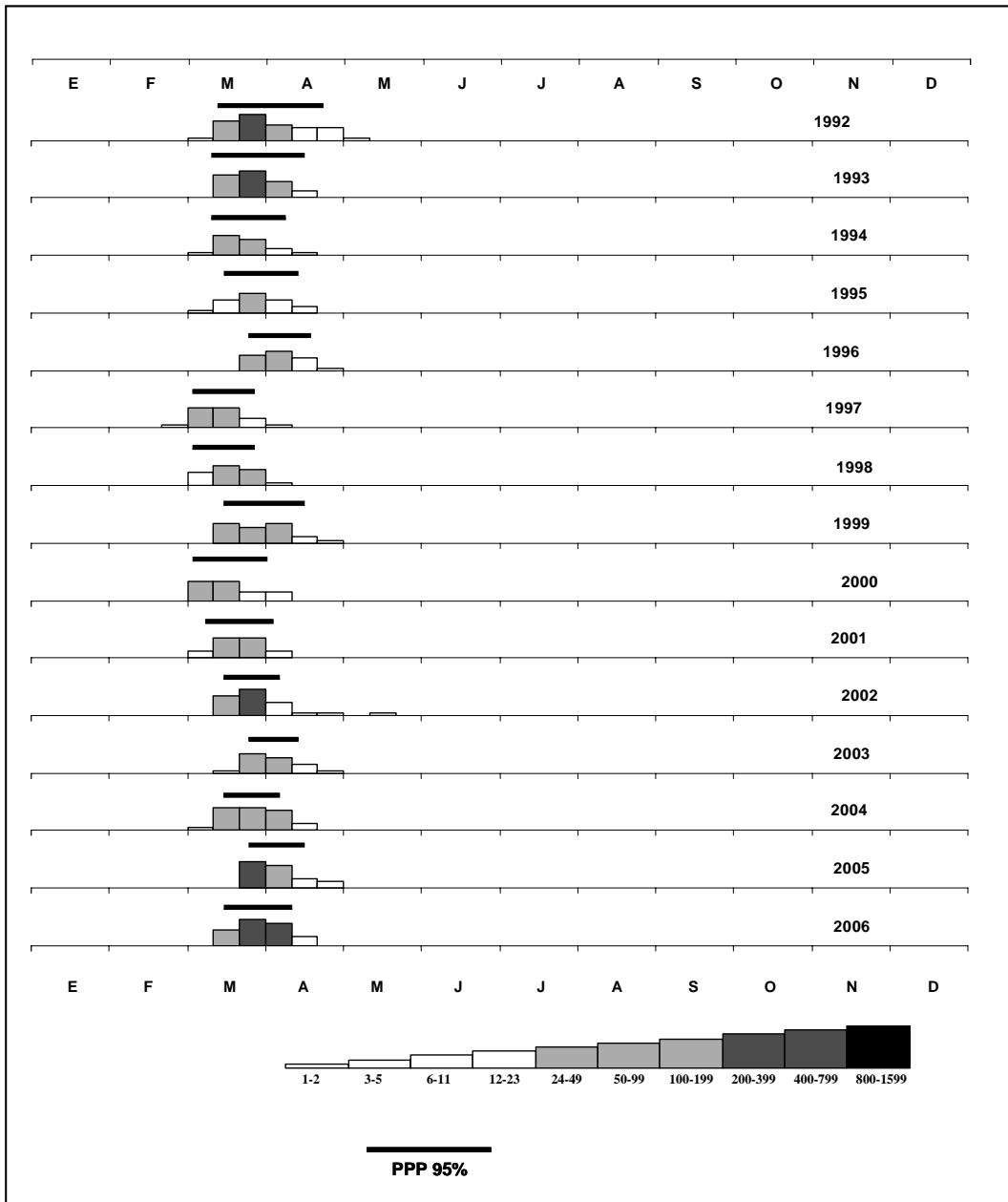


FIG. 1.24. Variación estacional de las concentraciones medias decenales de *Platanus* durante el periodo de estudio.

Kruskal-Wallis	Rango promedio <sup>1</sup>	Rango promedio <sup>2</sup>	N	g.l.	Chi-cuadrado	P <sub>≤</sub>
<i>Platanus</i>	249,39	287,17	540	14	4,79	0,988

TABLA 1.10. *Test de Kruskal-Wallis*: comparación de promedios entre datos decenales interanuales (1992-2006). <sup>1</sup>Rango promedio mínimo; <sup>2</sup>Rango promedio máximo.

***Plantago* L.**

-Plantagos, Llantenes-

**Tipo polínico *Plantago***

Se incluye sólo el polen del género *Plantago* representado por numerosas especies como *P. major*, *P. lanceolata*, *P. lagopus*, *P. coronopus*, etc. las cuales poseen un comportamiento ruderal-arvense, desarrollándose sobre suelos nitrificados y frescos. Son muy frecuentes en los alrededores de la ciudad.

**Época de floración:** Las diversas especies que forman este grupo poseen un periodo de floración relativamente amplio desarrollado desde marzo a junio-julio.

**Polinización:** Anemófila

**Morfología polínica:** (Lámina 1.2.H1-H3)

**SIMETRÍA Y FORMA:** Apolar, con simetría radial, circular, esferoidal con P/E= 1.

**TAMAÑO:** Pequeño a mediano; D= 19-35  $\mu\text{m}$ .

**APERTURAS:** Polen pantoporado, con aperturas simples de tipo anillo, en número de 4 a 14 y de 3-4  $\mu\text{m}$  de diámetro; membrana apertural granulada.

**PAREDES:** Exina de 2  $\mu\text{m}$  de grosor, con sexina más gruesa que la nexina. Téctum completo; infratéctum columelado.

**ORNAMENTACIÓN:** Superficie con gránulos más densos en la proximidad de las aperturas, resultando un polen escrábido (MEB).



**Variación interanual.** El gráfico de producción interanual de *Plantago* (FIG. 1.25) describe un patrón irregular alternándose años con elevada producción de polen con otros de valores muy bajos. Al igual que otras plantas herbáceas, *Plantago* florece cuando la humedad edáfica es suficiente para completar su ciclo biológico. Así, cuando las precipitaciones han sido escasas (1995, 1999 y 2005) las concentraciones de polen registradas fueron muy bajas (85, 92 y 140 granos/m<sup>3</sup>, respectivamente); en años más lluviosos se obtienen cifras significativamente mayores, desde 290 granos/m<sup>3</sup> (2000) a 634 granos/m<sup>3</sup> (1992). El análisis de regresión indica que *Plantago* presenta una tendencia sinuosa, por lo que sus predicciones de futuro serían poco fidedignas.

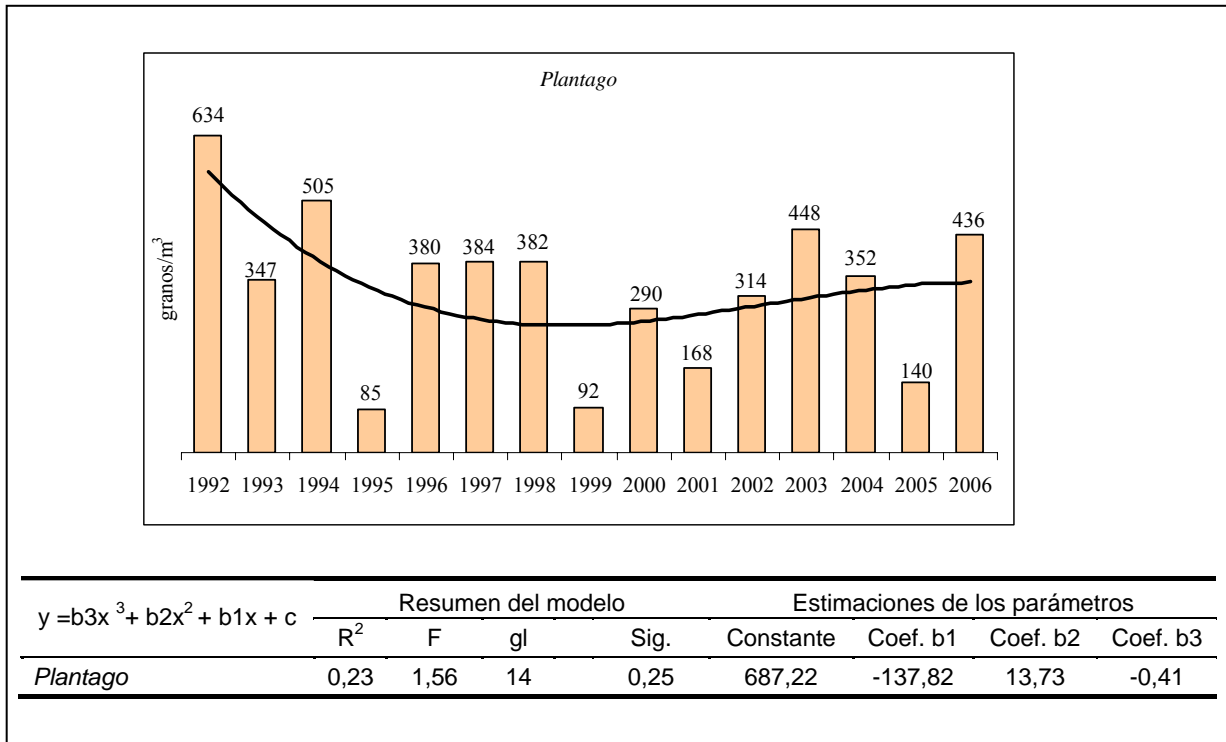


FIG. 1.25. Evolución interanual del polen de *Plantago* (1992-2006). Análisis de tendencias: Test de Regresión.

**Variación estacional** (FIG. 1.26). El PPP (95%) se desarrolla entre los meses de abril-mayo (junio); a pesar de que las fechas de inicio y fin, así como la extensión están sujetas a un umbral de lluvia acumulada, a lo largo del estudio, este tipo polínico presenta una estacionalidad muy estable, comenzando a finales del mes de marzo y finalizando en junio (julio) durante 1992, 1997, 1998 y 2003.

La evolución estacional de *Plantago* muestra una distribución desigual con respecto a la intensidad polínica. Hemos de destacar que tan solo en los años 1992, 1994 y 1996 las concentraciones decenales registradas han logrado la clase máxima exponencial de este tipo polínico, con 24-49 granos/m<sup>3</sup>.

Con la prueba de *Kruskal-Wallis* (TABLA 1.11) se concluye que estadísticamente no existen diferencias significativas entre los años de muestreo, debido a la citada estacionalidad de su periodo de máxima polinación.

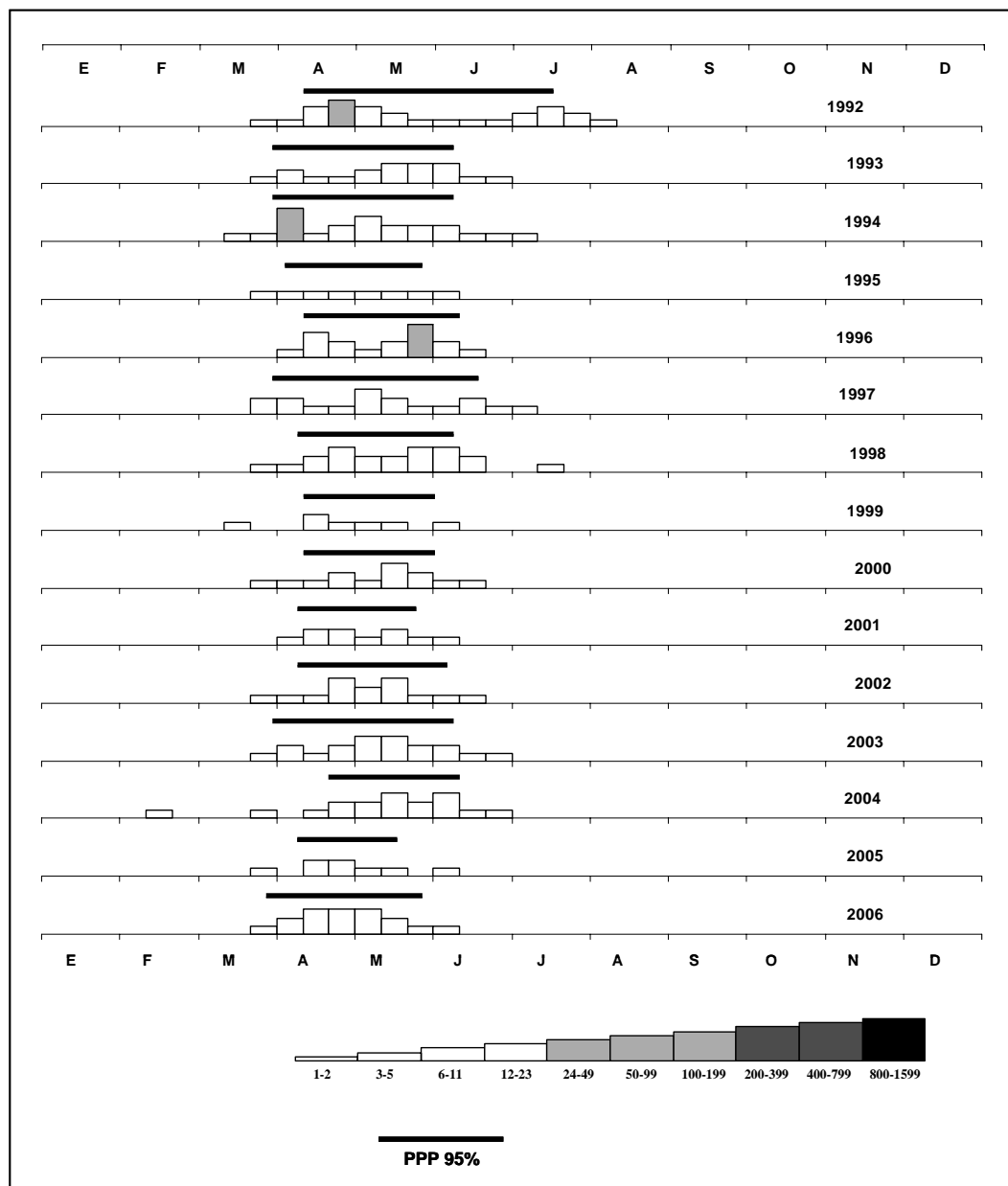


FIG. 1.26. Variación estacional de las concentraciones medias decenales de *Plantago* durante el periodo de estudio.

Kruskal-Wallis	Rango promedio <sup>1</sup>	Rango promedio <sup>2</sup>	N	g.l.	Chi-cuadrado	P <sub>≤</sub>
<i>Plantago</i>	235,33	308,46	540	14	16,88	0,262

TABLA 1.11. *Test de Kruskal-Wallis*: comparación de promedios entre datos decenales interanuales (1992-2006). <sup>1</sup>Rango promedio mínimo; <sup>2</sup>Rango promedio máximo.

**Populus L.**

-Chopo, Álamo-

**Tipo polínico *Populus***

Se incluye sólo el polen del género *Populus* representado por las especies *P. alba*, *P. nigra* o *P. tremula*. Se encuentran asociados a cursos de agua, formando parte de bosques en galería, como especies ornamentales en parques y márgenes de las carreteras o cultivados de forma intensiva en la Vega del río Genil para la obtención de madera.

**Época de floración:** Florece generalmente entre febrero y marzo aunque *P. tremula* prolonga su floración hasta abril.

**Polinización:** Anemófila

**Morfología polínica:** (Lámina 1.2.I1-I3)



**SIMETRÍA Y FORMA:** Apolar, con simetría radial; radial-circular en visión polar, inaperturado; esferoidal con  $P/E=1$ .

**TAMAÑO:** Pequeño a mediano;  $D=22-30\ \mu\text{m}$ .

**APERTURAS:** Polen inaperturado.

**PAREDES:** Exina de  $1,5-2\ \mu\text{m}$  de grosor, con sexina aproximadamente dos veces más gruesa que la nexina. Tectum parcial; infratectum columelado.

**ORNAMENTACIÓN:** Superficie densamente granular, los cuales pueden anastomosarse por lo que la superficie adopta una ornamentación reticulada, con lúmenes pequeños y muros anchos e irregulares (MEB).

**Variación interanual.** La FIG. 1.27 indica que la producción anual de *Populus* presenta un patrón algo irregular, especialmente observable en 1994 y 2006 donde los registros se duplican o triplican ( $2.019$  y  $2.501\ \text{granos/m}^3$ ) con respecto a otros años de valores muy bajos como 1997-1999 ( $452-526\ \text{granos/m}^3$ ) o 2003 ( $679\ \text{granos/m}^3$ ). Este hecho, al igual que sucedía con *Platanus*, probablemente esté ligado a las podas excesivas que se realizan a los Álamos utilizados como ornamentales en los jardines de la ciudad de Granada. El análisis de regresión muestra que los registros polínicos de este taxon podrían predecirse gracias a una curva polinomial de tercer grado, describiendo una trayectoria ascendente en estos últimos años.

**Variación estacional.** La variación estacional (FIG. 1.28) refleja que este taxon presenta un patrón relativamente estable. El PPP es muy corto, con un promedio de 32 días. El periodo de máxima polinación generalmente se inicia a mediados de febrero y finaliza en marzo siendo las estaciones de 1992, 1997 y 2005 las más cortas con una

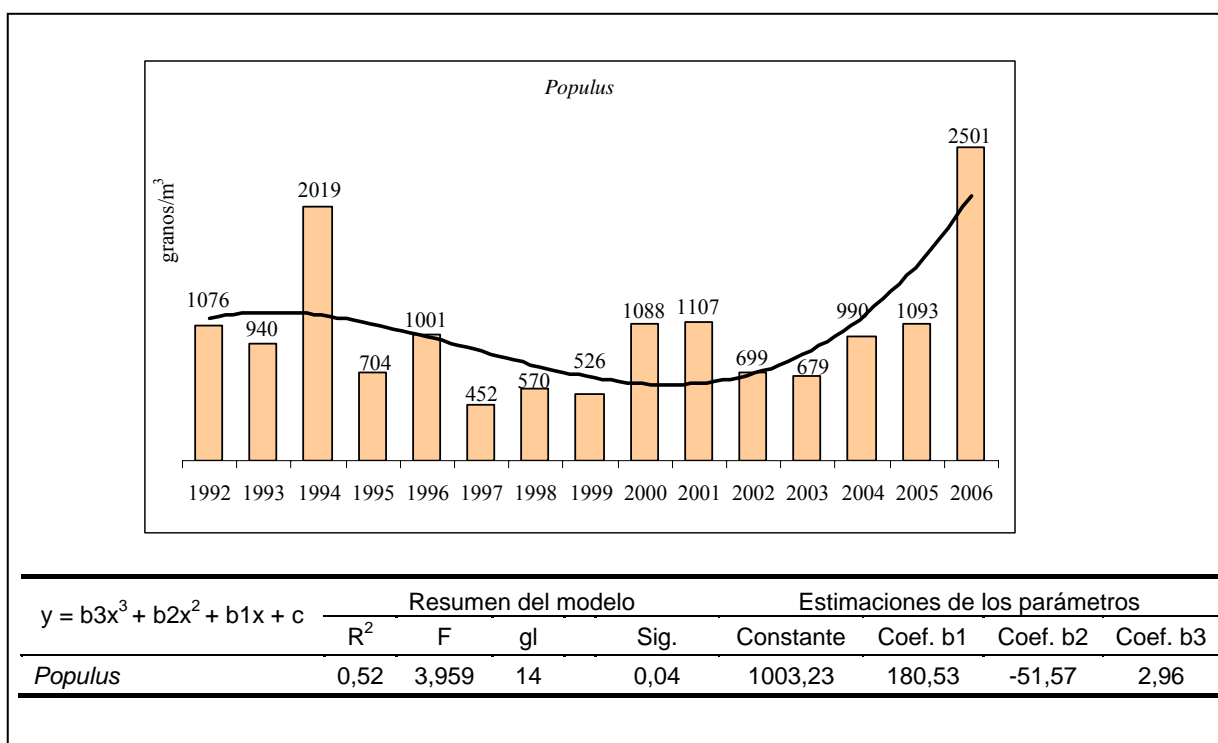


FIG. 1.27. Evolución interanual del polen de *Populus* (1992-2006). Análisis de tendencias: Test de Regresión.

duración de apenas 30 días. Las de 1999 y 2002 se caracterizan por iniciar de forma temprana la floración (principios de febrero). Las máximas concentraciones siempre se alcanzan en el mes de marzo. Por lo tanto *Populus* es un taxon que presenta un PPP muy similar y estable, destacando que solamente en 2006 se alcanzó el valor máximo exponencial de 200-399 granos/m<sup>3</sup>.

El análisis de la varianza *Kruskal-Wallis* (TABLA 1.12) confirma que no existen grandes diferencias entre los datos decenales de concentraciones polínicas de *Populus* durante el periodo de estudio (1992-2006).

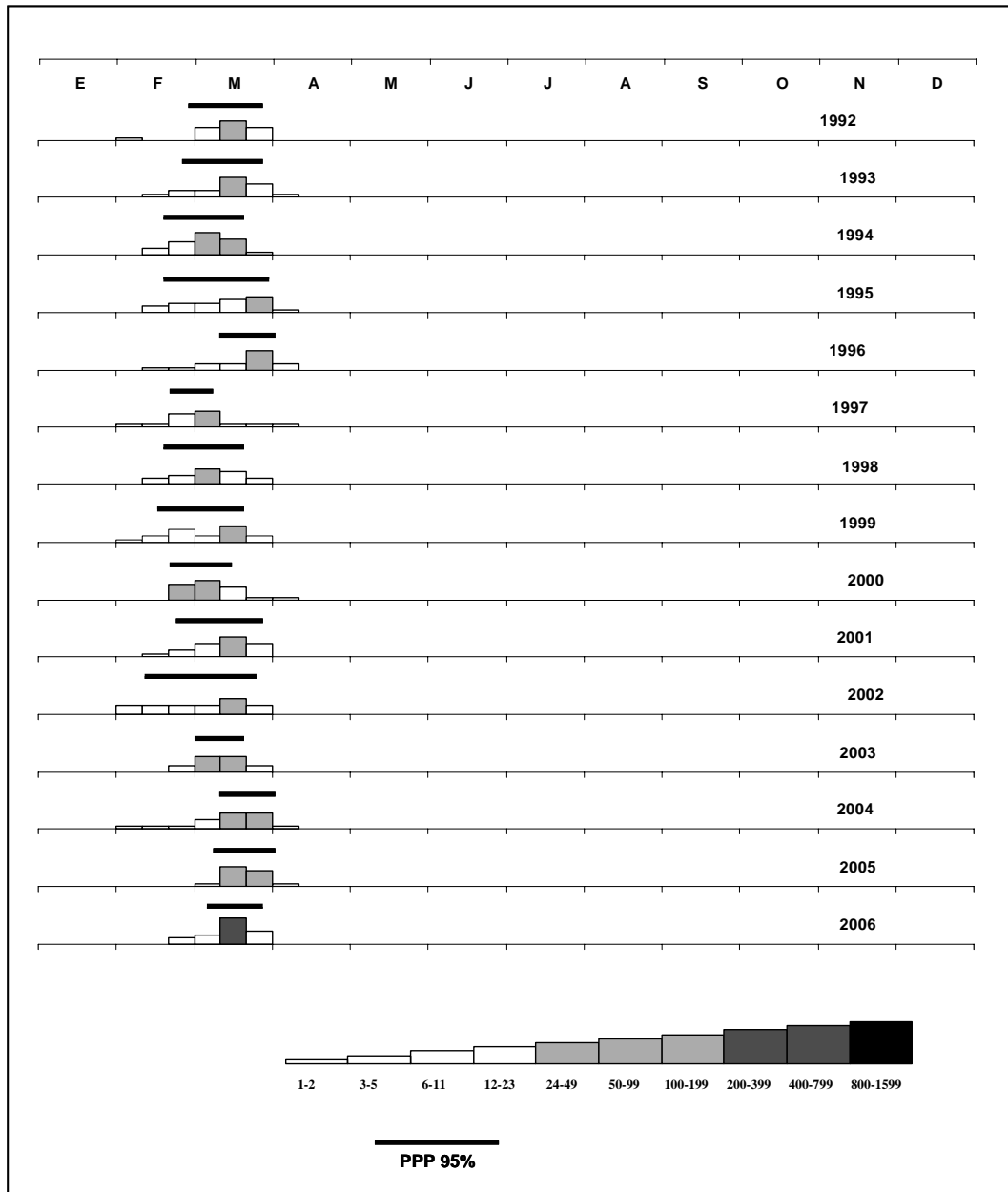


FIG. 1.28. Variación estacional de las concentraciones medias decenales de *Populus* durante el periodo de estudio.

Kruskal-Wallis	Rango promedio <sup>1</sup>	Rango promedio <sup>2</sup>	N	g.l.	Chi-cuadrado	P ≤
<i>Populus</i>	249,61	296,26	540	14	6,23	0,960

TABLA 1.12. Test de Kruskal-Wallis: comparación de promedios entre datos decenales interanuales (1992-2006). <sup>1</sup>Rango promedio mínimo; <sup>2</sup>Rango promedio máximo.





## **1.6. DISCUSIÓN**



A lo largo de los quince años de análisis aerobiológico en la ciudad de Granada, se ha puesto de manifiesto importantes cambios de tipo cuantitativo, sobre todo en lo referente al contenido de polen total anual de los nueve tipos polínicos estudiados en esta Tesis Doctoral.

Numerosos investigadores han demostrado que las concentraciones polínicas en el aire no sólo dependen de los procesos fisiológicos de la planta o de las interacciones con el medio sobre el que se desarrollan, sino que además, éstas pueden explicarse por otros factores extrínsecos, como la presión antrópica o las cambiantes condiciones meteorológicas, las cuales pueden influir tanto en los ciclos anuales como estacionales de la polinación (Emberlin *et al.*, 1993; Spieksma *et al.*, 1995; Recio *et al.*, 1997; Galán *et al.*, 1998; Alba *et al.*, 2000; Jato *et al.*, 2000; Díaz de la Guardia *et al.*, 2003; Alba *et al.*, 2003; Jones & Harrison, 2004; Díaz de la Guardia *et al.*, 2006). Sin embargo, todos estos parámetros no afectan ni mediatizan de la misma forma a todos los táxones. Algunos procesos como la producción, emisión y dispersión pueden explicarse por las variables meteorológicas como temperatura, precipitación, humedad e insolación, pero su efecto será diferente en función de características biogeográficas, bioclimáticas, orográficas, distribución de la vegetación y estado fisiológico en el que se encuentra la planta (Díaz de la Guardia *et al.*, 2003).

La Temperatura y la Precipitación son probablemente las variables más determinantes para los ecosistemas de nuestra área de estudio, actuando a nivel de todas las fases del ciclo vital de las plantas como reproducción, fenología, latencia e incluso a nivel de estrés.

El efecto positivo de la Temperatura sobre las emisiones polínicas de distintos táxones tanto herbáceos como leñosos, ha sido puesto de manifiesto por numerosos autores (Recio *et al.*, l.c.; Galán *et al.*, 2000; Jato *et al.*, l.c.; Díaz de la Guardia *et al.*, 2006); coincidiendo con ellos, en el análisis realizado en esta Tesis Doctoral se observa que las temperaturas apenas han variado a lo largo del estudio (FIG. 1.6) excepto los valores mínimos, los cuales, en los últimos tres años han experimentado un aumento de entre 1-3°C, lo que está repercutiendo en un incremento en la producción de polen de algunas familias como *Poaceae* y *Urticaceae*.

En Granada, donde la bonanza térmica permite el óptimo desarrollo de la vegetación, es la limitación hídrica y la irregularidad o falta de predecibilidad de las precipitaciones, el factor que impone una adversidad a los sistemas biológicos. Las plantas del área mediterránea desarrollan ante esta situación mecanismos o adaptaciones que permiten tolerar o evitar la restricción hídrica (Valladares *et al.*, 2004). En los resultados obtenidos se muestra que las precipitaciones están disminuyendo paulatinamente (FIG. 1.7), aún siendo un parámetro de difícil predicción. La falta de precisión de cuándo lloverá genera incertidumbre en el comportamiento de las plantas, originando patrones fenológicos muy confusos como es el caso de *Artemisia*, mecanismos de tolerancia, como *Chenopodiaceae/Amaranthaceae* o de restricción en su periodo de floración como *Populus* y *Platanus*.

Como es típico en el área Mediterránea, nos encontramos con periodos de sequía estival al que se le suma años con bajas precipitaciones (1995, 1999 y 2005) y otros con elevados registros centrados en el invierno (1996 y 1997) viéndose por ello afectados fundamentalmente los táxones herbáceos (*Poaceae*, *Urticaceae*, *Artemisia* y *Plantago*) cuyas polinaciones descendieron en los años de sequía y aumentaron en los años lluviosos.

La Humedad relativa puede comportarse de manera positiva cuando se relaciona con lluvias ligeras, o negativa si va acompañada de fuertes periodos de precipitaciones (Emberlin & Norris-Hill, 1991; Díaz de la Guardia *et al.*, 1998). Granada, aún siendo una ciudad de interior, posee una humedad relativa alta principalmente en los tres últimos años donde, a pesar de tratarse de un periodo de escasas precipitaciones (<326 mm), el porcentaje de humedad ha superado el 66,6%, debido a la acumulación de nieblas en la depresión donde se encuentra emplazada la ciudad, así como por la entrada de algunas borrascas. Durante este trienio las concentraciones polínicas en general han sido muy elevadas, a excepción de *Chenopodiaceae/Amaranthaceae* que ha experimentado una pequeña disminución en sus concentraciones.

La Insolación afecta positivamente al contenido polínico en el aire, actuando tanto a nivel de la emisión como de la dispersión del mismo. Aunque en general esta variable es poco predecible, los análisis de *Kruskal Wallis* (FIG. 1.10) revelan que a lo largo del periodo de muestreo, existen variaciones interanuales y estacionales que afectan a especies como *Plantago* y *Populus*.

La evolución total anual de los nueve tipos polínicos estudiados (FIG. 1.29) refleja que los valores totales anuales han variado desde 39.538 granos/m<sup>3</sup> (1992) hasta 56.393 granos/m<sup>3</sup> (2006) lo que supone un aumento del 143% del polen alergógeno en la atmósfera. El periodo comprendido entre 2001-2006 ha sido el de máxima intensidad polínica, siendo por ello los años de mayor riesgo por exposición a estas partículas.

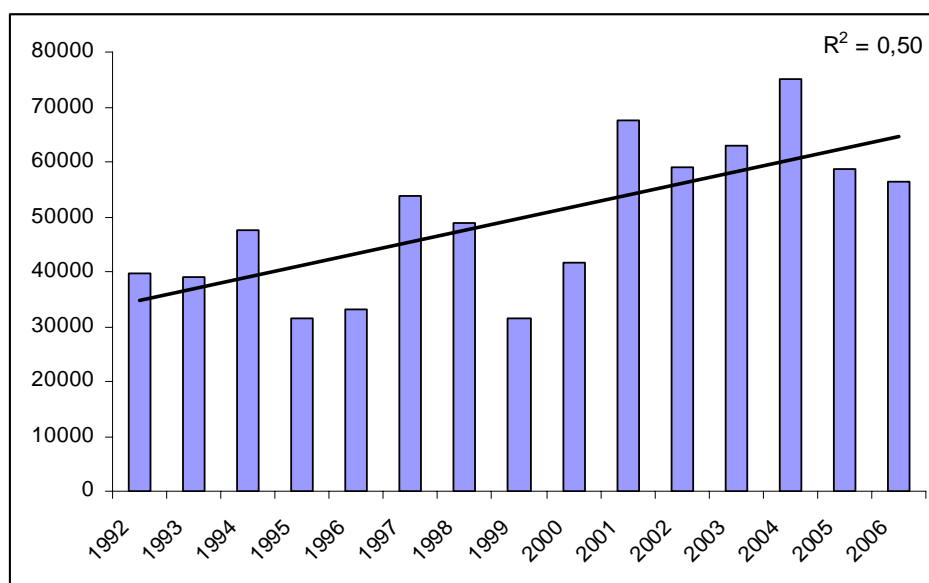


FIG. 1.29. Evolución del total anual de los nueve tipos polínicos.

Uno de los tipos polínicos más abundante en este periodo ha sido *Olea*, el cual representa el 40,5% de los nueve más alergógenos (FIG. 1.30). Este taxon se caracteriza por tener una floración muy intensa y por estar distribuidos sus cultivos en varios pisos bioclimáticos, lo que provoca en Granada una rápida y prolongada contaminación aérea durante la primavera y principios de verano (FIG. 1.12).

Los años 1995 y 1999, caracterizados por una fuerte sequía, fueron los de menor concentración anual (FIG. 1.11). Según Recio *et al.* (1996) y Díaz de la Guardia *et al.* (2003), la lluvia preestacional juega un papel importante en la producción anual de *Olea* de tal forma que cuando se registran años consecutivos sin precipitaciones, la reducción de las reservas hídricas del suelo provoca un severo estrés en la planta que deriva en ciclos de polinación muy irregulares, como los producidos en esos años; mientras que en periodos húmedos, la amplitud térmica se reduce favoreciendo una emisión polínica escalonada (1998, 1999, 2000 y 2001). Además, muy probablemente el incremento en la producción de polen detectado a partir de 2001, donde se registraron los valores máximos

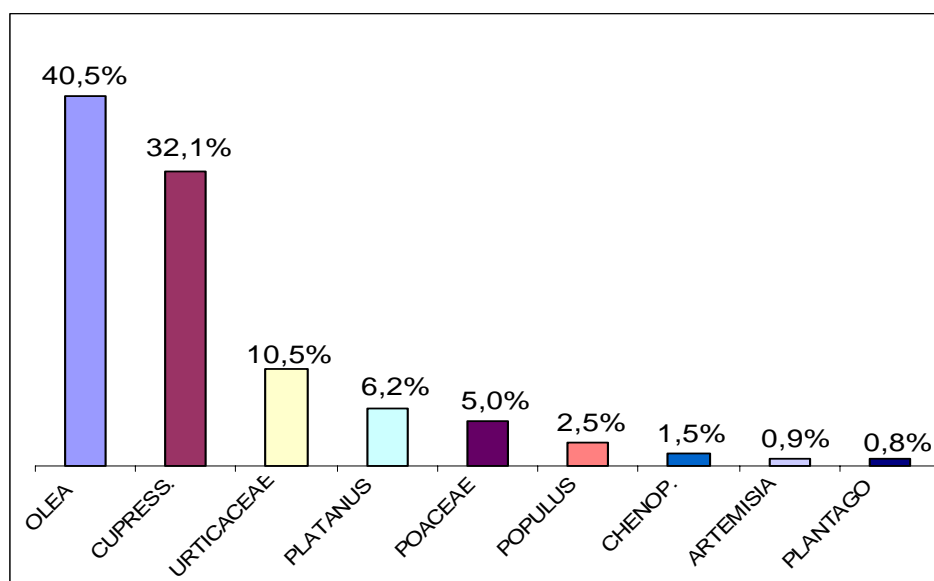


FIG 1.30. Porcentajes de las concentraciones anuales de los nueve tipos polínicos.

exponenciales ( $800-1.599 \text{ granos/m}^3$ ), podría estar relacionado con la ampliación de la superficie dedicada al cultivo del olivar en el sur de la Península Ibérica. El aumento del número de plantaciones se ha visto favorecido por un crecimiento significativo del cultivo oleícola, siendo los rendimientos por hectárea mucho mayores a los existentes hace diez años (Pérez Hernández *et al.*, 2003). Esta alta productividad ha tenido lugar por varios factores, la introducción del regadío en los cultivos, la mejora de la tecnología, las nuevas variedades con un mayor rendimiento, la sustitución de olivares viejos de baja productividad, etc. Sin embargo, con la entrada en la Unión Europea, España se vio afectada por una reforma del olivar en 1998, donde en un principio se realizarían ayudas por número de árbol y no por la producción de aceite y aceituna de mesa. Este cambio en la política europea produjo un considerable aumento de este cultivo en toda España, máxime en Andalucía Oriental, originando que dichos árboles comenzaran a ser rentables dos-tres años después de su implantación. El estudio aerobiológico llevado a cabo en la presente Memoria de Tesis refleja como tres años después de esta reforma, el contenido polínico de *Olea* en la ciudad de Granada aumentó bruscamente en un 195%.

El polen de *Poaceae* representa el 5,0% de los nueve tipos polínicos más alergógenos (FIG. 1.30), mostrando en su evolución interanual (FIG. 1.13) un comportamiento ascendente. Los niveles más elevados se registran en 2004 ( $4.354 \text{ granos/m}^3$ ) coincidiendo

con temperaturas suaves (TABLA 1.3, FIG. 1.6) que favorecieron la emisión gradual de este polen y el incremento de su producción. Para las plantas herbáceas, especialmente aquéllas que florecen antes del verano, se observa una correlación directa entre la producción polínica y las precipitaciones previas a la floración (Recio, 1995). Con los resultados obtenidos, hemos observado que durante los periodos secos y de altas temperaturas se acelera su marchitamiento, de tal forma que *Poaceae* ha presentado registros bajos en 1995 (535 granos/m<sup>3</sup>), 1999 (994 granos/m<sup>3</sup>) y 2005 (841/m<sup>3</sup>), años en los que además se observa un ligero adelanto de la estación principal e incremento de la extensión. Este tipo polínico permanece en el aire durante varios meses (FIG. 1.14), que se inicia en febrero y finaliza en octubre, logrando las máximas concentraciones en mayo y junio (100-199 granos/m<sup>3</sup> alcanzados en 1996 y 2004). La presencia de abundantes precipitaciones y el reparto de las mismas, incrementan la producción polínica y permiten una emisión más escalonada de las especies herbáceas, tal y como demuestran otros autores como González Minero *et al.* (1997), mientras que la ausencia de heladas en el invierno de los últimos años y las altas temperaturas del mes de marzo han favorecido el anticipo del período de floración de algunas Gramíneas como *Poa annua* en 2002 y 2003 (FIG. 1.13). A lo largo del periodo estudiado se ha observado cómo han ido incrementando las concentraciones totales anuales de este polen en un 174% propiciado por el aumento de los cultivos de cereal. Sin embargo, el impacto urbanístico que está sufriendo la propia Vega granadina en los dos últimos años como consecuencia de la expansión de la ciudad, se está viendo reflejado en los registros aerobiológicos que han sufrido un retroceso de más de 2.000 granos/m<sup>3</sup> (FIG. 1.13).

El tipo polínico *Cupressaceae* es el segundo taxon con carácter alergógeno más abundante (32,1%) en la ciudad de Granada (FIG. 1.30). A pesar de esto, en el estudio realizado, muestra diferencias interanuales muy marcadas, sobre todo en lo referente a inicio del PPP y duración del mismo (FIG. 1.16). La longitud del periodo de polinación, se han visto afectado por las precipitaciones caídas durante la floración provocando una dilatación excesiva de la estación y baja intensidad polínica (1996/97 y 2001/02); o bien por la existencia de temperaturas excesivamente cálidas durante la polinación dando como resultado un acortamiento del PPP con elevadas concentraciones (1999/00 y 2001/02). Asimismo, la producción de este tipo polínico (FIG. 1.15) ha experimentado una evolución ascendente especialmente a partir de 1996/97, donde los totales anuales lograron tal



aumento que desde entonces se registran valores decenales exponenciales máximos (800-1.599 granos/m<sup>3</sup>). Este fuerte incremento se debe a varios factores, entre los que cabe destacar el aumento de las precipitaciones anuales (FIG. 1.7) en 1997, 2001 y 2004, así como por la ampliación del área metropolitana granadina donde la utilización masiva de especies del género *Cupressus* para la creación de setos, ha provocado que este tipo polínico haya aumentado en un 229% sus registros con respecto a años anteriores.

El tipo polínico *Urticaceae* representa el 10,5% del total de polen alergógeno registrado en la atmósfera de la ciudad de Granada (FIG. 1.30). Su presencia en el aire es continua, apareciendo prácticamente todos los días del año (FIG. 1.18), aunque presenta largos periodos (agosto-noviembre) con concentraciones bajas (1-11 granos/m<sup>3</sup>). Los niveles de considerable importancia (50-99 granos/m<sup>3</sup>) se alcanzan en los meses de febrero y marzo. Si contrastamos la evolución de *Urticaceae* vemos que se amplía el período de máxima incidencia y que éste se adelanta al mes de febrero, lo que indica que los registros térmicos más suaves hacen que se obtengan floraciones más tempranas y que se incremente la productividad. Durante los años 1998, 2002 y 2004 se han contabilizado 5.850, 6.067 y 6.956 granos/m<sup>3</sup> respectivamente, debido a las lluvias caídas en periodos previos a la emisión polínica y el aumento de las temperaturas mínimas, más patente en los últimos años (Díaz de la Guardia *et al.*, 2000). Por otro lado, el incremento de *Urticaceae* se ha visto favorecido por la buena conservación de los ecosistemas donde habitan estos táxones. La familia Urticáceas se desarrolla principalmente en bordes de acequias y ríos por lo que el mantenimiento de éstos y el aumento de las temperaturas mínimas han propiciado que la producción polínica se haya incrementado en un 129% en los últimos años (FIG. 1.17).

*Chenopodiaceae/Amaranthaceae* representa el 1,5% del total de polen alergógeno (FIG. 1.30). Excepto en 1992 (FIG. 1.19) que registró elevadas concentraciones (1.658 granos/m<sup>3</sup>), en el resto de años se observan pequeñas fluctuaciones en sus concentraciones anuales que varían entre los 500 granos/m<sup>3</sup> y 700 granos/m<sup>3</sup>. Al igual que sucede con otras localidades como Huelva y Almería (González-Minero *et al.*, 1998; Sabariego, 2003), este tipo polínico ha presentado una estacionalidad muy homogénea durante los 15 años de muestreo (FIG. 1.20), registrando sus mayores concentraciones en la estación veraniega (julio-septiembre) como resultado de la floración simultánea de la mayoría de las especies que componen este taxon, llegándose a alcanzar máximos exponenciales de 50-99

granos/m<sup>3</sup> en alguno de los años de estudio. Las familias *Chenopodiaceae/Amaranthaceae* están integradas por especies perfectamente adaptadas a la sequía y capaces de colonizar suelos degradados, nitrificados y terrenos salinos. El mecanismo de ahorro fisiológico manifestado por otras plantas en épocas de déficit hídrico no ha sido hallado en estas especies, lo que puede ser síntoma de que son tolerantes a la sequía, presentando incluso en los periodos más desfavorables tasas de producción polínica óptimas. Todo ello se muestra con los resultados obtenidos puesto que este ha sido el único taxon herbáceo que no se ha visto demasiado afectado por los años de escasez de lluvias, presentando sólo una leve tendencia a disminuir.

El polen de *Artemisia* sólo representa el 0,9% de los registros polínicos de los táxones más alergógenos de esta ciudad (FIG. 1.30). A lo largo de los 15 años de muestreo, ha presentado un comportamiento muy heterogéneo (FIG. 1.21) viéndose afectada su producción principalmente por los periodos de sequía. Los años en los que se detectan los mayores registros han sido 1996, 1998, 2001 y 2006 (880, 783, 572 y 591 granos/m<sup>3</sup>), mientras que los de menor cuantía fueron 1999 y 2000 con 100 y 40 granos/m<sup>3</sup>, respectivamente. La estacionalidad de este tipo polínico se encuentra repartida en dos periodos marcados y diferenciados, agosto-septiembre debido a la polinación de *A. campestris* y noviembre-diciembre por *A. barrelieri*, al igual que sucede en localidades próximas como Murcia y Almería (Munuera *et al.*, 1999; Sabariego, 2003). Cabe destacar que en 1996 ha sido el único año donde se registraron concentraciones máximas exponenciales de 24-49 granos/m<sup>3</sup> en los meses de octubre-noviembre, debido probablemente a una fuerte floración de *A. herba-alba* hecho que se produce frecuentemente en otras localidades (Munuera *et al.*, l.c.). Algunos autores han demostrado (Rantio-Lehtimäki *et al.*, 1991; Spieksma *et al.*, 2000) que los registros polínicos de algunos táxones como *Artemisia* se ven afectados por la localización del captador. Las concentraciones tan irregulares obtenidas en este estudio, desde 8 granos/m<sup>3</sup> (2000/01) hasta 901 granos/m<sup>3</sup> (1996/97), pueden que sean debidas a que este taxon no posee unos mecanismos de dispersión tan óptimos como los de otras especies, por lo que los niveles polínicos registrados en el captador no se ajustan a la producción polínica real de este taxon.

*Platanus* representa el 6,2% del polen alergógeno (FIG. 1.30). Su comportamiento a lo largo del estudio ha sido heterogéneo (FIG. 1.23), ya que después de los primeros años (1992 y 1993), donde se detectaron cantidades superiores a los 4.000 granos/m<sup>3</sup> anuales, se

produjo un fuerte descenso del polen total, el cual se invirtió de nuevo en 2004-2006 alcanzando más de 3.500 granos/m<sup>3</sup>. Esta dinámica responde, sin duda, a la poda drástica que sufren estos árboles en plena época de floración y de la que tardan varios años en recuperarse. Tal y como se había mencionado anteriormente, *Platanus*, en ambientes mediterráneos de intenso estrés, manifiesta una cierta flexibilidad fenológica interanual acortando el periodo de floración e intensificando la producción polínica. Además, este género presenta variaciones en el inicio de la estación debido principalmente a las precipitaciones acaecidas en los años 1996, 1999, 2002 y 2003 durante el mes de marzo lo que provocó que su floración se retrasase entre diez y quince días.

El 0,8% del total de polen potencialmente alergógeno de la ciudad de Granada corresponde al tipo polínico *Plantago* (FIG. 1.30). El comportamiento interanual ha sido muy irregular (Fig. 1.25), debido a que este taxon se ha visto fuertemente afectado por la sequía en 1995, 1999 y 2005. Sin embargo, en los últimos años han aumentado sus concentraciones a causa del incremento de las temperaturas mínimas y horas de sol, así como al ajuste de la fecha de inicio de la floración a la disponibilidad de recursos hídricos del suelo, de forma que responden positivamente a las precipitaciones caídas en la primavera temprana (FIG. 1.25). Los resultados obtenidos en cuanto a la duración de la estación polínica, son muy similares a los proporcionados por otros autores como Fernández *et al.*, 1990 y Recio *et al.*, 1997 detectándose en la atmósfera durante los meses de marzo a junio (julio). Pese a ello, los valores máximos exponenciales no han superado los 24-49 granos/m<sup>3</sup> debido muy probablemente a que algunas de sus especies son parcialmente entomófilas (Nilsson & Spiekma, 1992).

Por último, la floración de *Populus* representa el 2,5% del polen alergógeno (FIG. 1.30), coincidiendo con el aumento de las temperaturas y de los fotoperiodos del mes de marzo. Durante los 15 años las concentraciones registradas han sido homogéneas excepto en 1999 y 2006, cuyos valores llegaron a triplicarse con respecto al resto de los años (FIG. 1.27) alcanzando máximos exponenciales de 100-199 granos/m<sup>3</sup> en el último año de muestreo (FIG. 1.27). Al igual que ocurría con *Platanus* este taxon es abundante en los jardines de la ciudad de Granada y área metropolitana por lo que sus especies están sometidas a podas en los periodos de floración que impiden que este tipo polínico registre concentraciones intensas en la mayoría de los años de estudio.

Las observaciones generadas en este trabajo revelan que probablemente la principal causa del incremento de la polinosis en la provincia de Granada sea debido en parte al aumento substancial de polen alergógeno en la atmósfera. Es llamativo destacar que los cuatro tipos polínicos que más problemas causan entre la población atópica (*Olea*, *Poaceae*, *Cupressaceae* y *Urticaceae*) sean los que han intensificado su producción polínica entre el 129-229%. Este hecho, provocaría un ascenso en el porcentaje de personas sensibilizadas (Emberlin, 1994) las cuales, al estar en contacto con un mayor número de granos de polen y de alergenios, podrían llegar a desencadenar los temidos síntomas alérgicos.



## **1.7. CONCLUSIONES**



Una vez expuestos los resultados del presente trabajo de investigación y habiendo tenido en cuenta los objetivos propuestos, se presentan las siguientes conclusiones:

1. El valor total anual de los nueve tipos polínicos estudiados ha variado de 39.538 granos/m<sup>3</sup> (1992) a 56.393 granos/m<sup>3</sup> (2006) lo que supone un aumento del 143% del polen alergógeno en la atmósfera; el periodo comprendido entre 2001-2006 ha sido el de máxima intensidad polínica, destacando 2004 con 75.226 granos/m<sup>3</sup>.

2. Del comportamiento de las variables meteorológicas destaca la disminución de las Precipitaciones (2001-2006) y un ligero aumento de la Temperatura mínima y de la Humedad relativa en los últimos años; la distribución de las Precipitaciones anuales ha sido el factor que más ha condicionado la producción polínica.

3. Durante los 15 años de muestreo el tipo polínico que ha presentado un mayor aumento en sus concentraciones ha sido *Cupressaceae* (229%), seguido de *Olea* (195%), *Poaceae* (174%) y *Urticaceae* (129%); mientras que *Chenopodiaceae/Amaranthaceae* y *Artemisia* han mostrado una leve tendencia a disminuir.

4. En la variación estacional, el PPP más extenso lo ha presentado *Urticaceae* (172 días) y el más corto los táxones *Populus* (35 días) y *Platanus* (40 días). Con respecto a las concentraciones medias decenales, la clase exponencial máxima (800-1.599 granos/m<sup>3</sup>) se alcanza sólo en los tipos polínicos *Olea* y *Cupressaceae*.

5. La acción antrópica está contribuyendo al aumento de los niveles de polen alergógeno en el aire, mediante la extensión de los cultivo dedicados al Olivar y la excesiva utilización de especies en jardinería como Cipreses y Plátanos de sombra.





CAPÍTULO SEGUNDO

***ACTIVIDAD ALERGÉNICA***



## ÍNDICE

2.1. INTRODUCCIÓN.....	131
2.1.1. ACTIVIDAD ALERGÉNICA EN LA ATMÓSFERA.....	133
2.1.2. EL ALERGENO .....	134
Ole e 1.....	136
Lol p 1.....	139
Cup a 1.....	139
Par j 1/ Par j 2 .....	141
Pla a 2 .....	143
2.1.3. EL ANTICUERPO.....	144
2.1.4. MÉTODOS DE CAPTACIÓN.....	145
2.1.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS .....	146
2.2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....	149
2.3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	153
2.3.1. MÉTODO DE MUESTREO .....	155
2.3.2. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS: TÉCNICA ELISA <i>INDIRECTO</i> .....	159
2.3.3. PRESENTACIÓN DE LOS DATOS.....	165
2.4. RESULTADOS .....	167
2.4.1. DISTRIBUCIÓN DE PARTÍCULAS EN EL CAPTADOR.....	169
2.4.2. DILUCIONES SERIADAS Y CURVAS DE CALIBRADO.....	169
2.4.3. DINÁMICA ESTACIONAL DE LA ACTIVIDAD ALERGÉNICA EN LA ATMÓSFERA.....	177
<i>Olea europaea</i> L. (Ole e 1).....	177
<i>Poaceae</i> Barnhart (Lol p 1) .....	182
<i>Cupressaceae</i> Bart. (Cup a 1).....	186
<i>Urticaceae</i> Juss. (Par j 1).....	188
<i>Urticaceae</i> Juss. (Par j 2).....	192
<i>Platanus</i> L. (Pla a 2).....	196
2.5. DISCUSIÓN .....	201
2.6. CONCLUSIONES.....	215



## **2.1. INTRODUCCIÓN**



### 2.1.1. ACTIVIDAD ALERGÉNICA EN LA ATMÓSFERA

La incidencia de alergias se ha visto substancialmente incrementada en los últimos años en los países desarrollados. Se estima que aproximadamente el 23% de la población padece alguna alergopatía y que la mayoría de éstas se producen por sensibilidad a los granos de polen (García González *et al.*, 1999). Uno de los principales objetivos en el estudio de la alergia es la creación de métodos de mejora para el diagnóstico, tratamiento y prevención de esta enfermedad de hipersensibilidad.

La Aerobiología, desde sus inicios, ha estado estrechamente vinculada a este campo de la Medicina, aportando información sobre el comportamiento que estos granos de polen tienen en la atmósfera para contribuir, en la medida de lo posible, a crear un mecanismo de prevención eficaz.

Sin embargo, los datos polínicos que se están aportando no llegan a explicar en su totalidad los casos de polinosis, ya que el grano de polen posee un tamaño que oscila entre 15-40  $\mu\text{m}$ . Las partículas mayores de 20  $\mu\text{m}$  no penetran en las vías respiratorias bajas (D'Amato *et al.*, 1998) y sin embargo son los síntomas asmáticos los más frecuentes en las alergopatías de todo el mundo (César-Ramos, 1999; Hanrahan *et al.*, 2003). Una de las hipótesis que explican este hecho es que el grano de polen, al ponerse en contacto con la mucosa nasal, libera alérgenos que rápidamente podrían penetrar a los bronquios provocando los síntomas asmáticos (Márquez *et al.*, 1997). Sin embargo, en los últimos años se ha demostrado que en el aire, además del grano de polen, existen partículas alérgicas de tamaño submicrónico (inferior a 10  $\mu\text{m}$ ) y paucimicrónico (inferior a 1  $\mu\text{m}$ ), de origen vegetal o fúngico, que causan los molestos síntomas a los alérgicos (Spieksma *et al.*, 1995, D'Amato *et al.*, 1998, Pehkonen & Rantio-Lehtimäki, 1994). Estas partículas se encuentran dentro de las fracciones respirables y al penetrar por las fosas nasales pueden provocar rápidamente una crisis asmática, por lo que el estudio según su tamaño podría aportar información sobre la actividad alérgica real en la atmósfera, contribuyendo a mejorar los mecanismos de prevención que actualmente se llevan a cabo.

Esta nueva línea de estudio dentro de la Aerobiología se ha realizado anteriormente con distintas especies de plantas y hongos incluyendo *Ambrosia* (Argawal *et al.*, 1981;



Solomon *et al.*, 1983; Argawal *et al.*, 1984), *Quercus* (Holmquist *et al.*, 2001), Gramíneas (Spieksma *et al.*, 1991; Spieksma *et al.*, 1995), Betuláceas (Pehkonen & Rantio-Lehtimäki, 1994; Holmsquist *et al.*, 2001; Schäppi *et al.*, 1996), *Olea* (De Linares *et al.*, 2007) y *Alternaria* (Argawal *et al.*, 1981; Argawal *et al.*, 1984) indicando que en las fracciones paucimicrónicas existe una carga importante de alergenios.

En Andalucía, el equipo de investigación del Proyecto I+D+I BOS2002-03474 “Análisis de la actividad alérgica de la atmósfera” integrado por investigadores de las Universidades de Granada, Córdoba y Málaga han analizado las concentraciones tanto polínicas como alérgicas contenidas en el aire, con objeto de evaluar la evolución diaria que presentan ambas partículas, siendo los resultados obtenidos en la ciudad de Granada, los que se expondrán en este capítulo.

### **2.1.2. EL ALERGENO**

En la actualidad, con el conocimiento de la actividad alérgica que existe en la atmósfera de determinadas ciudades se pretende poder explicar el aumento de las alergopatías. Esta reacción de hipersensibilidad se lleva a cabo mediante la interacción de un antígeno y un anticuerpo. Ninguno de ellos por sí mismo es un agente nocivo, sino que es su unión la que inicia la respuesta clínica.

Se le denomina alérgico a cualquier sustancia extraña e inofensiva que desencadena una reacción alérgica en determinadas personas denominadas atópicas. La diferencia que existe entre alérgico y antígeno es que el primero es una partícula no viable y el segundo, un agente vivo; sin embargo, la reacción antígeno-anticuerpo se aplica indistintamente para ambos conceptos puesto que los dos son capaces de estimular la producción de anticuerpos en el organismo.

Los alergenios se dividen en dos grupos denominados exógenos y endógenos.

Alergenios exógenos son sustancias que ejercen un influjo tanto si es a través de la piel o las mucosas como si son ingeridas. Estos alergenios, a su vez se dividen en: a) exógenos primarios, sustancias extrañas que en su estado inalterado pueden provocar la producción de anticuerpos, b) exógenos secundarios, partículas extrañas que sólo actúan como

alergenos después de transformarse por digestión, acoplamiento, reducción, oxidación o modificación física o química y c) exógenos parciales o haptenos exógenos, sustancias extrañas que son incapaces de provocar la producción de anticuerpos por sí solos pero que adquieren esa capacidad cuando se unen a una sustancia proteica que actúa en cierta manera como vehículo conductor.

Alergenos endógenos son aquellos elementos que se transforman en el interior del cuerpo. Pueden dividirse según su origen en dos grupos: a) autoendógenos o autoalergenos, proteínas autógenas, productos catabólicos, sustancias procedentes de la desintegración de lípidos de los tejidos o de hemorragias que se han convertido en extraños para el propio organismo, y b) heteroendógenos, antígenos que por sí solos provocan reacciones inmunológicas pero que, bajo determinadas circunstancias, también podrían inducir síntomas propios de una alergia de manera indirecta.

Hasta ahora, son los alergenos exógenos primarios los que han recibido la mayor parte de la atención científica, estando mucho menos desarrollado el estudio del origen y desarrollo de los agentes exógenos secundarios, haptenos exógenos y alergenos endógenos.

### **Alergenos exógenos primarios**

Por razones prácticas, las partículas alérgicas de origen externo se clasifican por la forma de exposición del paciente, de tal manera que se pueden encontrar agentes que actúan por inhalación, ingestión, contacto o inyección. Sin embargo, hay que tener en cuenta que muchas de estas sustancias pueden producir alergia por más de una vía de exposición.

A estos alergenos también se les denomina aeroalergenos o neumalergenos, son partículas de origen biológico y tamaño microscópico suspendidas en el aire, siendo su composición fundamentalmente proteica. Entre los aeroalergenos más frecuentes se hallan los granos de polen de plantas anemófilas, identificados como tales en el siglo XIX, esporas, principalmente de hongos, y componentes del polvo doméstico (ácaros, epitelios animales y humanos, fragmentos de insectos, fibras vegetales, etc.). Entre los aeroalergenos menos frecuentes, pero a los que se hayan expuestos determinado segmento de la población por su trabajo o aficiones, se encuentran los epitelios de ganado bovino,

equino, ovino, aves, animales de laboratorio, semillas de lino, soja, café, ricino, polvo de harina y polvo de paja entre otros.

Las proteínas y glucoproteínas derivadas de los granos de polen son la mayor fuente de alérgenos conocidas con un rango de 10 a 70 KDa. Éstas se clasifican en función de los niveles de reacción inmunológica; se define como alérgeno mayor cuando causa alergia como mínimo al 50% de individuos sensibles a esa especie vegetal y alérgeno menor, al que provoca menos del 50% de sensibilizaciones (De Weerd *et al.*, 2002).

De esta manera se ha creado un Sub-Comité Nomenclatural de Alérgenos a través de la Unión Internacional de Sociedades Inmunológicas (International Union of Immunological Societies, IUIS) certificando una lista de proteínas alérgicas (Brusic *et al.*, 2003; Marsh *et al.*, 1986). Hoy en día existe una nomenclatura para clasificar a los alérgenos que se registran taxonómicamente según su nombre, género y especie. Éstos se definen con las tres primeras letras del género, la primera letra de la especie y un número arábigo de acuerdo con el descubrimiento y la descripción. Este número se asigna en primer lugar si tienen una reacción cruzada con alérgenos de plantas de la misma familia, aunque si esto no es posible, se le reconoce de acuerdo con su importancia (alérgeno mayor o menor) o con los hallazgos encontrados en pacientes alérgicos (King *et al.*, 1994).

En la presente Tesis Doctoral, se ha realizado un estudio de cinco aeroalérgenos procedentes de granos de polen que por su carácter alérgico y por su representación en el aire, altamente significativa, son los más importantes de la región Mediterránea.

### ***Ole e 1***

Hasta el momento se ha conseguido aislar, purificar y caracterizar 10 alérgenos diferentes de *Olea europaea*. El primero de ellos, más significativo y utilizado en este trabajo, es Ole e 1 (Villalba *et al.*, 1994). Está considerado como alérgeno mayor puesto que afecta a más del 70% de pacientes sensibilizados a *Olea* (Lauzurica *et al.*, 1988) aunque esta prevalencia difiere según el área geográfica, oscilando entre el 55% y el 90% (Lauzurica *et al.*, 1988, Villalba *et al.*, 1990, Wheeler, 1992). Ole e 1 es de naturaleza ácida formado por 145 aminoácidos residuales. Puede encontrarse bajo dos formas: glicosilada, con un peso molecular de 20 KDa (constituyendo el 85% de la proteína total) y no glicosilada de 18,5 KDa con una representación del 10% (Villalba *et al.*, 1993). Además

hay que tener en cuenta la presencia de dos variantes minoritarias de 22 KDa perteneciente a una forma hiperglicosilada y de 40 KDa correspondiente a un dímero de la glicoproteína (Wheeler *et al.*, 1990). Ole e 1 está localizado exclusivamente en el grano de polen, no habiéndose encontrado en otros tejidos como hojas, tallos o frutos razón por la que se explica la ausencia de reacciones alérgicas en pacientes sensibles a este polen cuando toman su fruto o aceite de oliva (Villalba *et al.*, 1994). A su vez, esta proteína en el interior del grano de polen se localiza en las cisternas del Retículo Endoplasmático rugoso (RER) aunque durante los estadios maduros estas cisternas se transforman en numerosos paquetes o sacos que se dispersan por el citoplasma (Rodríguez-García & Fernández, 1990). Todo parece indicar que la alta concentración de Ole e 1 en el grano de polen (más del 20% del total proteico) podría estar involucrado en los gradientes osmóticos necesarios para la hidratación (Alché *et al.*, 1999; Alché *et al.*, 2002) o incluso en la germinación del grano de polen (Villalba *et al.*, 1994).

Otros estudios realizados sobre Ole e 1 incluyen el mapeo antigénico de esta proteína identificando tres regiones que pueden ser consideradas como epítomos de reconocimiento para células T en las posiciones 111-113 (Lombardero *et al.*, 1994) y 91-102 y 109-130 (Cárdaba *et al.*, 1998). De la misma manera, González *et al.* (2006) determinaron que la unión de este alérgeno con la IgE podría realizarse por la estructura conformacional y no secuencial.

Por otro lado, la secuencia aminoacídica de Ole e 1 posee una homología relevante con alérgenos de otras especies de Oleáceas (Lombardero *et al.*, 2002) como *Ligustrum* (Lig v 1), *Fraxinus* (Fra e 1) y *Syringa* (Syr v 1) o con plantas taxonómicamente no relacionadas como *Plantago* (Pla l 1), *Lolium* (Lol p 11) y *Chenopodium* (Che a 1).

Todos los aerolergenos caracterizados en *Olea europaea* se muestran en la TABLA 2.1.

Nombre	Peso Molecular (KDa)	Características Función Biológica	Prevalencia-IgE (%)	Homología con otros alérgenos	Referencias
Ole e 1	18-20	Hidratación, germinación, desarrollo del tubo polínico	55-90	Lig v 1, Syr v 1, Fra e 1, Lol p 1, Pla a 1, Che a 1	Lauzurica <i>et al.</i> , 1988 Villalba <i>et al.</i> , 1994 Alché <i>et al.</i> , 1999
Ole e 2	15	Profilina Control en la polimerización de actina	74,6	Bet v 2, Cyn d 12, Phl p 12. Hel a 2, Mer a 1	Asturias <i>et al.</i> , 1997 Ledesma <i>et al.</i> , 1998 Quiralte <i>et al.</i> , 2002
Ole e 3	9	Procalcina (unión a Ca <sup>2+</sup> ), ausente en otros tejidos	20-25	Cyn d 7, Phl p 7, Bet v 4, Aln g 4, Syr v 3, Fra e 3	Batanero <i>et al.</i> , 1996 Quiralte <i>et al.</i> , 2002 Alché <i>et al.</i> , 2003
Ole e 4	32-36	Glicoproteína	80	Sin homología relevante	Boluda <i>et al.</i> , 1998 Carnés & Fernández-Caldas, 2002
Ole e 5	16	Superoxido dismutasa	35	SODs de otras especies	Boluda <i>et al.</i> , 1998 Carnés & Fernández-Caldas, 2002
Ole e 6	10	Proteína ácida	15-55	NtP-CysR de tabaco	Batanero <i>et al.</i> , 1997 Quiralte <i>et al.</i> , 2002
Ole e 7	10	Proteína de transferencia lipídica (LPT)	45	Par j 1, Art v 3, asociación con alergia alimentaria	Tejera <i>et al.</i> , 1999 Florido <i>et al.</i> , 2002
Ole e 8	19	Calmodulina	15	Jun a 2	Ledesma <i>et al.</i> , 2002
Ole e 9	45	β-glucanasa	65	Glucasas de mimbrera, trigo, <i>Arabidopsis</i>	Huescas <i>et al.</i> , 2001 Palomares <i>et al.</i> , 2003
Ole e 10	11	---	55	Ole e 9, Oleaceae, ciprés, patata, látex, kiwi	Barral <i>et al.</i> , 2004

TABLA 2.1. Alérgenos procedentes de *Olea europaea* aislados, purificados y caracterizados.

### ***Lol p 1***

En la familia Gramíneas se han identificado hasta 12 subfamilias de alérgenos, siendo los más estudiados los pertenecientes a las especies de *Lolium perenne* y *Phleum pratense*. En relación con la especie *Lolium perenne* se han identificado 7 alérgenos hasta la fecha (TABLA 2.2).

Lol p 1, seleccionado para este estudio, es el mayor alérgeno y más importante dentro de *Lolium perenne*; muestra múltiples isoformas representando variantes que parecen ser indistinguibles inmunológicamente (Johnson & Marsh, 1965). Su prevalencia en personas sensibilizadas a Gramíneas es del 95% (Kahn & Marsh, 1986); se trata de una proteína ácida de 35 KDa con puentes disulfuro intramoleculares (Johnson & Marsh, l.c.) y 7 Cys residuales muy conservadas. Está localizado predominantemente en el citoplasma (Singh *et al.*, 1991) siendo una enzima catalizadora de la pared celular (Barber *et al.*, 2003). Además, también presenta reacción cruzada con alérgenos procedentes de otras Gramíneas (Standring *et al.*, 1987) como *Cynodon* (Cyn d 1), *Phleum* (Phl p 1) y *Dactylis* (Dac g 1).

### ***Cup a 1***

Los extractos alérgicos del polen de los Cipreses son difíciles de producir ya que tienen bajo contenido en proteínas y alto de carbohidratos. Hasta la fecha sólo se ha conseguido aislar, purificar, secuenciar e incluso clonar dos alérgenos (TABLA 2.3) pertenecientes a *Cupressus arizonica* (Cup a 1 y Cup a 3).

Cup a 1 se identificó y caracterizó por Di Felice *et al.* (1994) determinando con ello de que se trataba de una glicoproteína de 43 KDa, más concretamente de una peptona-liasa. Se trata de un alérgeno mayor que afecta al 57% de los pacientes sensibles a este polen (Alisi *et al.*, 2001). Los procesos específicos de extracción de este alérgeno son muy complicados debido a su baja concentración en el grano de polen si lo comparamos con el de otras especies, pudiendo dar como resultado la degradación de la glicoproteína antes de conseguir extraerla. La diagnosis y el tratamiento de esta alergia mediada por IgE requiere la producción de un alto contenido de esta proteína en estado puro, por lo que Cup a 1 ha sido clonado con el fin de obtener preparaciones de proteína

Nombre	Peso Molecular (KDa)	Características Función Biológica	Prevalencia IgE (%)	Homología con otros alergen	Referencias
Lol p 1	31-35	Enzima catalizadora de la pared celular	87	Lol p 2, Cyn d 1, Phl p 1Dag g 1,	Johnson & Marsh, 1965 Kahn & Marsh, 1986 Ansari <i>et al.</i> , 1989
Lol p 2	11	Promotor directo de los genes de expresión del polen	45	Lol p 1	Freidhoff <i>et al.</i> , 1986 Ansari <i>et al.</i> , 1989 Wissenbach <i>et al.</i> , 1998
Lol p 3	11	---	45	Lol p 2	Ansari <i>et al.</i> , 1989
Lol p 4	56,8	Resistente a la digestión con tripsina	80	Amb v 1	Jaggi <i>et al.</i> , 1989 Fisher <i>et al.</i> , 1996
Lol p 5	28-32	Almacenado en los gránulos de almidón	85	---	Suphioglu <i>et al.</i> , 1998 Swoboda <i>et al.</i> , 2002 Barber <i>et al.</i> , 2003
Lol p 10	12	Citocromo C	---	---	Ansari <i>et al.</i> , 1987
Lol p 11	18	Inhibidor de Tripsina	65	Ole e 1, Maiz, Tomate, <i>Phleum</i> , <i>Dactylis</i> , <i>Festuca</i>	Ree <i>et al.</i> , 1995

TABLA 2.2. Alergenos procedentes de *Lolium perenne* aislados, purificados y caracterizados.

homogénea con relativa facilidad, denominándolas Cup a 1.1 y Cup a 1.02 (Aceituno *et al.*, 2000; Rea *et al.*, 2004). El alergeno nativo parece ser que se almacena y es glicosilado en las cisternas del Complejo de Golgi, transportándose como vesículas hacia la exina, intina e incluso hacia los orbículos que este tipo polínico posee en el exterior; de esta manera podría estar relacionado con el reconocimiento de los gametofitos femenino-masculino (Suárez-Cervera *et al.*, 2003).

Nombre	Peso Molecular (KDa)	Características Función Biológica	Prevalencia-IgE (%)	Homología con otros alergen	Referencias
Cup a 1	43	Glicoproteína, reconocimiento gametofito femenino-masculino	57	Cup s 1, Cry j 1, Jun a 1, Cha o 1, Pla a 2	Di Felice <i>et al.</i> , 1994 Alisi <i>et al.</i> , 2001 Arilla <i>et al.</i> , 2004 Ibarrola <i>et al.</i> , 2004
Cup a 3	21	Se expresa en condiciones de estrés (contaminación)	63	Jun a 3	Cortegano <i>et al.</i> , 2004

TABLA 2.3. Alergenos procedentes *Cupressus arizonica* aislados, purificados y caracterizados.

Este aeroalergeno posee homología con otras coníferas como *Cupressus sempervirens* (Cup s 1), *Juniperus ashie* (Jun a 1) o *Cryptomeria japonica* (Cry j 1) (Arilla *et al.*, 2004; Alisi *et al.*, 2001; Aceituno *et al.*, 2000; Suárez-Cervera *et al.*, 2003). Por su parte, Ibarrola *et al.* (2004) detectaron que además poseían homología con otra especie taxonómicamente no relacionada como es *Platanus acerifolia* (Pla a 2).

### **Par j 1/ Par j 2**

En los extractos de *Parietaria judaica* se han localizado al menos nueve alergen

diferentes de los cuales se han aislado, purificado y caracterizado solo tres (TABLA 2.4): Par j 1 (Costa *et al.*, 1994), Par j 2 (Duro *et al.*, 1996) y Par j 3 (Asturias *et al.*, 2004).

Par j 1 fue aislado, caracterizado y clonado por Costa *et al.* (1994); posee un peso molecular de 14,7 KDa siendo un alergeno mayor con un porcentaje de prevalencia del 95%. Su secuencia animoacídica contiene cuatro Cys residuales, dos de las cuales se encuentran parcialmente oxidadas. Par j 1 posee dos isoformas que al ser purificadas y caracterizadas se ha observado que tiene diferencias tanto en sus propiedades físico químicas como en su secuencia aminoacídica N-terminal. Se trata de una proteína de transferencia lipídica (LTP) y, como tal, se puede encontrar en el citoplasma y en vacuolas asociados a cuerpos lipídicos. Por medio de estudios de inmunolocalización se ha observado que estas vacuolas son exudadas al exterior del grano del polen durante los procesos de hidratación y activación (Vega-Maray *et al.*, 2004). Su clonación se llevó a



cabo con *E. coli* denominándose el producto resultante Par j 1.0101 y Par j 1.0201 (Cunsolo *et al.*, 2001).

Par j 2 es una proteína de 11,3 KDa considerada como alérgeno mayor pues afecta al 82% de pacientes alérgicos a este tipo polínico. Se trata de una lipoproteína de transferencia (LTP) con cuatro puentes disulfuro. Fue aislado, caracterizado y clonado por Duro *et al.* (1996), denominándose a la proteína clonada Par j 2.0101. Ambos alérgenos son indistinguibles y capaces de inducir la degranulación y liberación de histamina procedentes de basófilos en pacientes alérgicos a este polen.

Ayuso *et al.* (1995) determinaron que Par j 1 poseía homología con otros alérgenos del género *Parietaria*, más concretamente con *P. officinalis* (Par o 1) y *P. mauritanica* (Par m 1), sin embargo no existía homología alguna con *Urtica dioica*. Aún así, dentro de *P. judaica*, Par j 1 y Par j 2 poseen una elevada homología entre ellos (Asturias *et al.*, 2003; Stumvoll *et al.*, 2003; Amoresano *et al.*, 2003; Arilla *et al.*, 2006), confirmándose la gran similitud de sus estructuras con la realización de modelos tridimensionales de de ambos alérgenos (Asturias *et al.*, 2003).

Nombre	Peso Molecular (KDa)	Características Función Biológica	Prevalencia-IgE (%)	Homología con otros alérgenos	Referencias
Par j 1	14,7	Lipoproteína de transferencia	95	Par j 2	Costa <i>et al.</i> , 1994 Asturias <i>et al.</i> , 2003 Stumvoll <i>et al.</i> , 2003
Par j 2	11,3	Lipoproteína de transferencia	82	Par j 1, Bet v 2, Phl p 2	Duro <i>et al.</i> , 1996 Asturias <i>et al.</i> , 2003 Stumvoll <i>et al.</i> , 2003
Par j 3	14,5	Profilina	6-18	Otras profilinas vegetales	Asturias <i>et al.</i> , 2004

TABLA 2.4. Alérgenos procedentes *Parietaria judaica* aislados, purificados y caracterizados.

## Pla a 2

El estudio de las proteínas alérgicas de *Platanus acerifolia* (TABLA 2.1) comenzó hace relativamente poco tiempo con la caracterización de Pla a 1 (Asturias *et al.*, 2002) y Pla a 2 (Ibarrola *et al.*, 2004). Este alérgeno, a pesar de ser hallado anteriormente por Asturias *et al.* (2002) no quedó registrado por no asignar en ese momento ningún nombre por medio de la nomenclatura estándar de alérgenos. Se trata de una proteína de 43 KDa caracterizada como poligalacturasa (PG); su porcentaje de sensibilización alcanza el 83%, siendo por ello un alérgeno mayor. En su secuencia aminoacídica posee seis Cys residuales lo que parece ser que le confiere una gran estabilidad en su estructura terciaria. Esta PG en el polen podría tener la función de facilitar el crecimiento y degradación de las paredes de las células del estilo en el momento de la penetración del tubo polínico (Ibarrola *et al.*, l.c.).

En el grano de polen, Pla a 2 se encuentra localizada en las cisternas y vesículas del Completo de Golgi situados en la región apertural, relacionando su secreción con la hidratación y probablemente con la interacción polen-estigma. El estudio de su localización en diferentes partes de la planta revela que esta proteína de 43 KDa se encuentra en los granos de polen y en los tallos pero no en las hojas (Ibarrola *et al.*, l.c.). Pla a 2 posee un elevado grado de homología con LTPs de especies taxonómicamente no relacionadas como *Betula*, Bet v 2; *Phleum*, Phl p 7 (Stumvoll *et al.*, 2003) y *Parietaria judaica*, Par j 1 (Asturias *et al.*, 2003; Amoresano *et al.*, 2003; Arilla *et al.*, 2006).

Nombre	Peso Molecular (KDa)	Características Función Biológica	Prevalencia-IgE (%)	Homología con otros alérgenos	Referencias
Pla a 1	18 ± 2	Familia de las pectinas metilesterasa inhibidora (PMEI)	87	Uva, <i>Arabidopsis</i> , tabaco tomate, kiwi, lenteja, cacahuete, judía	Asturias <i>et al.</i> , 2002 Suárez-Cervera <i>et al.</i> , 2005
Pla a 2	43	Poligalactosurasa (PG)	83	Cup a 1, tomate, kiwi, melocotón, aguacate	Ibarrola <i>et al.</i> , 2004 Suárez-Cervera <i>et al.</i> , 2005

TABLA 2.1. Alérgenos procedentes *Platanus acerifolia* aislados, purificados y caracterizados.

### 2.1.3. EL ANTICUERPO

Los anticuerpos son proteínas producidas por los vertebrados como defensa contra las infecciones o agentes extraños. Se diferencian del resto de las proteínas en que son producidas en millones de formas diferentes y poseen un lugar de unión específico que reconoce a un antígeno. Estas proteínas también reciben el nombre de inmunoglobulinas debido a que son globulinas (proteínas séricas) inmunitarias.

En la mayoría de los mamíferos superiores se reconocen cinco clases distintas de inmunoglobulinas o isotipos (FIG. 2.1): IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. Difieren entre sí por su tamaño, carga y composición química, aunque todas comparten el mismo patrón estructural. Cada una de estas moléculas está formada por cuatro cadenas polipeptídicas (dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras) iguales dos a dos y unidas por puentes disulfuro. Tanto las cadenas pesadas como las ligeras están formadas por una unidad básica de 110 aminoácidos que se repiten entre cuatro y cinco veces en las cadenas pesadas y dos veces en las ligeras. A la región del antígeno reconocida por un anticuerpo se le denomina epítipo o determinante antigénico. Un antígeno puede presentar un número variable de epítopos de estructura única o repetitiva por lo que ante ese antígeno se formarán tantos anticuerpos como epítopos existan.

Las concentraciones totales de estas inmunoglobulinas en el suero humano son diferentes; así, la IgG representa el 80% del total de anticuerpos, seguido de IgA (10-15%), IgM (5-10%) y en muy pequeñas cantidades las IgE (<1%) e IgD (<0,1%).

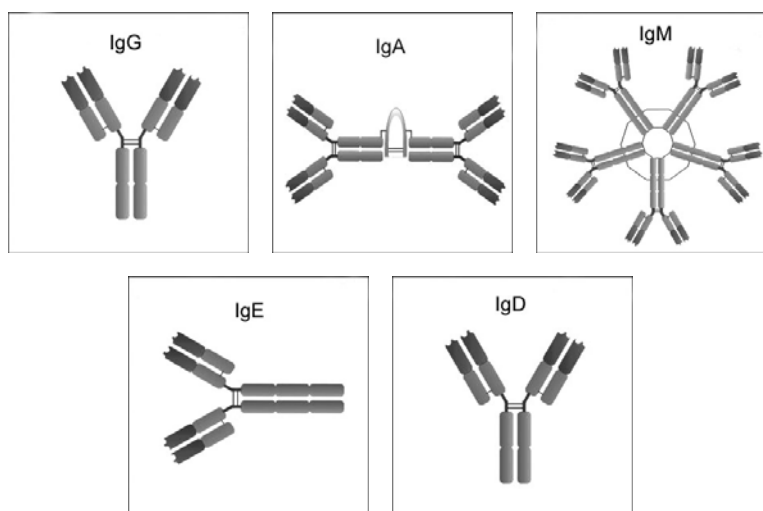


FIG. 2.1. Tipos de Inmunoglobulinas. (Imágenes: MEC, Proyecto Biosfera).

Las alergias se producen por reacciones de hipersensibilidad de tipo I en la cual la IgE juega un papel primordial. Esta glicoproteína tiene un peso molecular de 188 KDa y un alto contenido en carbohidratos (aproximadamente un 12%); su vida media es de 2,3 días, aunque en la piel humana es mucho más larga alcanzando entre ocho y quince días.

Las IgE específicas para un alérgeno no suelen ser superior al 10% de la IgE sérica por lo que la cuantificación de estas inmunoglobulinas precisa técnicas muy sensibles. Sin embargo, la gran especificidad de estos anticuerpos ha encontrado infinidad de aplicaciones en otras áreas de la Medicina e Inmunología para identificar y cuantificar patógenos, hormonas, células tumorales e incluso alérgenos.

Los anticuerpos pueden reconocer cantidades casi ilimitadas de moléculas. Cuando se inmuniza un animal con un antígeno y se provoca una respuesta inmune, aumenta notablemente en el suero del animal la cantidad de Ig específicas del antígeno empleado. Como se ha visto anteriormente, un antígeno puede presentar diferentes epítomos, y cada uno de ellos será reconocido por moléculas Ig con una secuencia característica. Por ello en el suero de un animal inmunizado se acumulan un número desconocido de diferentes moléculas de Ig específicas en mayor o menor medida a un mismo antígeno. Se tratará por tanto, de un suero con numerosos tipos de Ig específicos para un antígeno por lo que se denomina anticuerpos policlonales, los cuales pueden emplearse en numerosos ensayos inmunológicos. Con el fin de obtener IgE más específicas, se han creado técnicas que permiten la obtención de anticuerpos de una especificidad única y definida denominados anticuerpos monoclonales. Éstos se producen “in Vitro”, y son la consecuencia de la actividad de un único clon celular de Linfocitos B que se ha aislado y se mantiene en cultivo en el laboratorio dando por ello un solo tipo de inmunoglobulinas específica para un antígeno.

#### **2.1.4. MÉTODOS DE CAPTACIÓN**

Los métodos de captación empleados para el estudio de la actividad alérgica en la atmósfera dependen del tipo de análisis que se quiera realizar y de los objetivos perseguidos. De esta manera, existen captadores que además de absorber las partículas del aire, las distribuye en compartimentos diferentes en función de los tamaños de las mismas

y otros que introducen todas las partículas recogidas, sin discriminación de tamaños, en un medio líquido o sólido para después ser analizadas por ensayos inmunológicos.

### **Impactador en cascada**

Este captador es un muestreador de succión compuesto por uno o más superficies de deposición. El primer impactador en cascada fue descrito por May en el año 1945 aunque actualmente existen varios modelos diferentes modificados en función del fabricante. El aire, en todos ellos, es dirigido con un volumen constante a través del captador. La discriminación de partículas es posible gracias a la variación de la velocidad del aire a través de los estadios los cuales presentan una serie de orificios que van disminuyendo su tamaño secuencialmente.

### **Muestreador Ciclón**

En este impactador las partículas son transportadas gracias a la fuerza centrífuga generada por una masa de aire que posee una trayectoria en espiral, las cuales son recogidas y almacenadas sin discriminación de tamaños en viales o placas de Petri. En algunos casos, este captador está orientado al viento dominante gracias a una veleta.

## **2.1.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS**

Como ya se había adelantado, la gran especificidad que poseen los anticuerpos y la capacidad de los mismos para reconocer una cantidad casi ilimitadas de moléculas, han provocado que en el campo de la Inmunología se haya desarrollado multitud de ensayos inmunológicos. Éstos difieren en su rapidez y en su sensibilidad siendo algunos estrictamente cualitativos y otros cuantitativos. En la TABLA 2.6 se expone a modo de resumen, las técnicas más utilizadas y reconocidas en Inmunología.

El método de análisis utilizado para esta Tesis Doctoral ha sido una Técnica ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) o Inmunoensayos unidos a una enzima o Enzimoimmunoensayos. Esta técnica fue concebida independientemente en 1971 en Suecia y Holanda, siendo aplicada posteriormente para la cuantificación de los más diversos tipos de sustancias (alergenos, antígenos, hormonas, fármacos, etc.).

Ensayo	Sensibilidad (µg Ac/ml)	Técnica	Uso preferente	Medio de utilización	Características Usos
<b>Reacción de precipitación en fluidos</b>	3-30	Cuantitativa	Experimental	Tubos con medio líquido	
<b>Reacción de precipitación en geles</b>					
Imunodifusión radial (Método Manzi)	0,2-1	Cuantitativa	Clínico	Gel de azarosa con anticuerpos	Concentración de componentes del complemento en suero
Imunodifusión doble (Método Ouchterlony)	3-20	Cualitativa		Gel de agarosa	Relación antígeno libre y complejo
Imunoelectroforesis	3-20	Cualitativa	Clínico	Gel de agarosa	Proteínas en suero (enfermedades inmunodeficientes)
<b>Reacciones de aglutinación</b>					
Directa	0,05		Clínico		Infecciones bacterianas
Aglutinación pasiva	0,001-0,01		Clínico	Hematíes	
Aglutinación inhibida	0,001-0,01	Cuantitativa	Clínico	Orina	Uso de drogas/ exposición de virus (Rubeola)
<b>Radioinmunoensayos (RIA)</b>	0,0001-0,001	Cuantitativa	Clínico	Fase sólida: Tubos o placas	Niveles de insulina en diabéticos, hepatitis
<b>Test Radioalergosorbente (RAST)</b>		Cuantitativo	Clínico	Discos de celulosa	Sustituto de Test cutáneos, actividad alérgica en la atmósfera
<b>Enzimoimmunoensayos (ELISA)</b>	0,0000-0,001	Cuantitativa/ cualitativa	Clínico	Fase sólida: Placas	Detección del VIH, actividad alérgica en la atmósfera
<b>Inmunotransferencia (Western Blot)</b>		Cuantitativa/ cualitativa	Clínico	Gel de poliacramida	VIH, alérgenos en animales o plantas
<b>Inmunofluorescencia</b>	1	Cuantitativa/ cualitativa	Clínico	Tinción fluorescente ;fluorescina/ rodamina	Número de linfocitos, identificación bacteriana, enf. autoinmunes,

TABLA 2.6. Técnicas Inmunológicas más utilizadas.



## **2.2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**





## Hipótesis de trabajo

Los síntomas asmáticos son la causa más común de alergia de todo el mundo y sin embargo las partículas mayores de 20  $\mu\text{m}$  no penetran en las vías respiratorias bajas. Se ha demostrado que cuando los granos de polen llegan al tracto respiratorio, se humedecen liberando proteínas alérgicas que podrían provocar estas alergopatías. No obstante, en los últimos años se ha demostrado que en el aire, además de los granos de polen, existe partículas alérgicas de menor tamaño que podrían ser los causantes de estos molestos síntomas en las personas atópicas.

La hipótesis que se plantea en este capítulo es poner de manifiesto la existencia de estas partículas alérgicas en la atmósfera de Granada en relación a los cinco tipos polínicos que provocan más casos de alergia entre la población; demostrar que durante la polinación de ciertos táxones existe una dinámica paralela entre las concentraciones de polen y de proteínas alérgicas en el aire, así como determinar la capacidad alérgica de las partículas según su tamaño y el grado de concentración de cada una de ellas. Además, valorar la adecuación de la Técnica ELISA *indirecto* para la detección de las partículas alérgicas aerovagantes, evaluando si se trata de una metodología que de forma rápida y efectiva ofrece resultados óptimos.

## Objetivos

Los objetivos planteados son los siguientes:

- Desarrollar y poner a punto la Técnica ELISA *indirecto* para la detección y cuantificación de aeroalérgenos.
- Determinar la actividad alérgica real presente en la atmósfera de Granada en relación a los cinco táxones más alérgicos de la región Mediterránea, observando su dinámica y comportamiento a lo largo del periodo muestreado.
- Establecer el rango de tamaño en el que se encuentran las partículas con mayor actividad alérgica.

- Relacionar esta actividad alergénica con las concentraciones polínicas producidas en el mismo periodo de muestreo.

### **2.3. MATERIAL Y MÉTODOS**



### 2.3.1. MÉTODO DE MUESTREO

#### *Captador en cascada Andersen*

El muestreo se ha realizado utilizando un captador en cascada Andersen de la casa comercial Thermo Andersen Sampler®, Inc, Atlanta, GA, USA. “Andersen 1 ACFM Non Viable Ambient Particle Sizing Samplers”. La elección de este muestreador viene dada por los objetivos marcados para la realización del presente trabajo, orientado a conocer la actividad alérgica real y su distribución en función de tamaño de partículas de los cinco táxones vegetales seleccionados, cuya representación en el aire y capacidad alérgica es altamente significativa: *Olea europaea*, *Poaceae*, *Cupressaceae*, *Urticaceae* y *Platanus*.

El tracto respiratorio humano es un sistema de clasificación aerodinámico para las partículas aerovagantes; la fracción de partículas inhalada retenidas en él y el lugar de deposición varía con el tamaño, forma, densidad y cualquiera de las propiedades físicas de las partículas que determinan sus características aerodinámicas. El aparato de muestreo reproduce, de una forma análoga, las características de recolección de polvo en el sistema respiratorio humano siendo por ello utilizado como un sustituto de éste (FIG. 2.1). Esta simulación se consigue gracias a que el captador en cascada está calibrado con una densidad de 1 gr/cm<sup>3</sup> de partículas esféricas, lo que provoca que todas las fracciones recolectadas, independientemente de sus propiedades físicas, sean clasificadas por tamaños aerodinámicamente equivalentes. De esta manera, se puede conocer el grado de peligrosidad de las partículas para la salud.

El captador en cascada Andersen está compuesto de 8 placas de aluminio denominados estadios de impactación. Éstos contienen múltiples orificios organizados en un patrón radial y/o circular reduciendo así las turbulencias creadas dentro del muestreador. Cuando el aire es succionado, se produce en cada estadio múltiples chorros a presión simulando una cascada a través del captador, lo que provoca que haya impactación secuencial de partículas por selección-exclusión en un gradiente decreciente, de forma que las de mayor tamaño quedan retenidas en los primeros estadios y las de menor tamaño, en las últimas placas de recolección (FIG. 2.2.A). En cada estadio existe además un disco de aluminio donde se producirá la captura de las partículas, permitiendo que las no

impactadas sufran un cambio de dirección en su trayectoria y se dirijan hacia el siguiente estadio (FIG. 2.2.B).

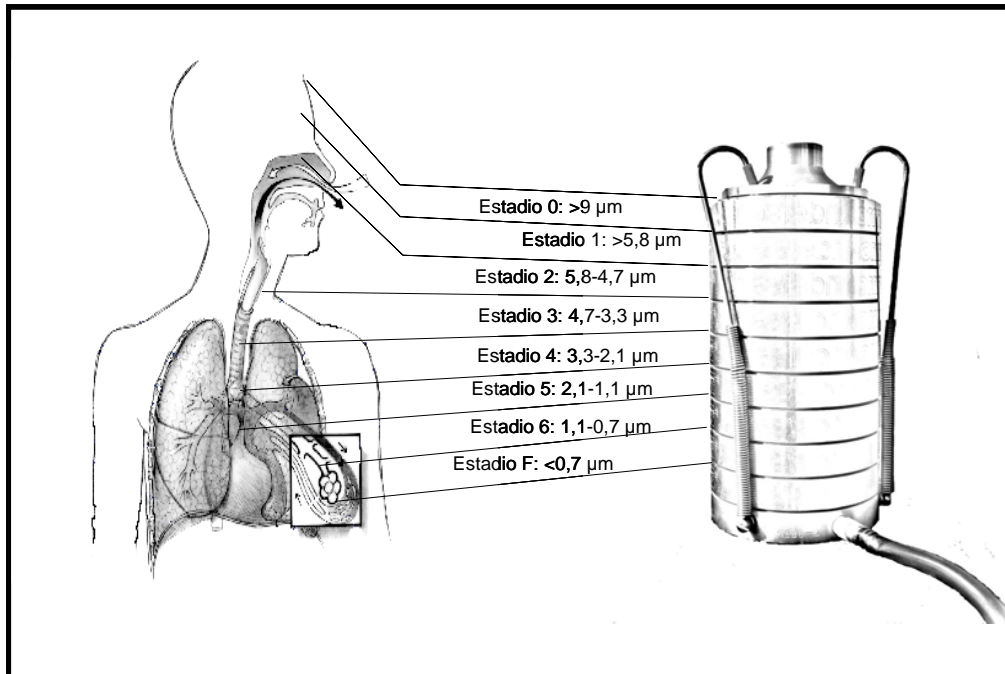


FIG. 2.1. Equivalencias del captador en cascada Andersen con el Tracto Respiratorio Humano.

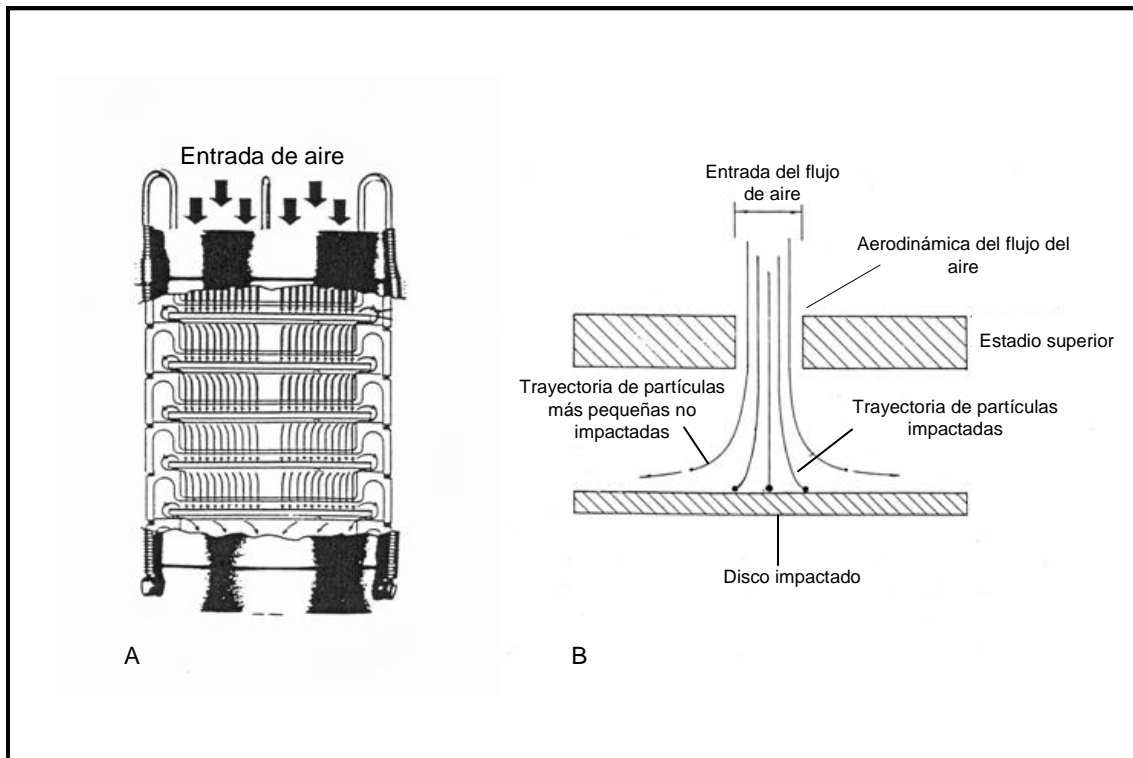


FIG. 2.2. Mecanismo interno del captador en cascada Andersen. A) Vista general; B) Trayectoria del flujo de aire en cada estadio.

Las dimensiones de los orificios de cada estadio, su disposición, el número, el tamaño de las partículas retenidas y la composición de cada una de ellas se exponen en la TABLA 2.7.

Estadio	Diámetro orificio (mm)	Número de orificios	Disposición de los orificios	Tamaño partícula retenida ( $\mu\text{m}$ )	Composición partículas
0	2,55	96	Radial	> 9,0	Polen, Grava, Arena,
1	1,88	96	Radial	> 5,8	Restos vegetales
2	0,91	400	Circular	5,8- 4,7	Fracción Limo (Carbonatos, Sulfatos, Óxidos e Hidroxidos Fe, Al, Mg)
3	0,71	400	Circular	4,7- 3,3	Fracción limo (filosilicatos)
4	0,53	400	Circular	3,3- 2,1	Fracción Limo (Óxidos e Hidroxidos Fe, Al, Mg, Sulfatos, Carbonatos)
5	0,34	400	Circular	2,1- 1,1	
6	0,25	400	Circular	1,1- 0,7	
7	0,25	201	Radial	< 0,7	Gases ( $\text{O}_3$ , $\text{NO}_x$ , $\text{CO}_2$ )
F	2,79	Filtro agujereado			

TABLA 2.7. Composición del captador en cascada Andersen.

El ensamblaje del impactador comienza por el estadio F el cual está fijado con pernos a la base del aparato; sucesivamente se van organizando los siguientes estadios, colocando entre ellos las correspondientes placas de aluminio con filtros de fibra de vidrio donde finalmente quedarán capturadas las partículas.

El muestreador, va conectado a una bomba de vacío por medio de un tubo de silicona; la bomba utilizada en este trabajo (Lanzoni SPS 3001, Italy) posee un cuadro frontal con un interruptor general, un medidor de flujo, un regulador de flujo y una conexión al tubo de silicona.

Gracias al medidor y regulador de flujo, se puede comprobar que el captador está aspirando un total de 1 ACFM de aire o lo que es lo mismo 28,3 l/min en todo momento, sin los consecuentes problemas de calibrado que las bombas de vacío convencionales poseen (FIG. 2.3).

A pesar de que la eficacia de captación del muestreador utilizado ha sido comprobada por otros investigadores (Argawal *et al.*, 1984, Spiexsma *et al.*, 1991, Schäppi *et al.*, 1996),



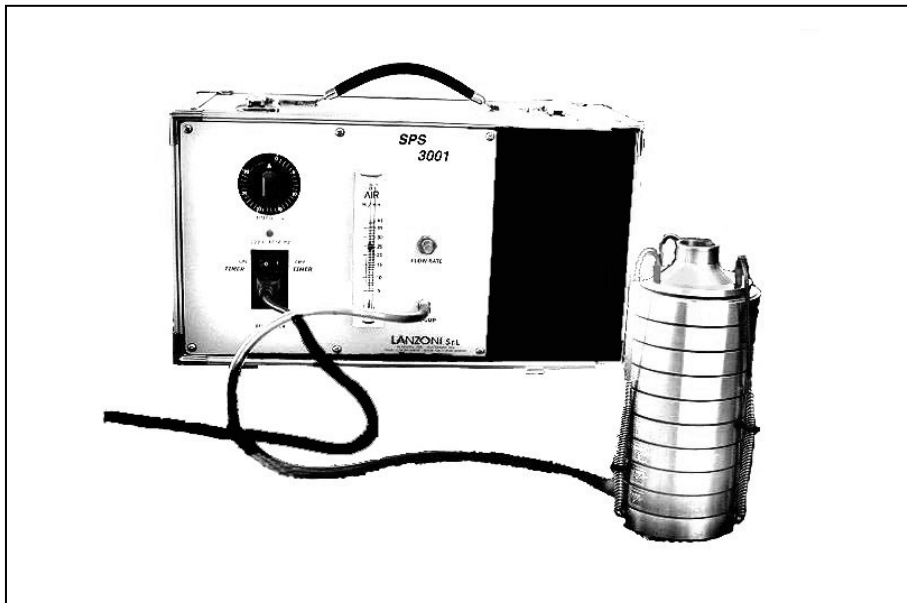


FIG. 2.1. Captador en cascada y bomba de vacío Lanzoni SPS 3001.

es importante conocer si el tamaño de las partículas en cada estadio es el especificado por el fabricante; para ello durante la primavera del año 2006, se analizaron los filtros impactados mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).

### **Obtención de muestras diarias**

El captador en cascada Andersen se instaló en la terraza de la Facultad de Ciencias. Para su correcto funcionamiento se tuvo en cuenta una serie de factores:

- Estar instalado cerca del captador volumétrico tipo Hirst funcionando simultáneamente, uno junto al otro, para así obtener resultados comparables de ambos captadores.
- Ubicarlo en la parte central de la terraza para evitar el efecto pantalla que pudiera ejercer el propio edificio de Biología.
- Ambos captadores debían de tener asegurado el suministro eléctrico durante todo el periodo de muestreo.

Las muestras se obtuvieron en las horas centrales del día, en el intervalo de 12 a 17 horas, puesto que debido a la continentalidad del clima, la temperatura es elevada con el

consiguiente aumento de las concentraciones polínicas (Díaz de la Guardia *et al.*, 1993, Alba, 1997).

Las partículas impactadas quedan retenidas en filtros de fibra de vidrio (Whatman®; Glass microfibre filters; type: GF/A), los cuales fueron cambiados diariamente y almacenados en frío a 4 °C un máximo de 20 días en placas de Petri, correctamente agrupadas y etiquetadas. Estos filtros están específicamente recomendados para el muestreo gravimétrico de partículas aerovagantes, ofreciendo una buena capacidad de carga y de retención de partículas de pequeño tamaño.

Dado que el estudio incluye a los 5 táxones alérgenos más representativos en la provincia de Granada, el periodo de muestreo se realizó durante los seis primeros meses del año 2006 de manera ininterrumpida. El protocolo de la Técnica ELISA *indirecto* se adecuó en cada momento en función del periodo de polinación principal de cada uno de las especies dominantes, de tal manera que el análisis de la actividad alérgica para cada taxon se determinó siguiendo la metodología de Ramjord (1991). Ésta establece como punto de partida el día que por primera vez se alcanzan 10 granos/m<sup>3</sup> de aire y termina cuando se obtenga la misma concentración. De esta manera, el periodo osciló entre los 40 días en *Platanus* y 150 días en *Parietaria*.

### **2.3.2. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS: TÉCNICA ELISA *INDIRECTO***

Obtenidas las muestras diarias se procede a su análisis con la Técnica *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA). Se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que producen una reacción, cuyo producto puede ser medido por espectrofotometría. La versatilidad de la Técnica ELISA hace que haya hasta seis protocolos diferentes, ELISA *indirecto* y ELISA *doble sandwich* para detectar anticuerpos específicos, ELISA *directo* y *competitivo* para detectar antígenos solubles y dos Técnicas ELISA *celulares*, uno para detectar antígenos en la superficie celular y otro para detectar anticuerpos específicos en la superficie del antígeno. Concretamente, en el presente estudio se ha realizado la Técnica ELISA *indirecto*. Ésta, utilizada tradicionalmente en el área de Inmunología, ha sido incorporada recientemente por algunos grupos de trabajo para la cuantificación de aeroalergenos en la atmósfera (De Linares *et al.*, 2007). Este sistema de detección emplea dos anticuerpos: uno primario contra el antígeno, y uno secundario marcado contra el primario. La elección de este

ensayo ha sido principalmente por tener mayor sensibilidad ya que presenta una amplificación de señal debida a la unión de dos o más anticuerpos secundarios por cada primario, además de no requerir altas concentraciones de antígeno por pocillo.

El protocolo de la Técnica ELISA *indirecto*, para el análisis de la actividad alérgica realizado en este estudio, es el siguiente:

1. La primera columna de la microplaca es usada como control colocándose cuatro réplicas circulares de filtro no impactado.
2. Las demás columnas de la microplaca se usan para colocar cuatro réplicas circulares de filtro impactado por estadio dispuestos de forma sucesiva.
3. Se añade 125 µl de PBS (tampón fosfato salino, pH 7.4) a todos los pocillos dejándolo incubar toda la noche (15 horas) a temperatura ambiente en un lugar saturado de humedad para permitir que se liberen los antígenos del polen y se adhieran a las paredes de los pocillos.
4. Para eliminar los restos de PBS y extraer las réplicas de filtros, se colocan las microplacas bocabajo y con movimientos secos se golpean sobre una superficie plana y absorbente.
5. Se lavan los pocillos 3 veces con 200 µl de PBS-TW 20 (0,3%) eliminando el PBS-TW de la misma forma que en el punto 4.
6. Se añade 200 µl de PBS-TW (0.3%)-Bloqueante (1%) incubándose durante 1 hora a 37 °C. De esta manera, se recubre el resto de las paredes de los pocillos donde no hay antígenos.
7. Se limpian los pocillos 2 veces con 200 µl de PBS-TW 20 (0,3%) eliminando el PBS-TW de la misma forma que en el punto 4.
8. Se añaden 125 µl/pocillo de anticuerpos de conejo (Bial-Aristegui S.A., Bilbao, España) con una dilución 1:1.000 en PBS y se incuba a 37 °C durante 45 minutos.
9. Se lavan las placas 4 veces con 200 µl de PBS-TW 20 (0,3%) eliminando el PBS-TW de la misma forma que en el punto 4.

10. Se añade 125  $\mu$ l/pocillo de anticuerpo secundario o HRP (Polyclonal Swine Anti-Rabbit Immunoglobulins, DakoCytomation<sup>®</sup>) en una dilución 1:1.000 en PBS y se incuba 30 minutos a 37 °C.
11. Se lavan las placas 4 veces con 200  $\mu$ l de PBS-TW 20 (0,3%) eliminando el PBS-TW de la misma forma que en el punto 4.
12. Se añade 125  $\mu$ l/pocillo OPD (O-phenylenedialanine, Sigma<sup>®</sup>) diluido en tampón citrato y se incuba 20 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad puesto que lo que se produce es una reacción colorimétrica.
13. La reacción se detiene añadiendo 50  $\mu$ l/pocillo de HCL 3N.

Los resultados obtenidos se miden con un lector de microplacas (Multiskan EX, Thermo Labsystems) a 405 nm.

En la presente Tesis Doctoral se ha utilizado para todos los alérgenos anticuerpos policlonales de conejo.

Los protocolos seguidos para la preparación de los reactivos utilizados son los siguientes:

PBS	Tampón citrato	OPD
1000 ml agua destilada	1000 ml agua destilada	12,5 ml agua destilada
0,16 gr PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> K	0,46 gr Ácido cítrico	12,5 ml tampón citrato
1,16 gr PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> Na	0,72 gr PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> Na	1 pastilla de OPD (Sigma <sup>®</sup> )
0,20 gr ClK	Llevarlo a un pH 5 con	20,0 $\mu$ l H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (30%)
8,00 gr ClNa	ácido cítrico	

### **Análisis “Criss-Cross Serial-Dilution”**

El análisis de las diluciones es necesario para determinar la concentración óptima de anticuerpos primarios y secundarios manejados en esta técnica para, posteriormente, utilizarse en el análisis de los muestreos diarios.

En esta prueba se realizan diluciones de antígeno (Ag) desde 0,1-2 µg/ml. Con ello se comprueba qué concentraciones de anticuerpos son los más óptimos para la Técnica ELISA *indirecto*. Para ello se analizan muestras con concentraciones de 1:500, 1:1.000 y 1:1.500 de anticuerpo primario (Ac) y de anticuerpo secundario (HRP) enfrentados entre sí. De la misma manera se comprueba si estos anticuerpos primarios y secundarios se diluyen mejor en PBS o en PBS-TW. Por último se verifica que los anticuerpos no den positivo sin el antígeno (**R**) y que el disco sin impactar que se utiliza como control, tampoco reaccione (**B**) (FIG. 2.4).

Para este análisis se realiza un total de seis diluciones seriadas diferentes para cada uno de los alergenios estudiados:

- *Olea europaea*: Alergeno, Ole e 1, anticuerpo primario, anti Ole e 1 y anticuerpo secundario, HRP.
- *Lolium perenne*: Alergeno, Lol p 1, anticuerpo primario, anti Lol p 1 y anticuerpo secundario, HRP.
- *Cupressus arizonica*: Alergeno, Cup a 1, anticuerpo primario, anti Cup a 1 y anticuerpo secundario, HRP.
- *Parietaria judaica*: Alergeno, Par j 1, anticuerpo primario, anti Par j 1-2 y anticuerpo secundario, HRP. Y alergenio, Par j 2, anticuerpo primario, anti Par j 1-2 y anticuerpo secundario, HRP.
- *Platanus acerifolia*: Alergeno, Pla a 2, anticuerpo primario, anti Pla a 2 y anticuerpo secundario, HRP.

PBS/ PBS-TW

		Concentración de Ag (µg/ml)											
		0,1	0,3	0,5	0,7	1,0	1,5	2,0					
A	Ac 1:500	HRP 1:500											
B		HRP 1:1000											
C		HRP 1:1500											
D	Ac 1:1000	HRP 1:500											
E		HRP 1:1000											
F		HRP 1:1500											
G													
H													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

		Concentración de Ag (µg/ml)											
		0,1	0,3	0,5	0,7	1,0	1,5	2,0					
A	Ac 1:1500	HRP 1:500											
B		HRP 1:1000											
C		HRP 1:1500											
D													
E													
F													
G													
H		<b>R</b>	<b>B</b>										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

FIG. 2.4. Esquema de microplacas seriadas para determinar las concentraciones óptimas de reactivos necesarios para la realización de ELISA *indirecto*.

Tantos los alérgenos o proteína purificada como los anticuerpos primarios fueron adquiridos por la empresa Bial-Arístegui S.A., mientras que el anticuerpo secundario (HRP) proceden de DakoCytimation S.A. El alto número de resultados obtenidos, con diferencias poco significativas entre los diferentes alérgenos utilizados, nos obliga a exponer en este apartado los obtenidos en *Cupressus arizonica*, siendo extrapolable al resto de alérgenos.

## **Obtención de las curvas de calibrado**

La creación de una curva de calibrado es imprescindible, ya que sin la información que proporciona, no se podría conocer las concentraciones de alérgenos alcanzadas en el aire.

Estas curvas servirán de referencia para la posterior comparación de la actividad alérgica que se registre en la atmósfera durante el periodo de floración de las distintas especies y que podrá estar o no asociada a los granos de polen.

Para realizar las curvas de calibrado se hacen diluciones con tampón carbonato (pH: 9,5) de proteína purificada de Ole e 1, Par j 1 y Par j 2 y con PBS (pH: 7,4) para Lol p 1, Cup a 1 y Pla a 2 en concentraciones que oscilan desde 0 hasta 125 ng/ml. Por columnas en las microplacas y en concentraciones ascendentes se añaden 125 µl por pocillo. Se incuba toda la noche a temperatura ambiente dentro de un lugar saturado de humedad y se sigue toda la metodología anteriormente expuesta a partir del punto 4.

Las proteínas purificadas o naturales fueron adquiridas como un producto liofilizado, pudiéndose almacenar durante varios años a una temperatura de -20 °C. Para la creación de las curvas de calibrado, estas proteínas liofilizadas fueron diluidas en una solución con tampón carbonato (pH: 9,5) en el caso de Ole e 1, Par j 1 y Par j 2 y con PBS (pH: 7,4) para Lol p 1, Cup a 1 y Pla a 2. Posteriormente se cuantificaron con la Técnica “Bio-Rad™ Protein Assay” o Técnica Bradford (Bradford, 1976). Esta técnica es utilizada para determinar la concentración de proteína en una solución. El procedimiento está basado en la formación de un complejo entre el colorante azul de Coomassie y las proteínas en solución. El complejo proteína-colorante provoca un cambio en la absorción de dicho colorante de tal manera que la cantidad de absorción será proporcional a la concentración de proteína. La proteína estándar utilizada fue BSA (seroalbúmina bovina) en concentraciones de 0,1- 1,4 mg/ml, creándose una ecuación lineal necesaria para determinar las concentraciones de proteína a estudio.

## **Análisis cuantitativo de las concentraciones alérgicas obtenidas**

Los resultados obtenidos con la Técnica ELISA *indirecto* se expresan en unidades de concentración (ng/ml). Con el propósito de dar una aproximación más exacta del contenido

real en la atmósfera, se utiliza un factor de corrección que permita obtener concentraciones de proteína en aire expresándose en ng/m<sup>3</sup> de aire <sup>(1)</sup>.

---

<sup>(1)</sup> Como el captador en cascada Andersen aspira un total de 1 ACFM (28,30 litros/minuto), al cabo de 5 horas aspirará:

$$28,30 \text{ l/min} \times 60 \text{ min} \times 5 \text{ h} = 8.490 \text{ l} = 8,4900 \text{ m}^3$$

Para 1m<sup>3</sup> el factor es:

$$1 \text{ m}^3 / 8,4900 \text{ m}^3 = 0,1178 \text{ (*)}$$

El diámetro del filtro de fibra de vidrio es de 8,10 cm, por lo que la superficie impactada es:

$$S = \Pi r^2 = 3,1416 \times (8,10/2)^2 = 51,5301 \text{ cm}^2 \text{ (**)}$$

Para realizar la Técnica ELISA *indirecto* se tomaron cuatro muestras circulares de cada filtro con un diámetro de 0,50 cm, por lo que la superficie analizada será de:

$$S = \Pi r^2 = 3,1416 \times (0,50/2)^2 = 0,1963 \text{ cm}^2 \text{ (***) de cada muestra}$$

[Con los datos de absorbancias obtenidos se realiza un promedio.]

El factor de corrección es:

$$(51,5301 \text{ cm}^2 \text{ (**)} / 0,1963 \text{ cm}^2 \text{ (***)}) \times (0,1178 \text{ (*)}) = \mathbf{30,9233}$$


---

### 2.3.3. PRESENTACIÓN DE LOS DATOS

Con el fin de exponer los datos obtenidos de forma coherente, se presenta en primer lugar un estudio de la distribución de las partículas aerovagantes en el captador en cascada. Comprobando así, el tamaño de las partículas que quedan retenidas en los diferentes estadios del captador, para después interpretar los datos obtenidos.

En segundo lugar se muestran los resultados conseguidos en las diluciones seriadas y curvas de calibrado. De esta manera, se concreta cómo debe hacerse la Técnica ELISA *indirecto* y con qué ecuación se extrapola los datos de absorbancia a ng/m<sup>3</sup> de aire.

El análisis de las muestras para cada taxon se expresa con tablas donde se exponen las concentraciones totales y porcentajes de alérgenos encontrados en cada uno de los estadios del captador, así como gráficos donde se observa su dinámica durante el periodo de polinación de las especies vegetales analizadas.

El estudio de la actividad alérgica en la atmósfera de la ciudad de Granada no tendría demasiada relevancia si después no se relacionaran con otro parámetro tan importante como es la concentración polínica; por ello se utilizaron los datos obtenidos del



muestreador volumétrico de succión tipo Hirst (Burkard 7-day recorder, Burkard Manufacturing Co. Ud, UK) durante el año 2006. Al haber estado instalados de manera contigua, se relacionan ambos parámetros, no sólo con los tipos polínicos cuya actividad alérgica se están estudiando sino también, con otros táxones que según la literatura posee un alto grado de homología.

## **2.4. RESULTADOS**



### 2.4.1. DISTRIBUCIÓN DE PARTÍCULAS EN EL CAPTADOR

En las FIGURAS 2.5 y 2.6 se exponen algunas de las fotografías realizadas al MEB (Microscopio Electrónico de Barrido), en relación a la distribución de las partículas atendiendo a su naturaleza y tamaño, en el interior del captador Andersen.

Los granos de polen sólo se han encontrado en los dos primeros estadios ( $0 > 9,0 \mu\text{m}$  y  $1 > 5,8 \mu\text{m}$ ), no habiéndose hallado en las restantes placas de recolección. En estos dos estadios únicamente se han detectado granos de polen inalterados pertenecientes a diferentes táxones, tales como *Olea europaea*, *Poaceae*, *Plantago*, *Chenopodiaceae* e incluso *Pinus*. En los restantes estadios sólo se han observado otras partículas como feldspatos, carbonatos, agregados arcillosos, partículas de polvo, Óxidos e Hidróxidos de Fe, Al, Mg, etc.

### 2.4.2. DILUCIONES SERIADAS Y CURVAS DE CALIBRADO

#### Diluciones seriadas

Los resultados obtenidos (FIG. 2.7 y FIG. 2.8) muestran que las curvas se comportan de manera similar si utilizamos PBS o PBS-TW para realizar las diluciones de anticuerpos primarios y secundarios, sin embargo el análisis a diferentes concentraciones refleja claras diferencias. A concentraciones de 1:1.500 de anticuerpo primario (Ac), las gráficas son irregulares no llegando a estabilizarse la curva, además de tener coeficiente de regresión ( $R^2$ ) pequeño. A concentraciones de 1:1.000 y 1:500 el comportamiento es más estable y sus coeficientes de regresión ( $R^2$ ) son más elevados, de tal manera que, de entre todas las graficas de tendencia, se eligió el uso de diluciones con PBS, Ac 1:1.000 y HRP 1:1.000.

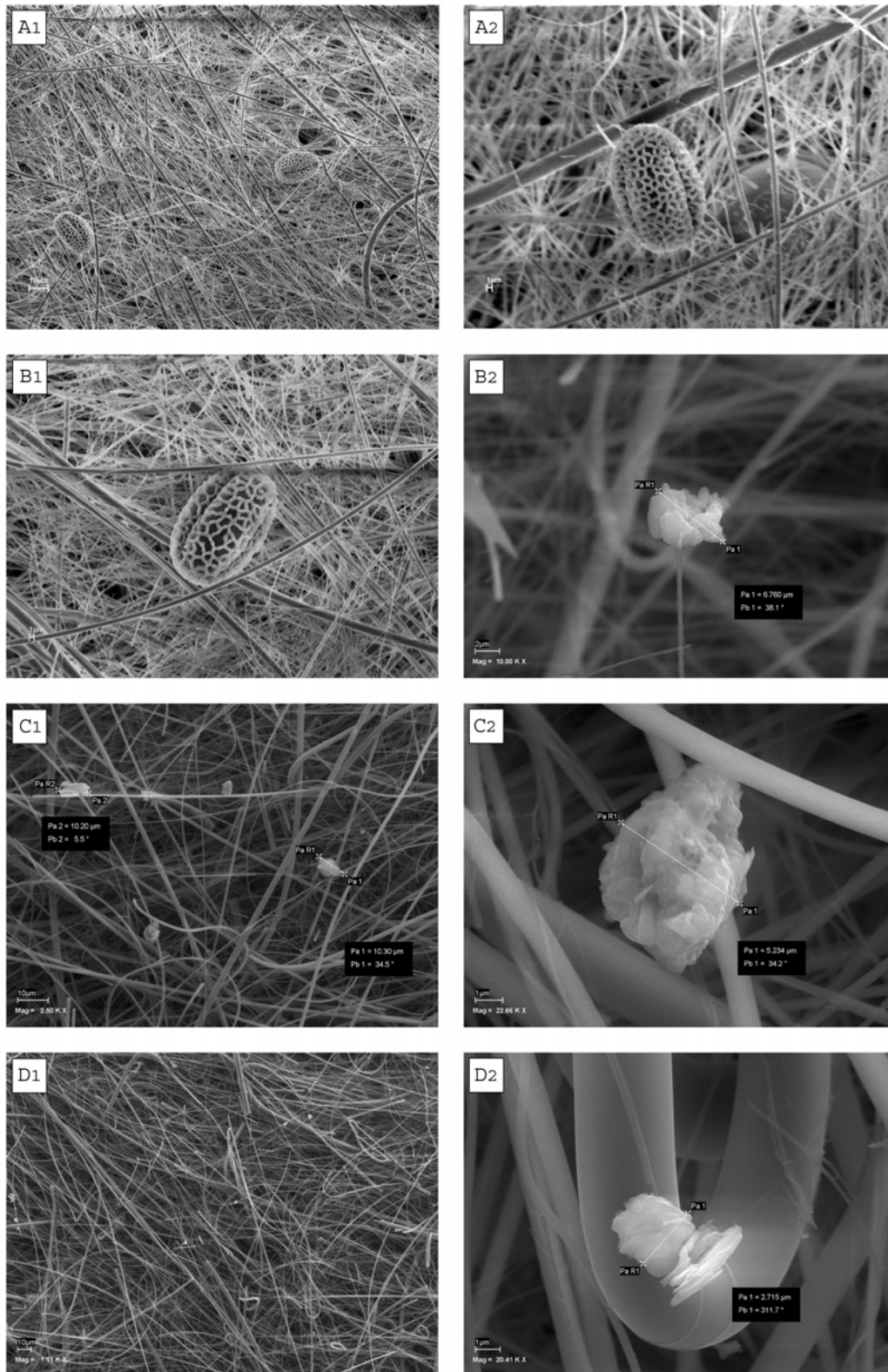


FIG. 2.5. Tamaño de partículas en el interior del captador en cascada Andersen: A1-A2, estadio 0; B1-B2, estadio 1; C1-C2, estadio 2; D1-D2, estadio 3. 1, visión general; 2, detalle.

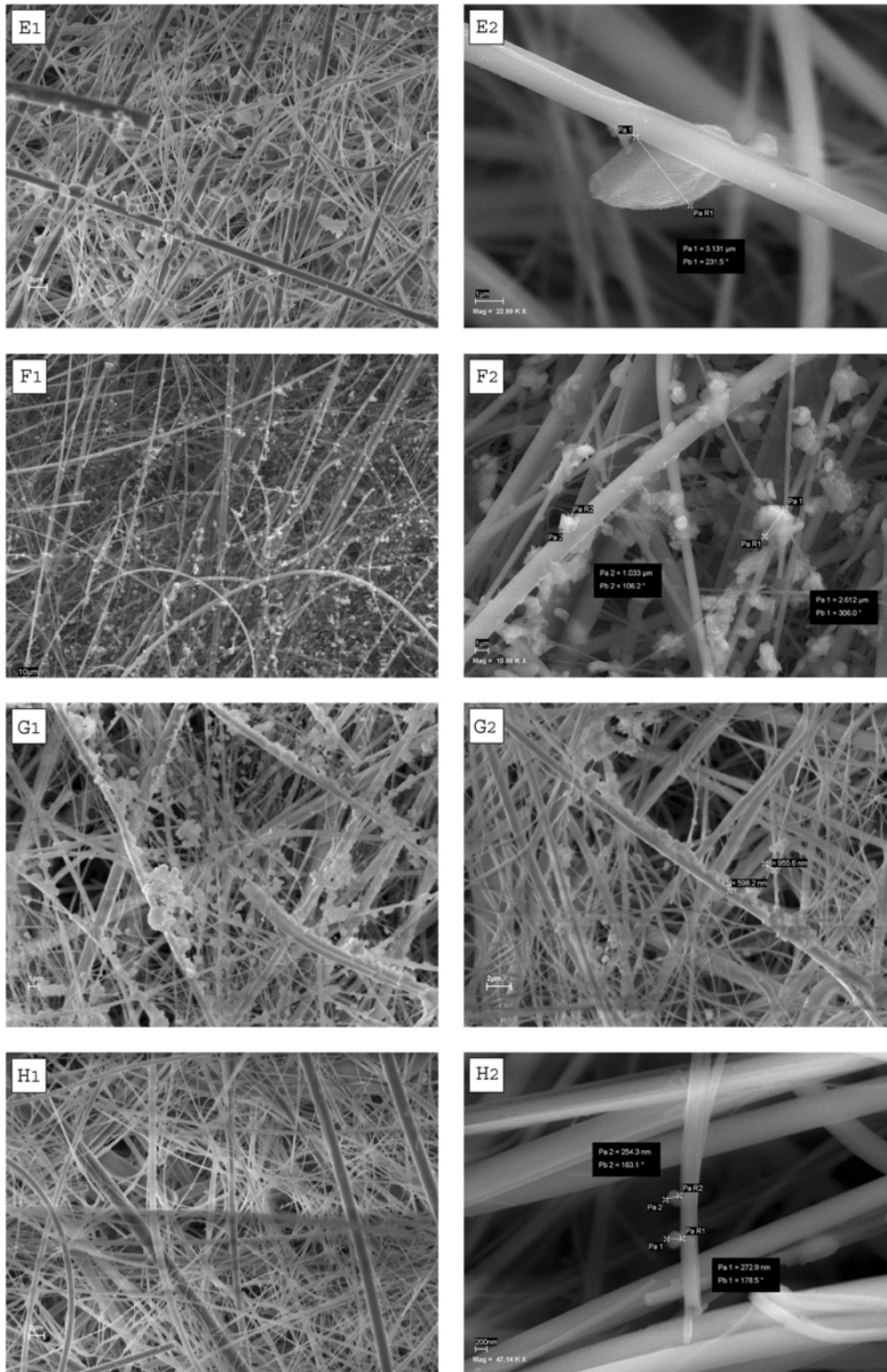


FIG. 2.6. Tamaño de partículas en el interior del captador en cascada Andersen: E1-E2, estadio 4; F1-F2, estadio 5; G1-G2, estadio 6; H1-H2, estadio F. 1, visión general; 2, detalle.

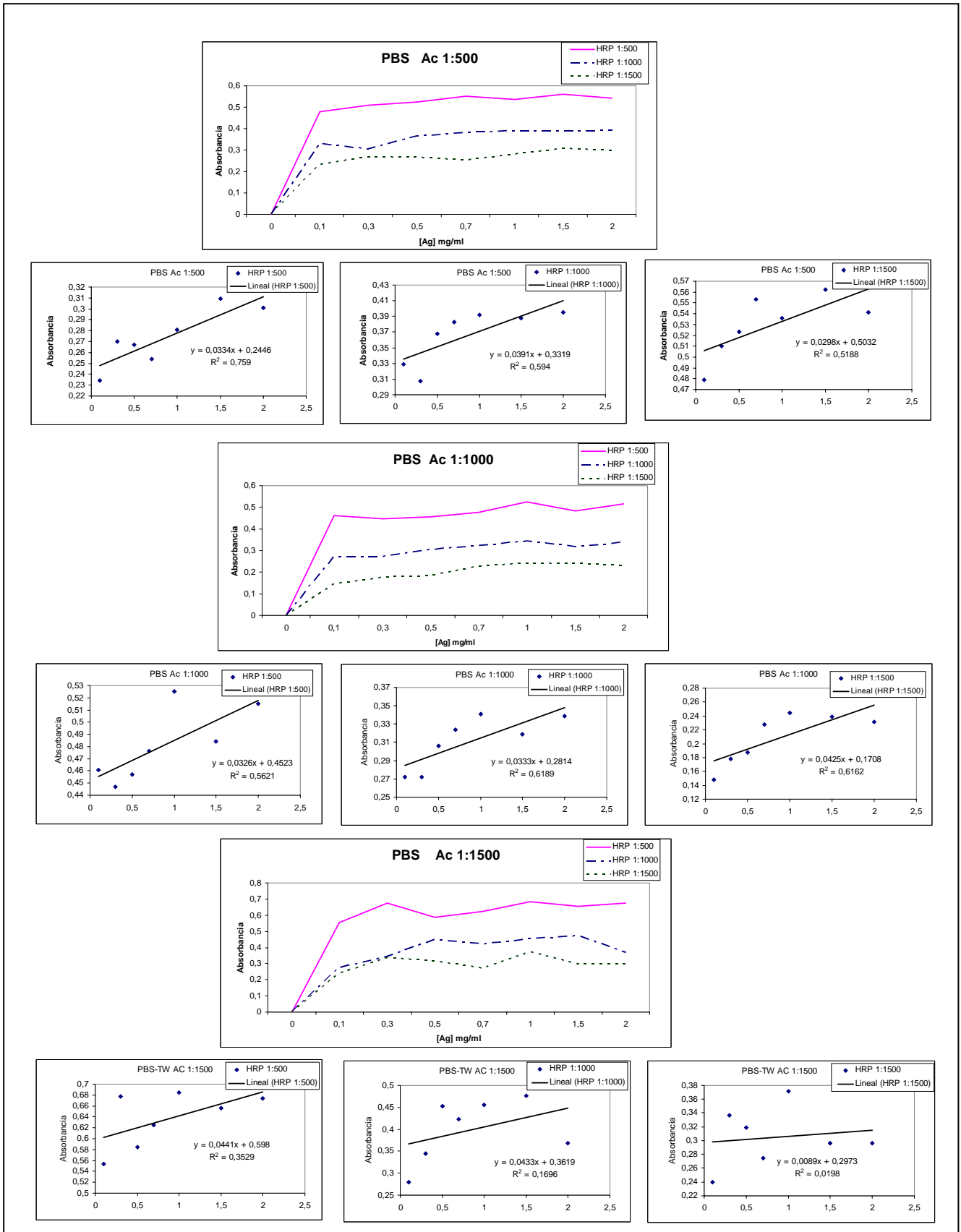


FIG. 2.7. Resultados de las diluciones seriadas realizadas en PBS.

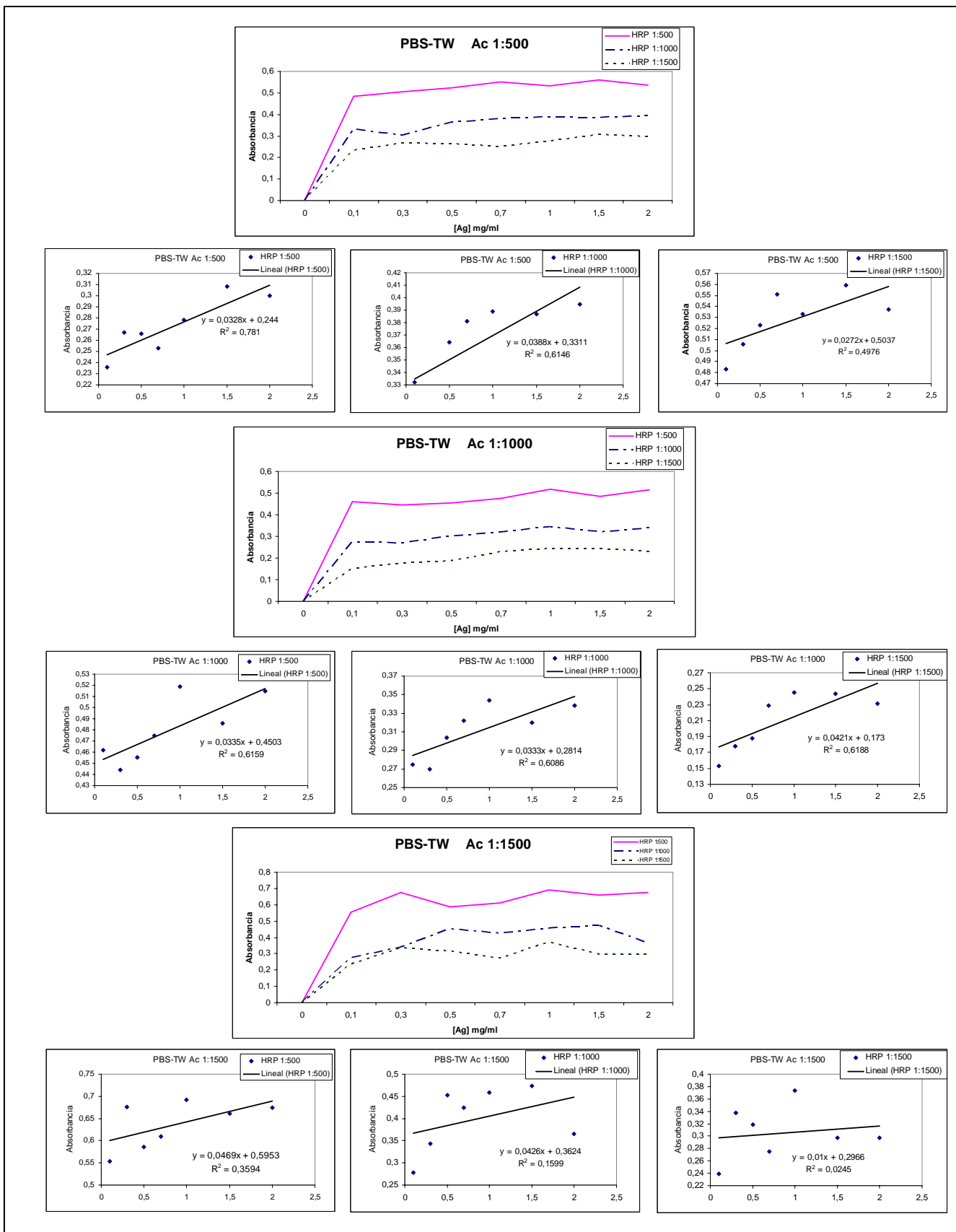


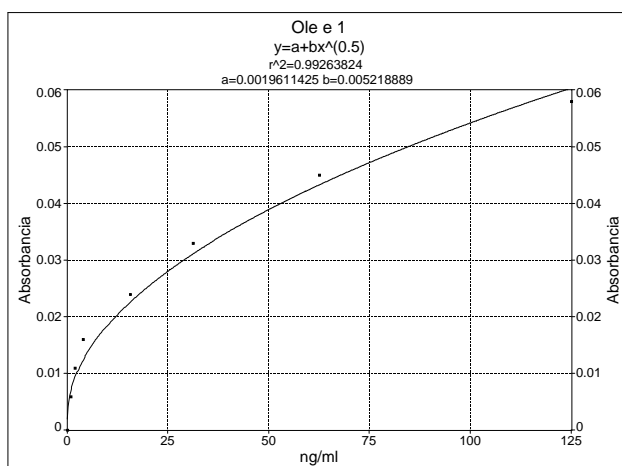
FIG. 2.8. Resultados de las diluciones seriadas realizadas en PBS-TW.



## Curvas de calibrado

Una vez determinadas las concentraciones de anticuerpo primario y secundario necesarios para la Técnica ELISA *indirecto*, se procede a realizar las curvas de calibrado, mostradas con gráficas, y un análisis ANOVA para cada una de las especies (FIG. 2.9, FIG. 2.10, FIG. 2.11, FIG. 2.12, FIG. 2.13 y FIG. 2.14).

Todas muestran un coeficiente de regresión elevado ( $0,966 \leq R^2 \leq 0,998$ ) lo que proporciona un alto grado de confianza.



Variables de la ecuación	Ecuación	R <sup>2</sup>	ANOVA					
			Suma de Cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	P	
a = 1,961E-03 b = 5,218E-03	y=a+bx <sup>(0.5)</sup>	0,992	Regr	0,003	1	0,003		
			Error	2,01e-03	4	6,03E-06	539,349	<b>0,000</b>
			<b>Total</b>	<b>0,003</b>	<b>5</b>			

FIG. 2.9. Curva de calibrado de Ole e 1 y análisis ANOVA.

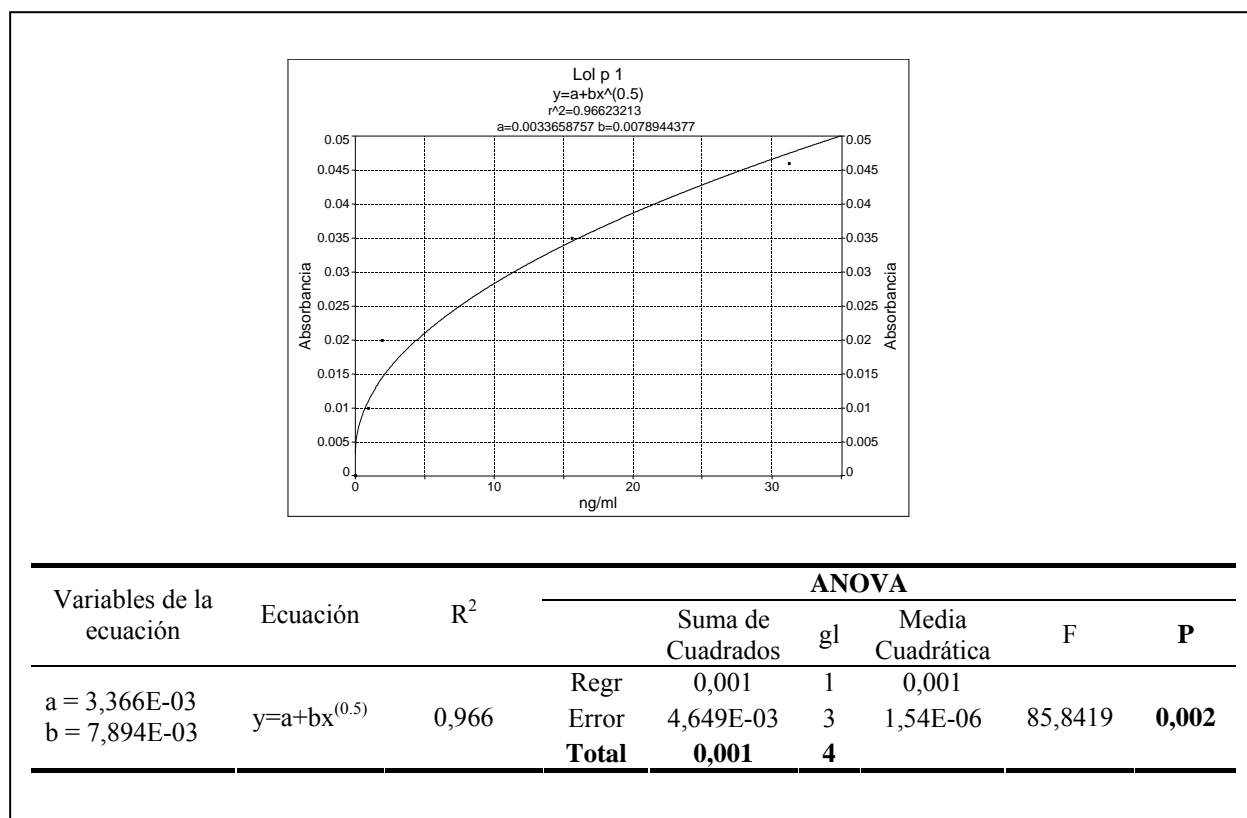


FIG. 2.10. Curva de calibrado de Lol p 1 y análisis ANOVA.

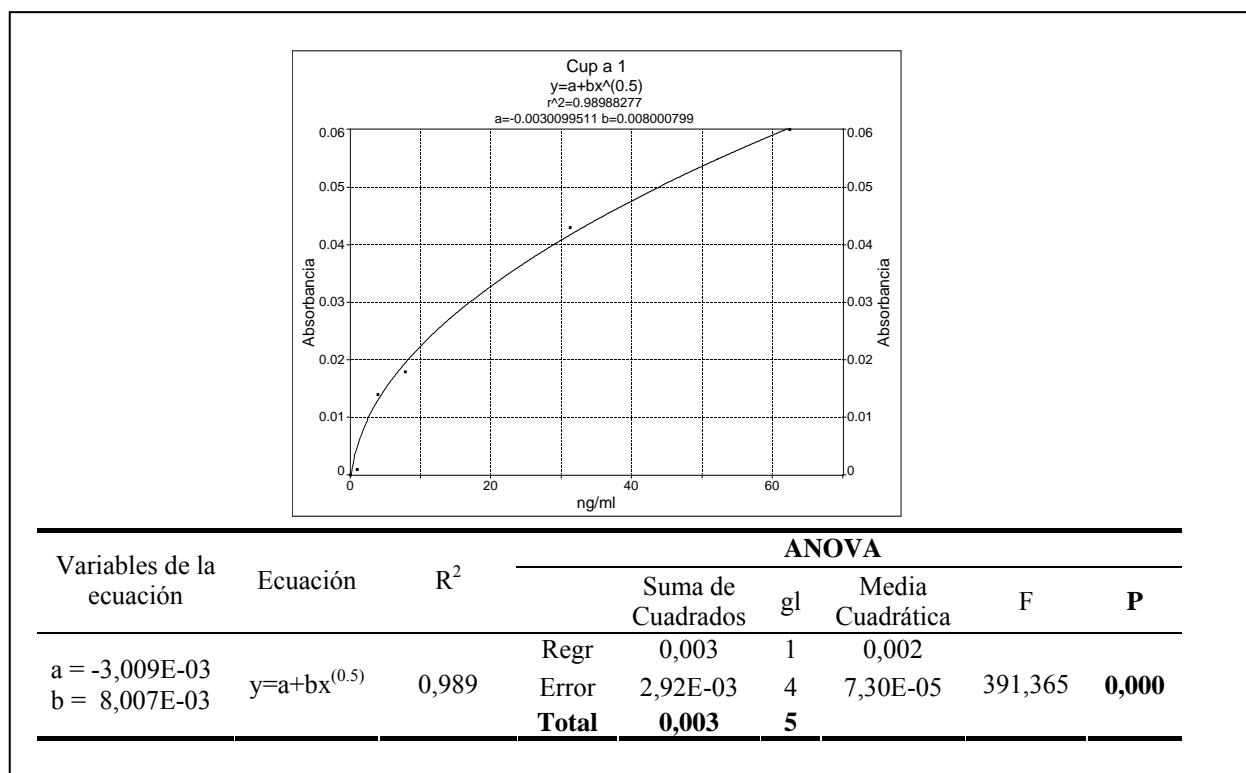
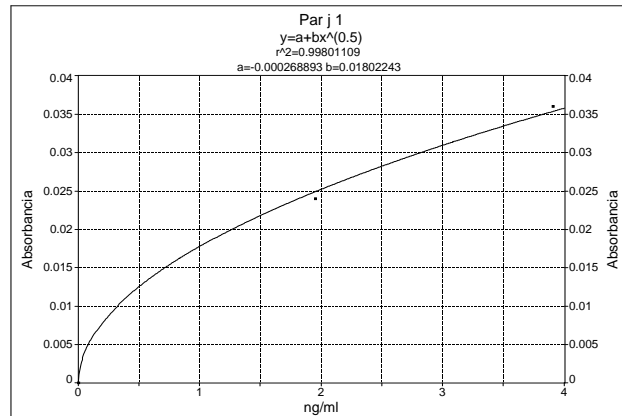
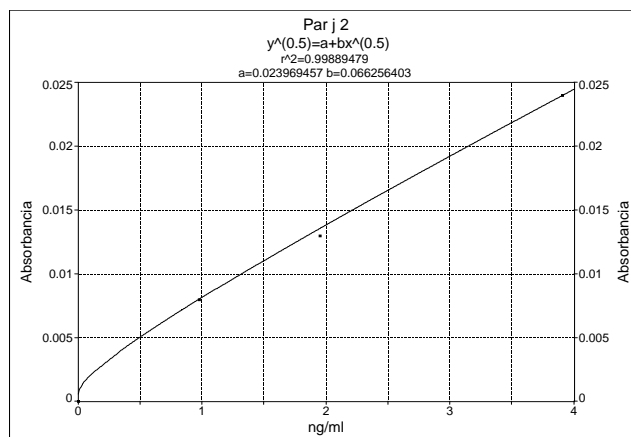


FIG. 2.11. Curva de calibrado de Cup a 1 y análisis ANOVA.



Variables de la ecuación	Ecuación	R <sup>2</sup>	ANOVA					
			Suma de Cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	P	
a = -2,688E-04 b = 1,802E-02	y=a+bx <sup>(0.5)</sup>	0,998	Regr	0,001	1	0,001	1003,57	<b>0,000</b>
			Error	1,336E-06	2	6,68E-07		
			<b>Total</b>	<b>0,000</b>	<b>3</b>			

FIG. 2.12. Curva de calibrado de Par j 1 y análisis ANOVA.



Variables de la ecuación	Ecuación	R <sup>2</sup>	ANOVA					
			Suma de Cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P	
a = 2,396E-02 b = 6,625E-02	y <sup>(0.5)</sup> =a+bx <sup>(0.5)</sup>	0,998	Regr	0,000	1	0,000	1807,61	<b>0,000</b>
			Error	3,30E-07	2	1,65E-07		
			<b>Total</b>	<b>0,000</b>	<b>3</b>			

FIG. 2.13. Curva de calibrado de Par j 2 y análisis ANOVA.

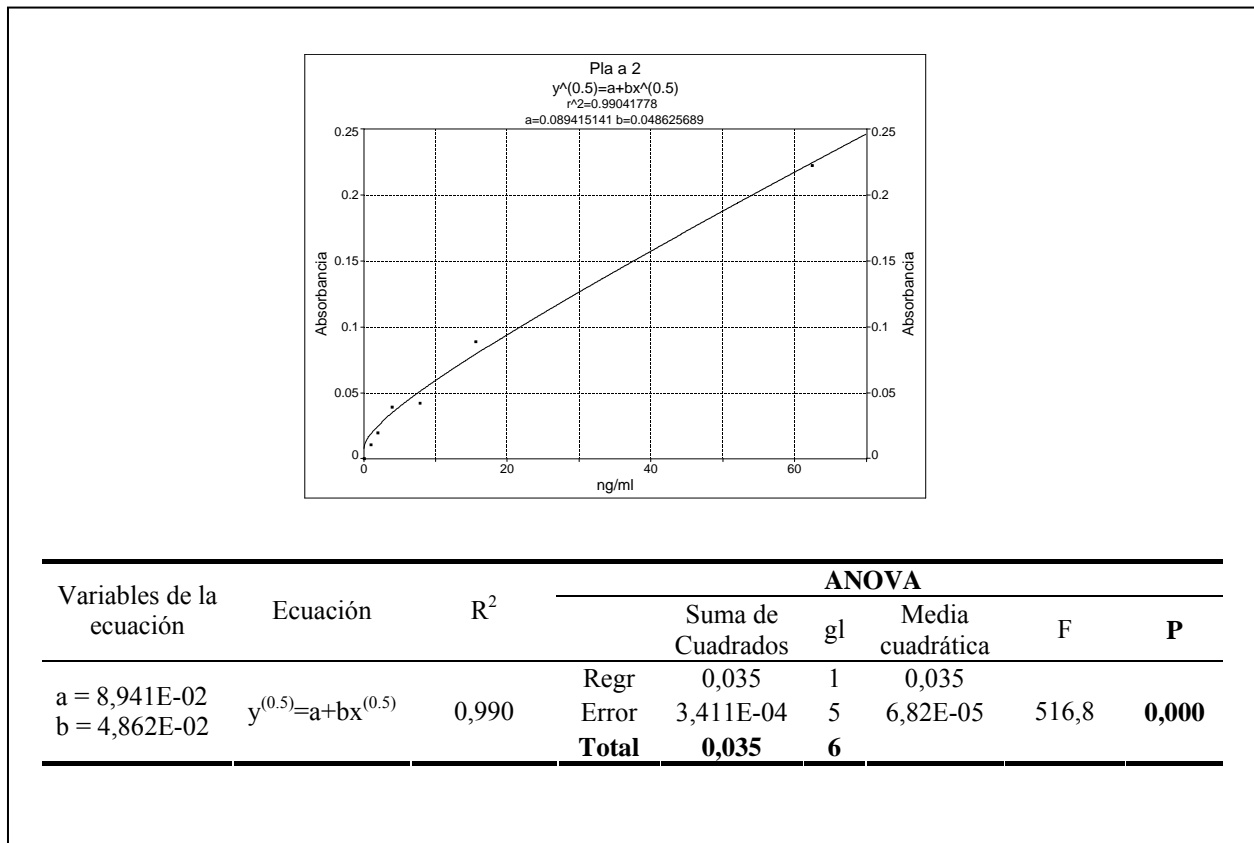


FIG. 2.14. Curva de calibrado de Pla a 2 y análisis ANOVA.

### 2.4.3. DINÁMICA ESTACIONAL DE LA ACTIVIDAD ALÉRGICA EN LA ATMÓSFERA

#### *Olea europaea L. (Ole e 1)*

##### Actividad alérgica (TABLA 2.8)

La Técnica ELISA *indirecto* para este taxon se aplicó en el periodo comprendido entre el 23 de abril al 18 de junio, observando que la actividad alérgica de Ole e 1 se encuentra distribuida por los diferentes tamaños de partículas, siendo el alérgeno más abundante en este estudio con 329.263,45 ng/m<sup>3</sup> de aire. Las mayores concentraciones se encuentran entre los estadios 4 al F y por tanto en la fracción respirable. De la misma manera, se observa que en las dos primeras placas, donde se encuentra el grano de polen, la actividad alérgica registrada es muy baja con un 3,40% y 5,57% del total de alérgenos;

Estadio de impactación	Tamaño partículas impactadas ( $\mu\text{m}$ )	Alergenos Ole e 1 (%)	Total alergenos Ole e 1 ( $\text{ng}/\text{m}^3$ )
0	> 9,0	3,40	11.205,24
1	>5,8	5,57	18.345,94
2	5,8-4,7	11,23	36.980,22
3	4,7-3,3	4,84	16.262,47
4	3,3-2,1	16,83	55.417,58
5	2,1-1,1	21,99	72.402,87
6	1,1-0,7	15,67	51.596,69
F	< 0,7	20,36	67.052,44
<b>SumaTotal</b>			<b>329.263,45</b>

TABLA 2.8. Datos porcentuales (%) y absolutos ( $\text{ng}/\text{m}^3$ ) de Ole e 1 obtenidos en cada estadio de impactación.

por el contrario, en los estadios 5 y F se alcanza la mayor concentración alérgica con valores de  $72.402,87 \text{ ng}/\text{m}^3$  y  $67.052,44 \text{ ng}/\text{m}^3$  respectivamente; seguidos del 6, 4, 2, 1, 3 y 0, lo que indica que la actividad alérgica no es directamente proporcional a los tamaños y que por tanto, Ole e 1 se distribuye de manera aleatoria a lo largo del captador.

#### Dinámica estacional (FIG. 2.15)

Ole e 1 se encuentra presente en la atmósfera a lo largo de todo el periodo de estudio, describiendo una gráfica muy aserrada donde la actividad aumenta o disminuye drásticamente. Podemos señalar que Ole e 1 no sigue ningún patrón estacional en el año 2006, aunque se aprecia una mayor y constante carga alérgica durante el mes de mayo.

El día de máximas concentraciones alérgicas se produjo el 19 de mayo con  $15.944,29 \text{ ng}/\text{m}^3$  y el día de menor actividad el 30 de mayo con  $208,74 \text{ ng}/\text{m}^3$ .

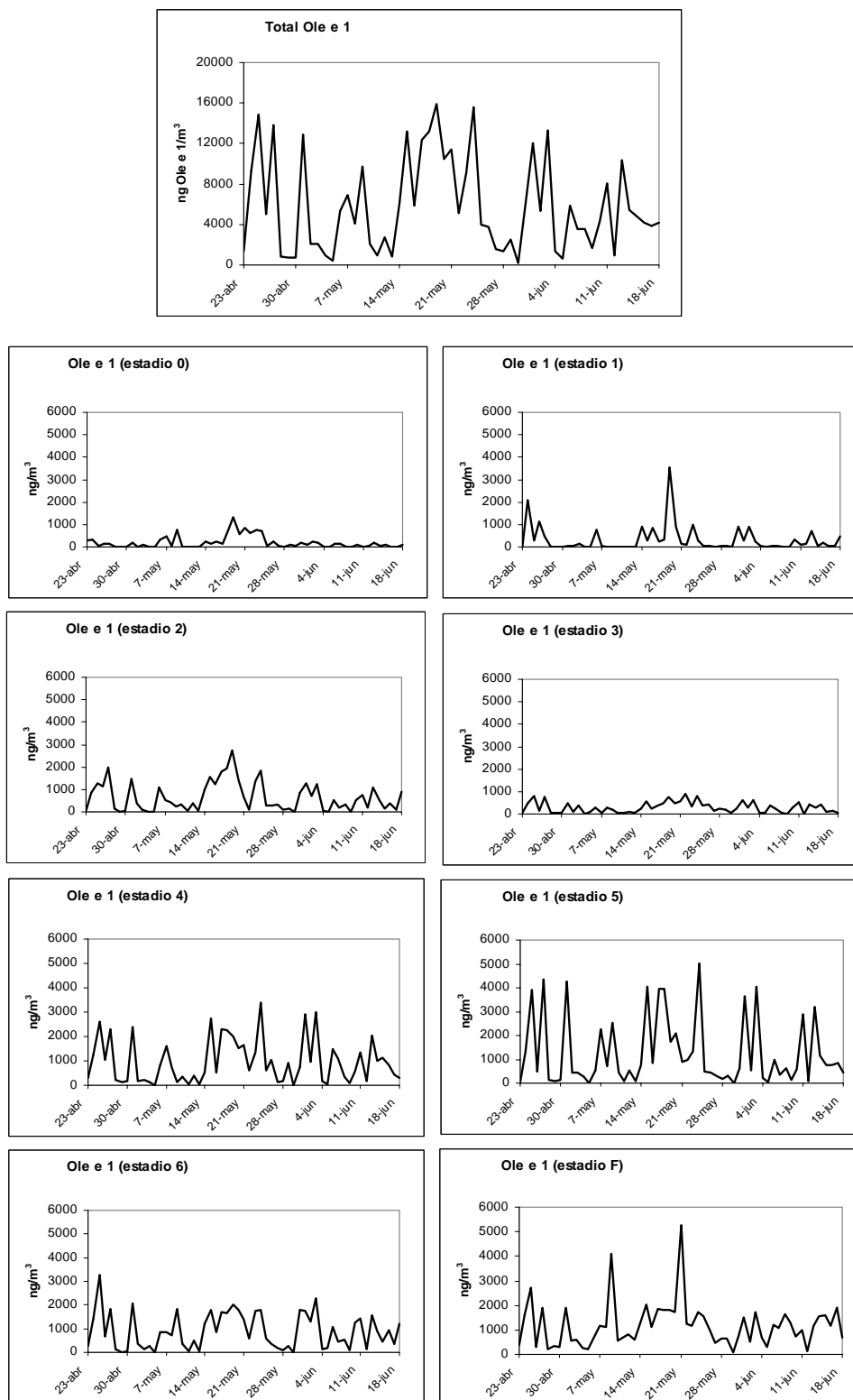


FIG. 2.15. Dinámica de las concentraciones de Ole e 1 totales y por estadios; estadio 0: > 9  $\mu\text{m}$ ; estadio 1: > 5,8  $\mu\text{m}$ ; estadio 2: 5,8-4,7  $\mu\text{m}$ ; estadio 3: 4,7-3,3  $\mu\text{m}$ ; estadio 4: 3,3-2,1  $\mu\text{m}$ ; estadio 5: 2,1-1,1  $\mu\text{m}$ ; estadio 6: 1,1-0,7  $\mu\text{m}$ ; y estadio F: <0,7  $\mu\text{m}$ .

Con respecto a los distintos estadios del captador, se observa claramente que las mayores concentraciones se localizan en las cuatro últimas placas de recolección; la actividad alérgica se va suavizando a lo largo de estos últimos, describiendo una curva muy fluctuante en el 4 y menos aserrada en el F, salvo los días 9 y 29 de mayo donde las concentraciones aumentaron bruscamente.

Los registros promediados de los restantes estadios (del 0 al 3) no superaron los 648,78 ng/m<sup>3</sup>, observándose que las concentraciones máximas se alcanzaron el 19 de mayo con 3.565,40 ng/m<sup>3</sup> en el filtro 1, y 2.730,30 ng/m<sup>3</sup> en el 2.

#### Análisis comparativo de la dinámica de Ole e 1 vs polen *Olea europaea* (FIG. 2.16)

La comparación entre la dinámica alérgica (Ole e 1) y las concentraciones polínicas de *Olea europaea* determina los aumentos y descensos de Ole e 1 en la atmósfera de Granada. En la gráfica “Total Ole e 1 vs polen *Olea*” se observa que en el periodo comprendido entre 5 al 31 de mayo las concentraciones de polen describen una dinámica similar a la de alérgenos.

Esta relación sólo se puede constatar durante el PPP, ya que, en los periodos previos y posteriores a la polinación de *Olea*, también existe una alta actividad alérgica. El día pico para las dos variables del estudio se produjo el 19 de mayo con valores de 2.822 granos/m<sup>3</sup> y 15.944,29 ng/m<sup>3</sup>.

La comparación de los niveles de polen con la actividad alérgica en los distintos estadios revela que la alérgenicidad durante el periodo de máxima floración sigue la misma tendencia que las concentraciones polínicas en todos, exceptuando el 3, donde apenas se registraron valores significativos de alérgenos.

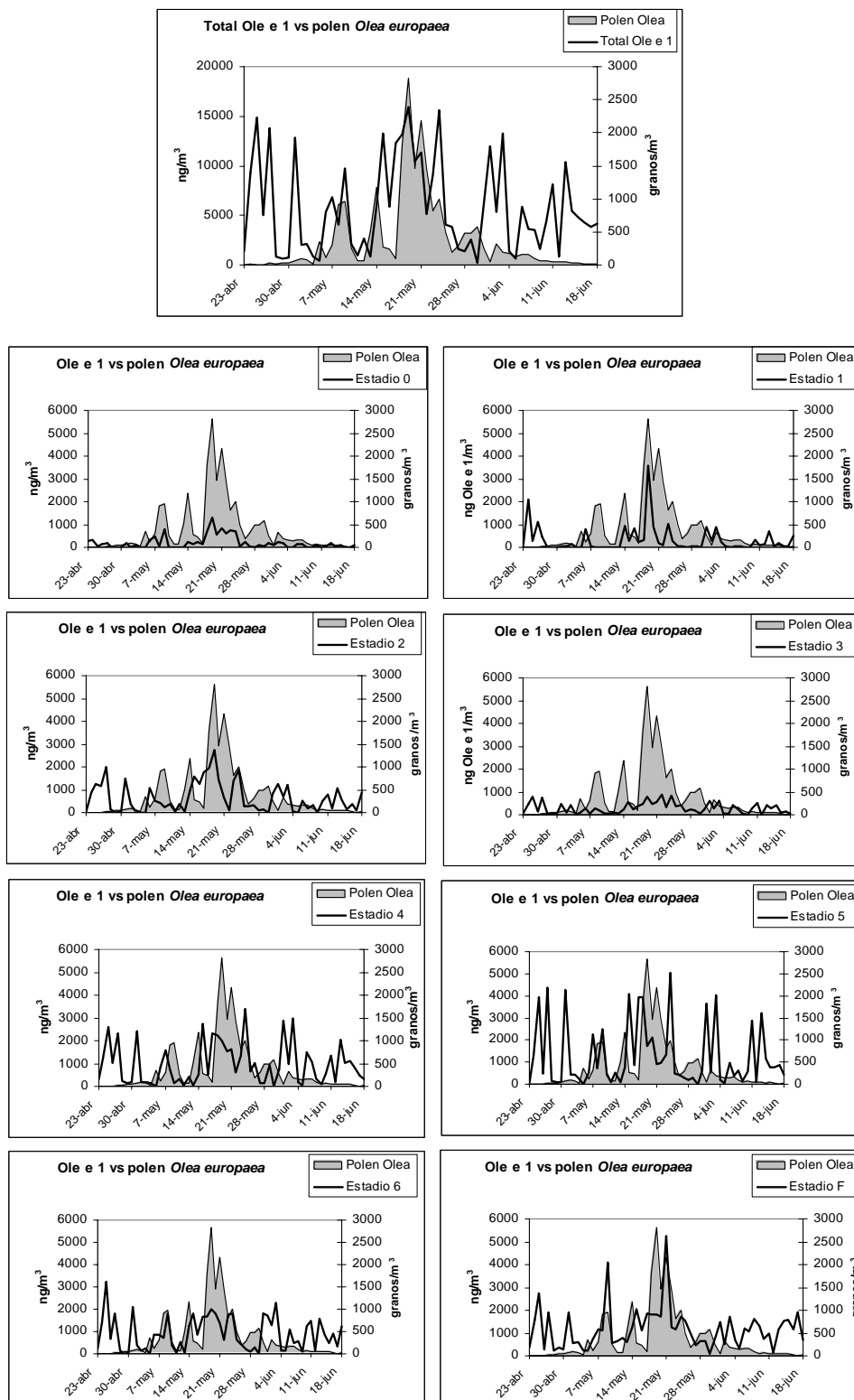


FIG. 2.16. Comparación de la dinámica de las concentraciones totales y por estadios de Ole e 1 ( $\text{ng}/\text{m}^3$ ) frente a polen de *Olea europaea* ( $\text{granos}/\text{m}^3$ ).



***Poaceae Barnhart (Lol p 1)*****Actividad alérgica (TABLA 2.9)**

Lol p 1 a lo largo del periodo de muestreo (1 de abril al 30 de junio), ha resultado ser el tercer alérgeno más abundante en la atmósfera de Granada, alcanzando un total de 200.033,70 ng/m<sup>3</sup> de aire. Su distribución en función de los tamaños de partículas presenta un comportamiento irregular, ya que los tamaños de partículas no siguen el mismo patrón que la actividad alérgica. En los últimos estadios, del 4 al F, es donde se registran las mayores concentraciones y por tanto, en la fracción respirable. En las placas de recolección 0 y 1 con tamaños de partículas mayores a 5,8 µm sólo se ha detectado el 1,52% y 5,66% del total de la actividad alérgica respectivamente.

Estadio de impactación	Tamaño partículas impactadas (µm)	Alérgenos Lol p 1 (%)	Total alérgenos Lol p 1 (ng/m <sup>3</sup> )
0	> 9,0	1,52	3.044,60
1	>5,8	5,66	11.328,98
2	5,8-4,7	10,53	21.069,27
3	4,7-3,3	3,93	7.857,29
4	3,3-2,1	16,63	33.269,57
5	2,1-1,1	23,59	47.189,43
6	1,1-0,7	18,40	36.813,32
F	< 0,7	19,73	39.461,70
<b>SumaTotal</b>			<b>200.033,70</b>

TABLA 2.9. Datos porcentuales (%) y absolutos (ng/m<sup>3</sup>) de Lol p 1 obtenidos en cada estadio de impactación.

**Dinámica estacional (FIG. 2.17)**

La dinámica alérgica de Lol p 1 se ha caracterizado por la presencia continuada de esta proteína durante los tres meses de análisis, aunque se produjeron aumentos y descensos acusados en todo el periodo muestreado.

Los niveles más altos de Lol p 1 se registraron los días 9 (9.860,80 ng/m<sup>3</sup>), 26 (8.834,76 ng/m<sup>3</sup>) y 30 de mayo (8.902,42 ng/m<sup>3</sup>), siendo el 17 de este mes cuando menos actividad alérgica se registró (116,94 ng/m<sup>3</sup>).

El estudio de este aeroalergeno en función de los tamaños de partículas muestra que las mayores concentraciones se encuentran entre los estadios 4 al F llegando a registrar el día 9 de mayo 2.876,63 ng/m<sup>3</sup> en la placa de recolección número 5.

En el estadio 1 destaca la existencia de actividad alérgica durante un periodo relativamente corto (del 18 mayo al 15 junio) donde los valores alcanzaron un máximo de 443,33 ng/m<sup>3</sup> el 29 de mayo.

#### Análisis comparativo de la dinámica de Lol p 1 vs polen *Poaceae* (FIG. 2.18)

La dinámica de Lol p 1 en comparación con las concentraciones polínicas revela que ambas variables presentan una evolución paralela durante todo el muestreo. El día de máximas concentraciones alérgicas y polínicas sólo difieren en 24 horas (8 de mayo, 141 granos/m<sup>3</sup>; 9 de mayo, 7.991,31 ng/m<sup>3</sup>). A pesar de ello, en el periodo post estacional de polen de Gramíneas, sigue existiendo altas concentraciones de Lol p 1 aún siendo muy escasos los granos de polen contabilizados.

La comparación de concentraciones polínicas para los distintos tamaños de partículas revela que, en el estadio 1 se registra del 20 al 30 mayo una concentración casi continua de alérgenos y que se corresponde con altas concentraciones polínicas, como el 24 de mayo (123 granos/m<sup>3</sup>) y el 25 de mayo (1.706,28 ng/m<sup>3</sup>).

Por otra parte, en los estadios 4 al F, la dinámica es significativa, ascendiendo y descendiendo ambas curvas de forma paralela. Sin embargo, en todos ellos, la concentración de Lol p 1 continúa siendo elevada finalizado el periodo máximo de polinación de *Poaceae*.

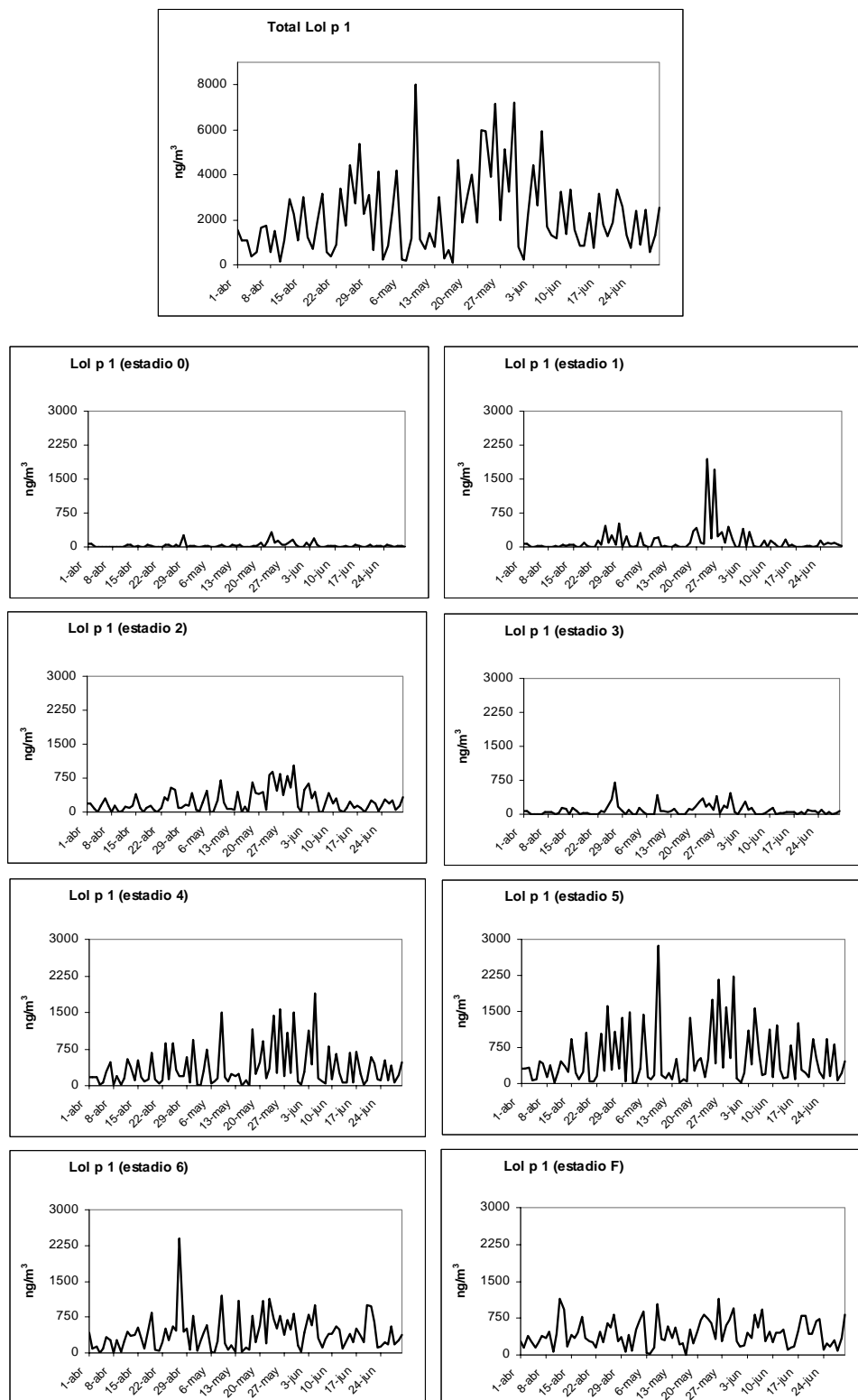


FIG. 2.17. Dinámica de las concentraciones de Lol p 1 totales y por estadios; estadio 0:  $> 9 \mu\text{m}$ ; estadio 1:  $> 5,8 \mu\text{m}$ ; estadio 2:  $5,8-4,7 \mu\text{m}$ ; estadio 3:  $4,7-3,3 \mu\text{m}$ ; estadio 4:  $3,3-2,1 \mu\text{m}$ ; estadio 5:  $2,1-1,1 \mu\text{m}$ ; estadio 6:  $1,1-0,7 \mu\text{m}$ ; y estadio F:  $<0,7 \mu\text{m}$ .

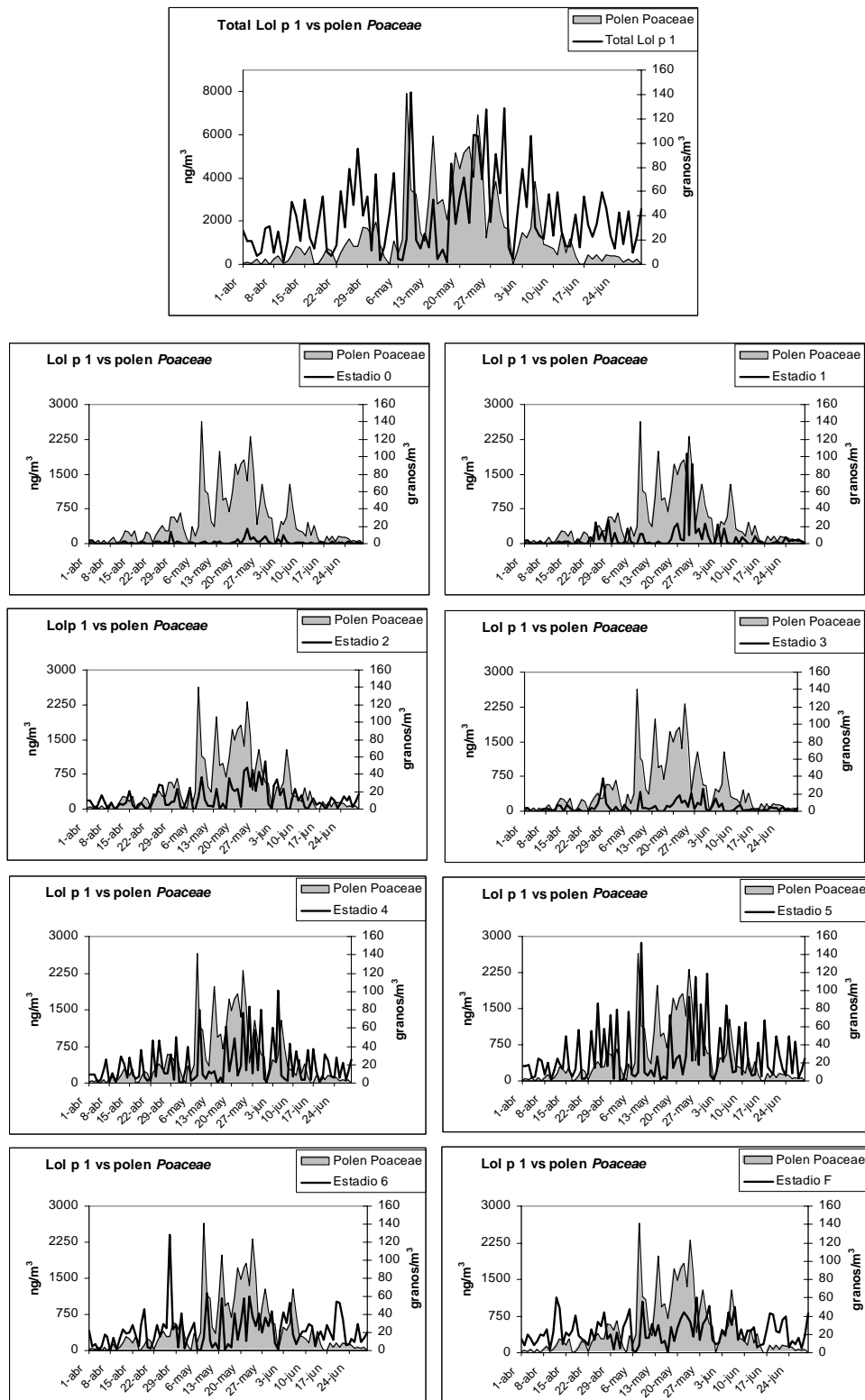


Fig. 2.18. Comparación de la dinámica de las concentraciones totales y por estadios de Lol p 1 ( $\text{ng/m}^3$ ) frente a polen de *Poaceae* ( $\text{granos/m}^3$ ).

**Cupressaceae Bartl. (Cup a 1)****Actividad alérgica (TABLA 2.10)**

El análisis de la actividad alérgica de Cup a 1 se realizó en el periodo comprendido entre el 16 de enero al 9 de mayo. En cifras absolutas, se ha registrado 201.433,53 ng/m<sup>3</sup> de aire, siendo el segundo tipo alérgico más abundante en este estudio. La actividad alérgica de Cup a 1 se encuentra distribuida por los diferentes tamaños de partículas aunque las mayores concentraciones de alérgenos se detectan desde el estadio 4 al F, fundamentalmente en el 5 con 47.397,47 ng/m<sup>3</sup>. Tan solo el 1,82% y 3,35% de la actividad alérgica total se encuentran en las placas de recolección número 0 y 1 respectivamente, correspondiente al lugar donde impactarían los granos de polen.

Estadio de impactación	Tamaño partículas impactadas (µm)	Alérgenos Cup a 1 (%)	Total alérgenos Cup a 1 (ng/m <sup>3</sup> )
0	> 9,0	1,82	3.657,38
1	>5,8	3,35	6.738,68
2	5,8-4,7	10,77	21.685,67
3	4,7-3,3	3,45	6.958,14
4	3,3-2,1	16,82	33.395,51
5	2,1-1,1	23,53	47.395,47
6	1,1-0,7	19,27	38.817,59
F	< 0,7	21,01	43.319,35
<b>Suma Total</b>			<b>201.433,53</b>

TABLA 2.10. Datos porcentuales (%) y absolutos (ng/m<sup>3</sup>) de Cup a 1 obtenidos en cada estadio de impactación.

**Dinámica estacional (FIG. 2.19)**

La dinámica alérgica de Cup a 1 está presente en la atmósfera durante la totalidad del periodo muestreado, presentando una gráfica bastante irregular. El día de máximas concentraciones se produjo el 13 de marzo donde se registró un total de 7.856,55 ng/m<sup>3</sup> de aire y el de menor actividad el 3 de mayo con 68,06 ng/m<sup>3</sup>.

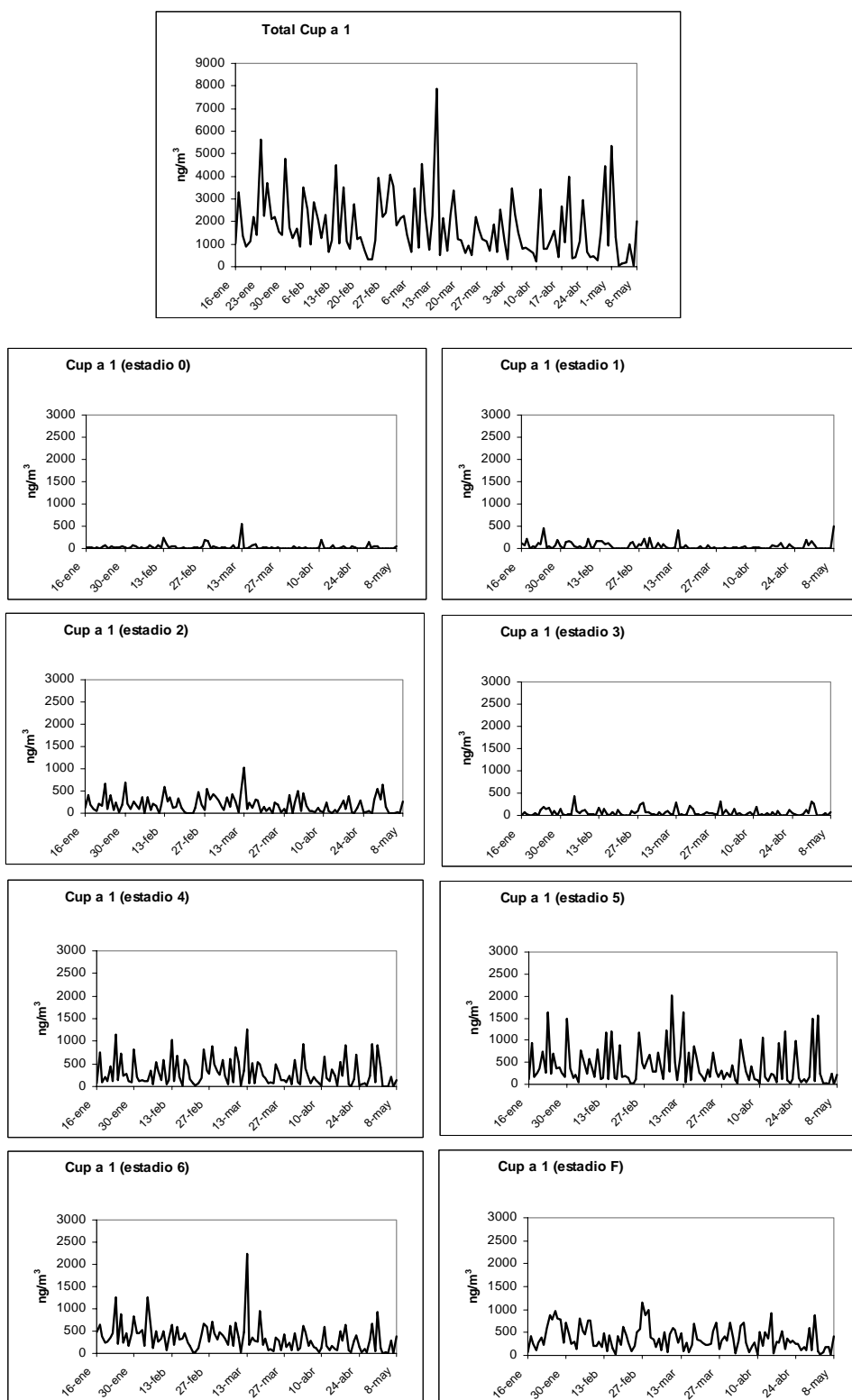


FIG. 2.19. Dinámica de las concentraciones de Cup a 1 totales y por estadios; estadio 0: > 9  $\mu\text{m}$ ; estadio 1: > 5,8  $\mu\text{m}$ ; estadio 2: 5,8-4,7  $\mu\text{m}$ ; estadio 3: 4,7-3,3  $\mu\text{m}$ ; estadio 4: 3,3-2,1  $\mu\text{m}$ ; estadio 5: 2,1-1,1  $\mu\text{m}$ ; estadio 6: 1,1-0,7  $\mu\text{m}$ ; y estadio F: <0,7  $\mu\text{m}$ .

El estudio de las fracciones de partículas según su tamaño muestra que la mayor actividad alérgica se encuentra entre los estadios 4 y F registrándose el 13 de marzo 2.233,11 ng/m<sup>3</sup> en el 6 y 1.624,52 ng/m<sup>3</sup> en el 5.

En general, en las placas de recolección del 0 al 3 se observa que apenas existe actividad alérgica; sin embargo, en las tres primeras sus concentraciones ascienden ligeramente el 13 de marzo: 0 (558,11 ng/m<sup>3</sup>), 1 (405,99 ng/m<sup>3</sup>) y 2 (1.021,75 ng/m<sup>3</sup>).

#### Análisis comparativo de la dinámica de Cup a 1 vs polen *Cupressaceae* (FIG. 2.20)

La comparación entre la dinámica alérgica y las concentraciones polínicas de *Cupressaceae* muestra que durante el periodo de máxima floración ambas variables evolucionan de manera similar, coincidiendo en el día pico, 13 de marzo, con 7.856,55 ng/m<sup>3</sup> y 950 granos/m<sup>3</sup>.

El estudio en función de los tamaños de partículas revela que en el estadio 5 es donde se presenta una mayor relación con respecto a los registros polínicos excepto el 1 de mayo donde se detectaron 1.598,97 ng/m<sup>3</sup> de aire y sólo se contabilizaron 19 granos/m<sup>3</sup>.

El día de máximas concentraciones de polen de *Cupressaceae* se produjo el 13 de marzo coincidiendo con un aumento significativo de actividad alérgica en todos los estadios (excepto 3 y F).

#### ***Urticaceae* Juss. (Par j 1)**

##### Actividad alérgica (TABLA 2.11)

El análisis de los alérgenos de *Parietaria* se ha realizado durante cinco meses de manera ininterrumpida (1 de febrero al 30 de junio). En datos absolutos, se han registrado 76.103,93 ng/m<sup>3</sup> de Par j 1 en la totalidad del periodo de muestreo. La distribución de este alérgeno en función de sus dimensiones revela que en la fracción respirable (estadios 4 al F) es donde se encuentran las mayores concentraciones (82%) del total de alérgenos contabilizados, siendo en el 5 donde se alcanza la máxima actividad (17.241,38 ng/m<sup>3</sup>) y en el 0 donde se encuentran las menores concentraciones (2.116,25 ng/m<sup>3</sup>).

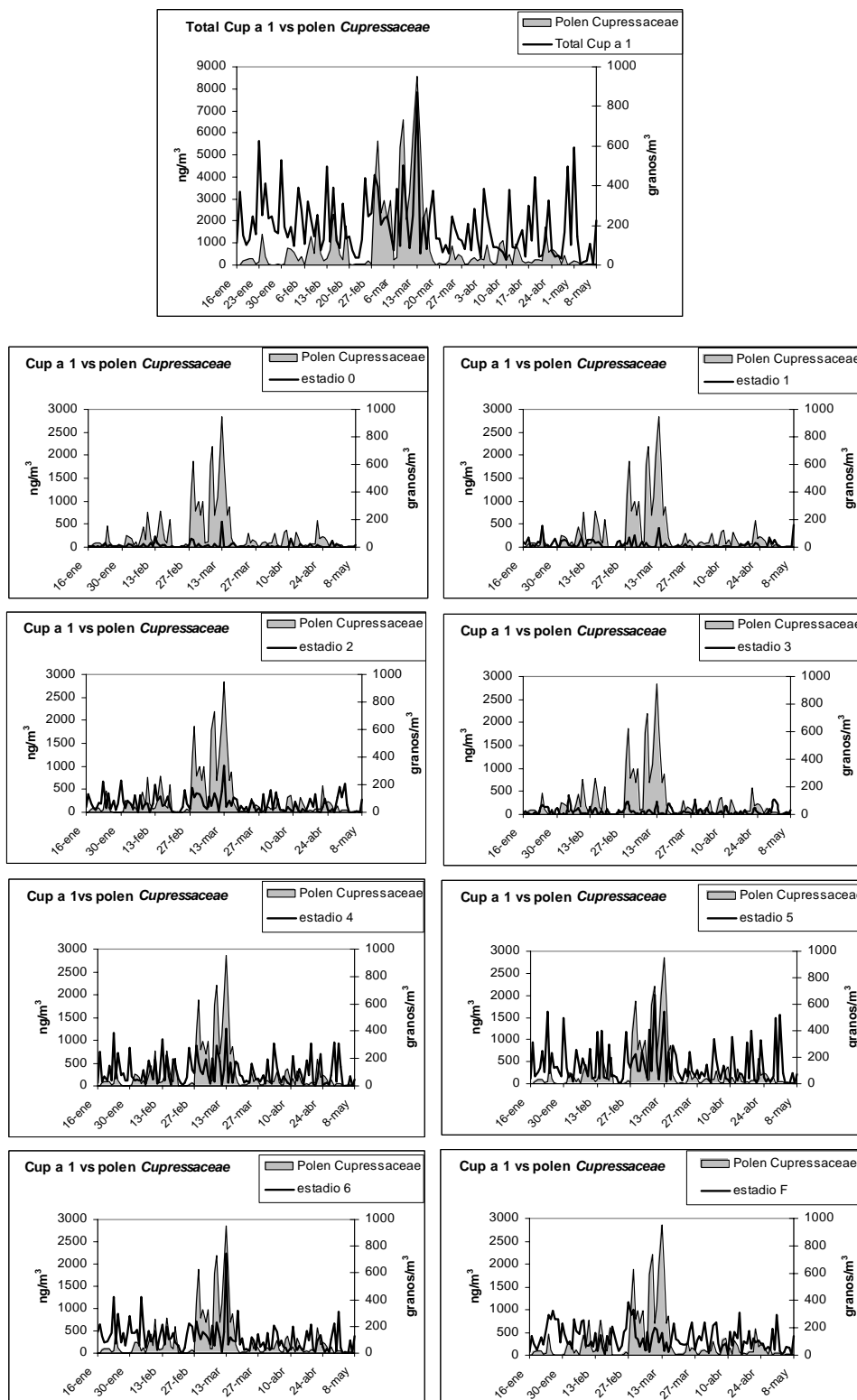


FIG. 2.20. Comparación de la dinámica de las concentraciones totales y por estadios de Cup a 1 (ng/m<sup>3</sup>) frente a polen de *Cupressaceae* (granos/m<sup>3</sup>).



Estadio de impactación	Tamaño partículas impactadas ( $\mu\text{m}$ )	Alergenos Par j 1 (%)	Total alergenos Par j 1 ( $\text{ng}/\text{m}^3$ )
0	> 9,0	2,78	2.116,25
1	>5,8	4,00	3.047,52
2	5,8-4,7	11,78	8.964,59
3	4,7-3,3	4,55	3.461,58
4	3,3-2,1	17,44	13.275,45
5	2,1-1,1	22,66	17.241,38
6	1,1-0,7	16,83	12.811,37
F	< 0,7	20,35	15.489,23
<b>Suma Total</b>			<b>76.103,93</b>

TABLA 2.11. Datos porcentuales (%) y absolutos ( $\text{ng}/\text{m}^3$ ) de Par j 1 obtenidos en cada estadio de impactación.

### Dinámica estacional (FIG. 2.21)

El estudio de la dinámica alérgica, muestra que a lo largo de los 5 meses de análisis, las concentraciones de Par j 1 no desaparecen por completo en ninguno de los días mostrando una gráfica muy aserrada. Presenta dos periodos bien diferenciados, el primero (1 febrero-26 abril) con niveles moderados y el segundo (29 abril-30 junio) donde las cantidades de alergenos son claramente más elevadas. El día pico se produjo el 9 de mayo con  $1.702,14 \text{ ng}/\text{m}^3$ .

La evolución de la actividad alérgica en los cuatro últimos estadios es la más elevada, con gráficos muy irregulares.

En los filtros 0 y 1 existe actividad alérgica durante todo el muestreo siendo significativo los niveles alcanzados en el 0, el 17 de mayo ( $285,18 \text{ ng}/\text{m}^3$ ). De la misma manera en la placa de recolección 1 se puede observar que los últimos 37 días de análisis, la carga proteica es ligeramente más elevada con una suma de  $881,13 \text{ ng}/\text{m}^3$ . Es de destacar que esa pequeña estacionalidad, mostrada en la gráfica de concentraciones totales, se observa también en los estadios 4 y 5.

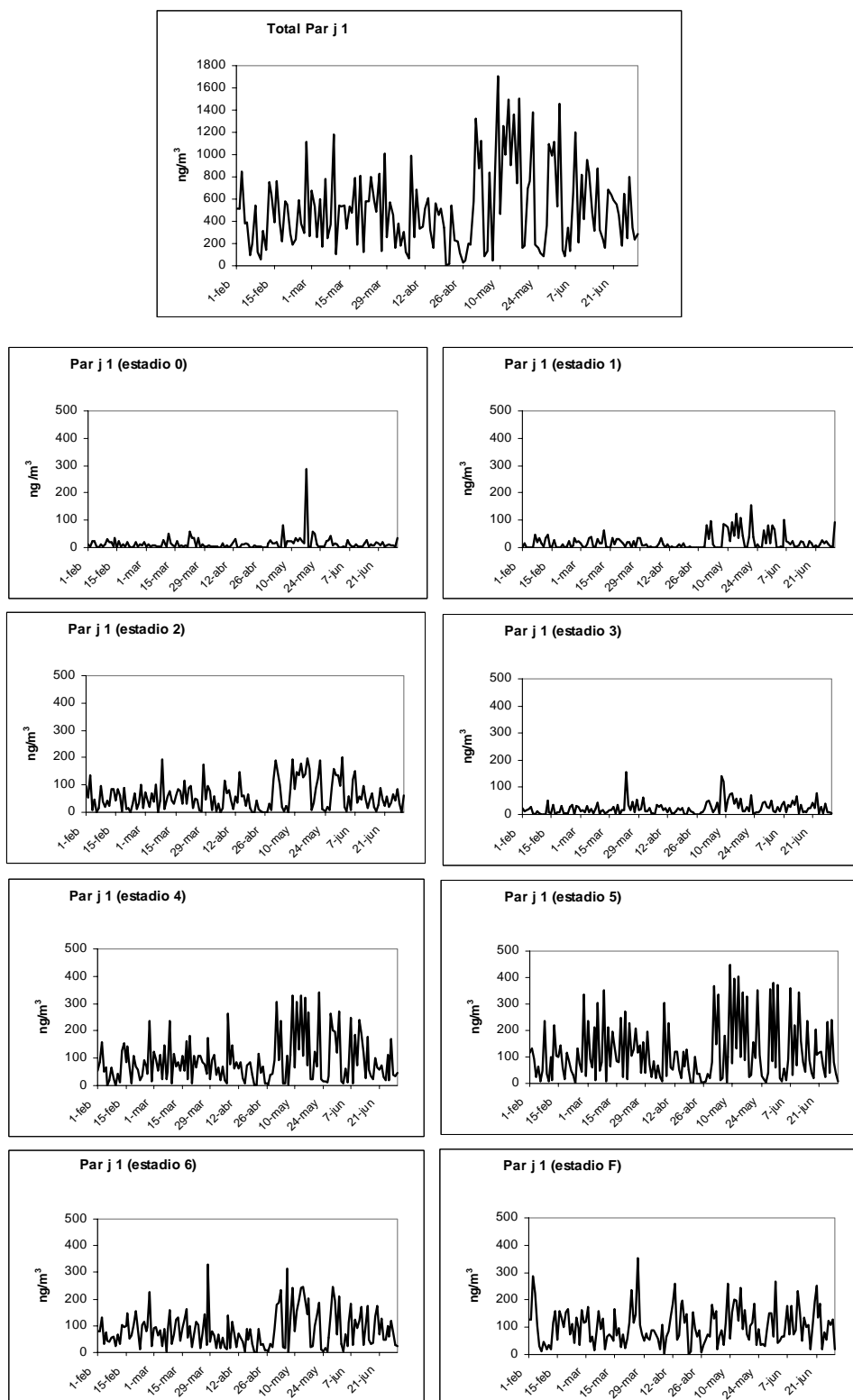


Fig. 2.21. Dinámica de las concentraciones de Par j 1 totales y por estadios; estadio 0: > 9  $\mu\text{m}$ ; estadio 1: > 5,8  $\mu\text{m}$ ; estadio 2: 5,8-4,7  $\mu\text{m}$ ; estadio 3: 4,7-3,3  $\mu\text{m}$ ; estadio 4: 3,3-2,1  $\mu\text{m}$ ; estadio 5: 2,1-1,1  $\mu\text{m}$ ; estadio 6: 1,1-0,7  $\mu\text{m}$ ; y estadio F: <0,7  $\mu\text{m}$ .

### Análisis comparativo de la dinámica de Par j 1 vs polen *Urticaceae* (FIG. 2.22)

Al contrastar la dinámica de Par j 1 con niveles de polen de *Urticaceae* observamos que existen diferencias significativas. De manera general, se observa que los mayores registros polínicos de esta familia se detectan en la primera estacionalidad mostrada por Par j 1, donde la carga proteica es menor. Por el contrario, durante los últimos meses, los valores se invierten, existiendo mayores niveles de alergenos que de polen.

Con respecto a la distribución por tamaños de partículas, se observa que todos los estadios presentan mayor actividad a partir del 9 de mayo, periodo donde apenas existen registros de *Urticaceae*, existiendo incluso en el estadio 0 una única señal de actividad el 17 de mayo con 285,18 ng/m<sup>3</sup> y 18 granos/m<sup>3</sup>.

### ***Urticaceae Juss. (Par j 2)***

#### Actividad alérgica (TABLA 2.12)

Las concentraciones de Par j 2 superan en un 176% a las concentraciones de Par j 1, siendo el cuarto alergen en importancia en la atmósfera de Granada. En cifras absolutas se alcanzaron 134.360,79 ng/m<sup>3</sup> en todo el periodo de muestreo. Las máximas concentraciones se encuentran repartidas en los estadios 5 y F con un 18,52% y 18,68% del total de proteínas. De igual manera, en los filtros donde se encuentran los granos de polen, el porcentaje de actividad alérgica sólo alcanza el 5,02% y 6,10% del total registrado.

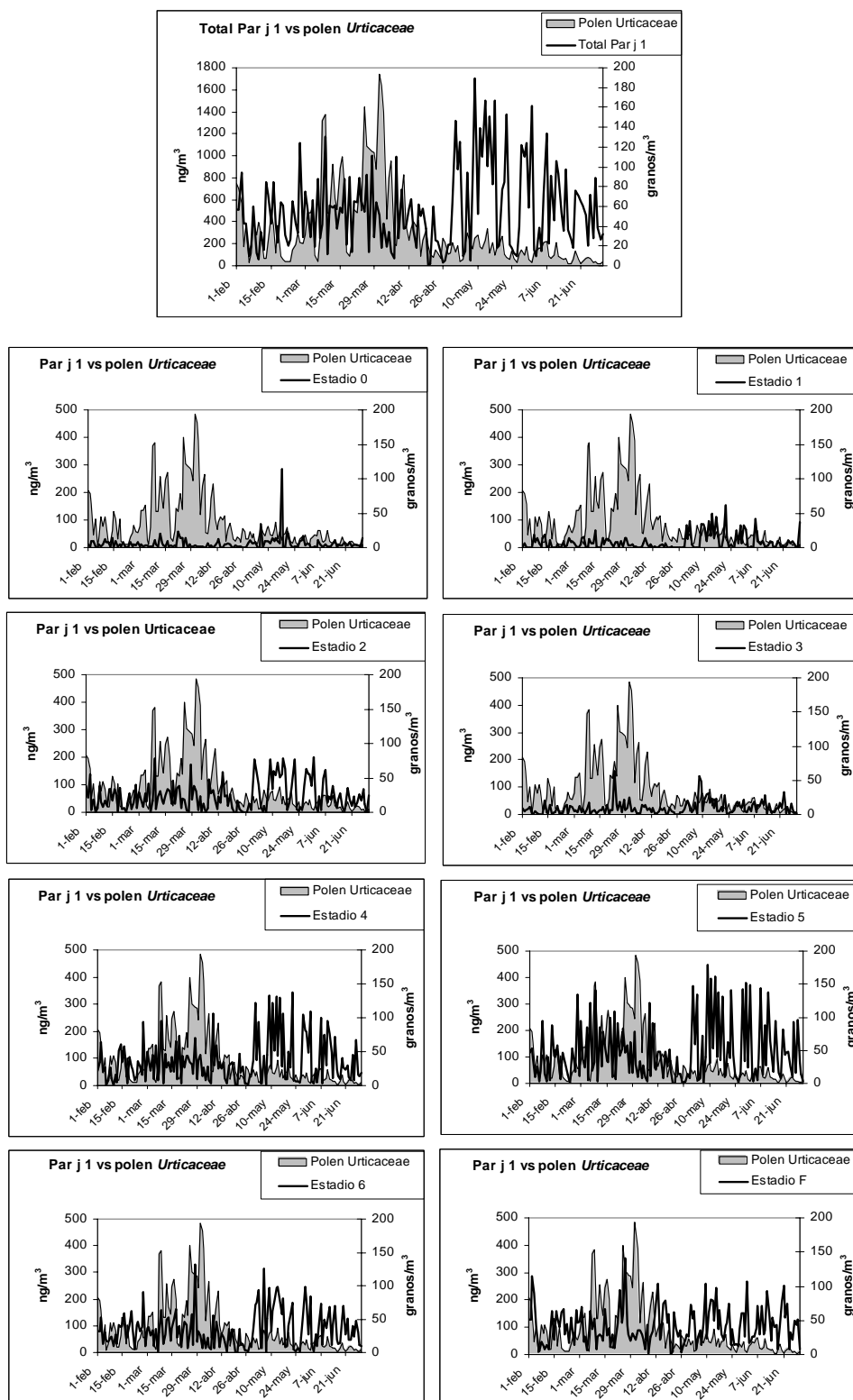


Fig. 2.22. Comparación de la dinámica de las concentraciones totales y por estadios de Par j 1 ( $\text{ng}/\text{m}^3$ ) frente a polen de *Urticaceae* ( $\text{granos}/\text{m}^3$ ).

Estadio de impactación	Tamaño partículas impactadas ( $\mu\text{m}$ )	Alergenos Par j 2 (%)	Total alergenos Par j 2 ( $\text{ng}/\text{m}^3$ )
0	> 9,0	5,02	6.750,37
1	>5,8	6,10	8.196,47
2	5,8-4,7	12,74	17.120,36
3	4,7-3,3	7,17	9.638,12
4	3,3-2,1	16,14	21.688,65
5	2,1-1,1	18,52	24.884,40
6	1,1-0,7	16,14	21.681,35
F	< 0,7	18,68	25.102,84
<b>Suma Total</b>			<b>134.360,79</b>

TABLA 2.12. Datos porcentuales (%) y absolutos ( $\text{ng}/\text{m}^3$ ) de Par j 2 obtenidos en cada estadio de impactación.

### Dinámica estacional (FIG. 2.23)

El estudio de la dinámica estacional de Par j 2 apenas difiere de la obtenida para Par j 1, donde a lo largo de los cinco meses de muestreo, existe actividad alérgica en la atmósfera de Granada de forma ininterrumpida.

Aunque más sutilmente, se puede apreciar las dos estacionalidades existentes, encontrándose las mayores concentraciones alérgicas en los dos últimos meses de muestreo. El día de mayores registros se produjo el 9 de mayo con  $1.993,64 \text{ ng}/\text{m}^3$  mientras que el 20 de abril se alcanzaron sólo  $22,18 \text{ ng}/\text{m}^3$ .

El estudio por tamaños revela que la mayor actividad se encuentran en los cuatro últimos estadios y por tanto en partículas que fácilmente pueden penetrar en las vías respiratorias bajas. En este caso, las estacionalidades son menos marcadas que en Par j 1, destacando las concentraciones alcanzadas en la placa 0 los días 1 de abril y 17 de mayo ( $187,42 \text{ ng}/\text{m}^3$  y  $312,28 \text{ ng}/\text{m}^3$ , respectivamente).

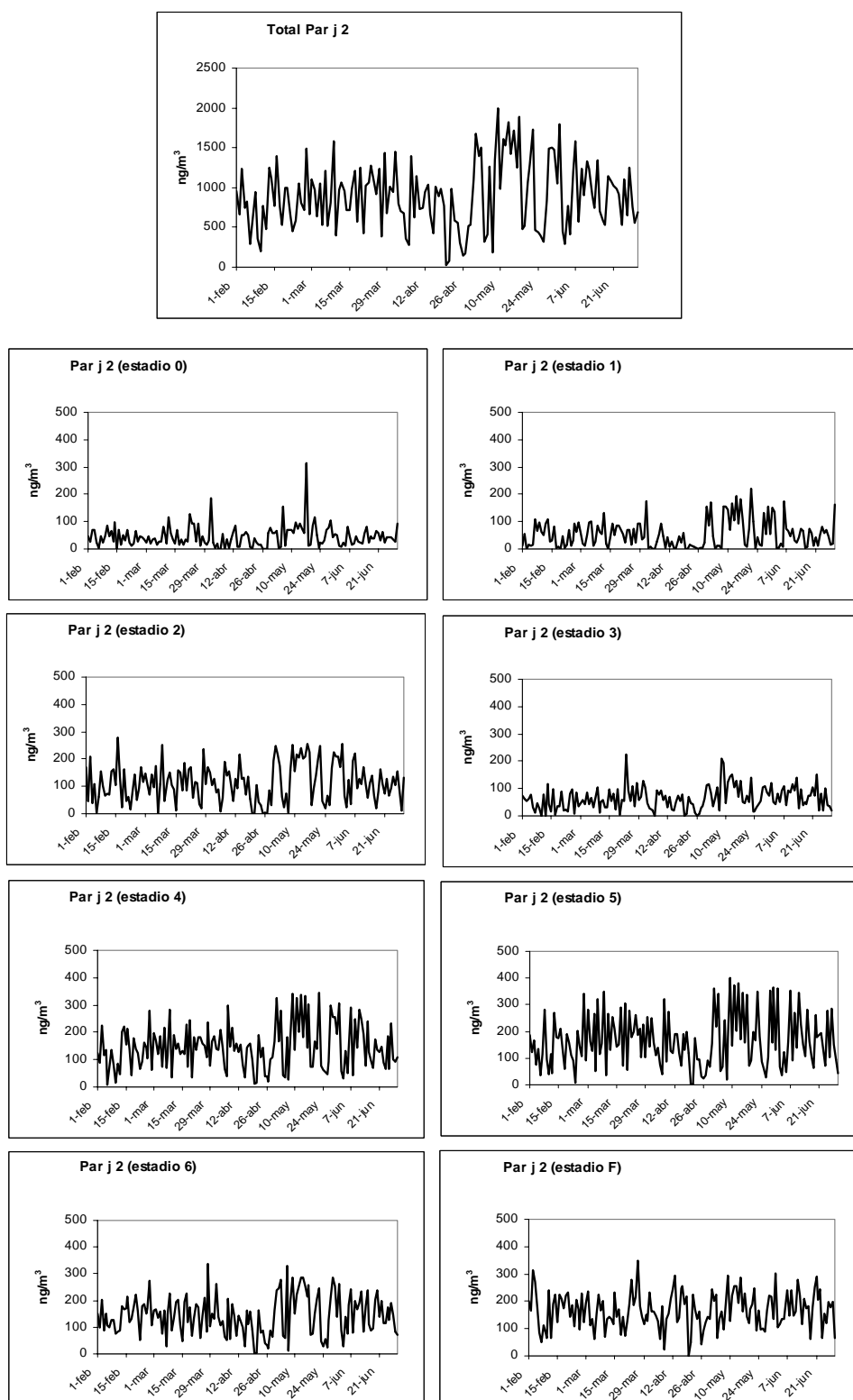


FIG. 2.23. Dinámica de las concentraciones de Par j 2 totales y por estadios; estadio 0: > 9  $\mu\text{m}$ ; estadio 1: > 5,8  $\mu\text{m}$ ; estadio 2: 5,8-4,7  $\mu\text{m}$ ; estadio 3: 4,7-3,3  $\mu\text{m}$ ; estadio 4: 3,3-2,1  $\mu\text{m}$ ; estadio 5: 2,1-1,1  $\mu\text{m}$ ; estadio 6: 1,1-0,7  $\mu\text{m}$ ; y estadio F: <0,7  $\mu\text{m}$ .

### Análisis comparativo de la dinámica de Par j 2 vs polen *Urticaceae* (FIG. 2.24)

Como se ha observado apenas existe relación entre concentraciones alérgicas y polínicas para esta especie vegetal. La máxima actividad de Par j 2 aparece cuando el periodo de polinación de *Urticaceae* prácticamente ha finalizado, al igual que pasaba con Par j 1.

En el estudio según el tamaño de partículas, en ninguno de los estadios se observa un patrón estable.

### ***Platanus L. (Pla a 2)***

#### Actividad alérgica (TABLA 2.13)

El estudio de Pla a 2 se ha realizado en el periodo comprendido entre el 12 de marzo al 18 de abril detectándose 21.404,94 ng/m<sup>3</sup> en todo el periodo muestreado; es por tanto el alérgeno menos abundante en este estudio. A pesar de ello, la distribución de las partículas muestra que en los estadios 4 al F se obtienen las cantidades de alérgenos más elevadas, destacando el 5 con 5.237,53 ng/m<sup>3</sup>. La placa de recolección número 0 presenta la menor actividad con 627,71 ng/m<sup>3</sup>.

En los filtros donde se quedan impactados los granos de polen, sólo se han detectado el 2,93% y 3,55% de la actividad alérgica, estando este dato muy relacionado con las demás especies estudiadas.

#### Dinámica estacional (FIG. 2.25)

Las concentraciones alérgicas de Pla a 2 aparecen de forma ininterrumpida a lo largo de todo el periodo analizado, describiendo gráficos bastante irregulares. Las máximas concentraciones se alcanzan el 27 de marzo (1.416,23 ng/m<sup>3</sup>) y el 15 de abril (1.360,31 ng/m<sup>3</sup>).

El estudio por tamaños de partículas muestra que la mayor actividad alérgica se encuentran en los últimos estadios (4 al F). En las dos primeras placas de recolección apenas se detectan proteínas, aunque se alcanzaron unos valores máximos los días 16 de marzo (24,04 ng/m<sup>3</sup> y 96,60 ng/m<sup>3</sup>) y 27 del mismo mes (212,20 ng/m<sup>3</sup> y 152,74 ng/m<sup>3</sup>).

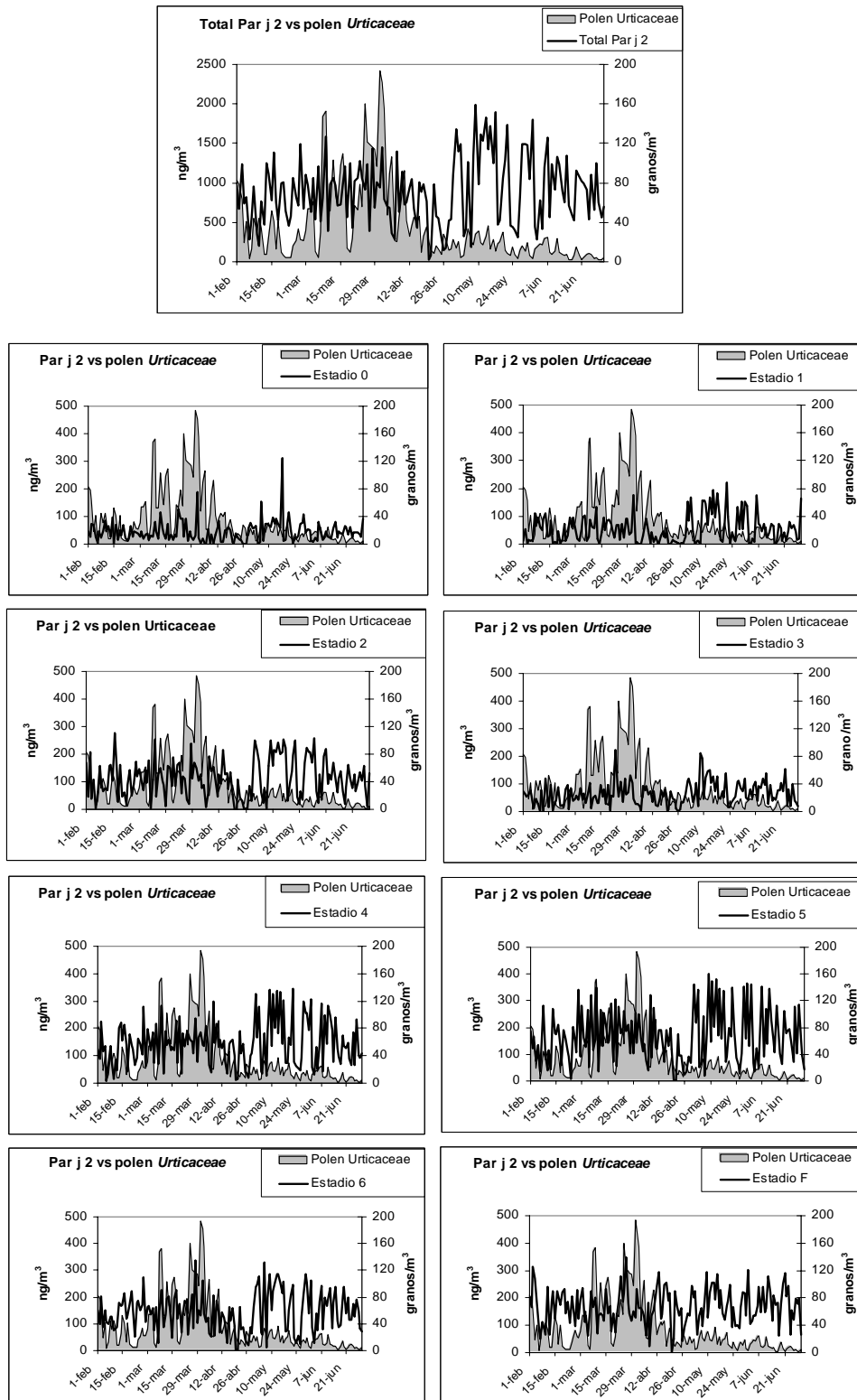


FIG. 2.24. Comparación de la dinámica de las concentraciones totales y por estadios de Par j 2 ( $\text{ng}/\text{m}^3$ ) frente a polen de *Urticaceae* ( $\text{granos}/\text{m}^3$ ).



Estadio de impactación	Tamaño partículas impactadas ( $\mu\text{m}$ )	% Alergenos Pla a 2	Total alergenos Pla a 2 ( $\text{ng}/\text{m}^3$ )
0	> 9,0	2,93	627,71
1	>5,8	3,55	760,85
2	5,8-4,7	11,06	2.366,37
3	4,7-3,3	4,18	928,47
4	3,3-2,1	17,13	3.666,74
5	2,1-1,1	24,47	5.237,53
6	1,1-0,7	18,32	3.920,85
F	< 0,7	18,20	3.896,44
<b>Suma Total</b>			<b>21.404,94</b>

TABLA 2.13. Datos porcentuales (%) y absolutos ( $\text{ng}/\text{m}^3$ ) de Pla a 2 obtenidos en cada estadio de impactación.

#### Análisis comparativo de la dinámica de Pla a 2 vs polen *Platanus* (FIG. 2.26)

Si estudiamos de forma comparada la actividad alérgica y las concentraciones polínicas observamos que ambas evolucionan de forma análoga, sobre todo en el PPP. Sin embargo en los periodos previos y posteriores las curvas no siguen el mismo patrón existiendo más actividad alérgica que granos de polen en el aire. El día de máximos valores se produjo el 27 de marzo, con 935 granos/ $\text{m}^3$  y 1.416,23  $\text{ng}/\text{m}^3$ .

El estudio según los tamaños de partículas revela un dato significativo, en los dos primeros estadios, donde se localizan los granos de polen, la dinámica alérgica sigue el mismo patrón que los registros polínicos aunque con valores mucho más bajos. El día de máximas concentraciones (27 de marzo), se registraron en la placa de recolección 0, 212,20  $\text{ng}/\text{m}^3$  y en la 1, 152,74  $\text{ng}/\text{m}^3$ . Durante el PPP, los filtros 5 y 6 son los que presentan una actividad alérgica similar a la del polen, aunque ésta también existe después de la floración.

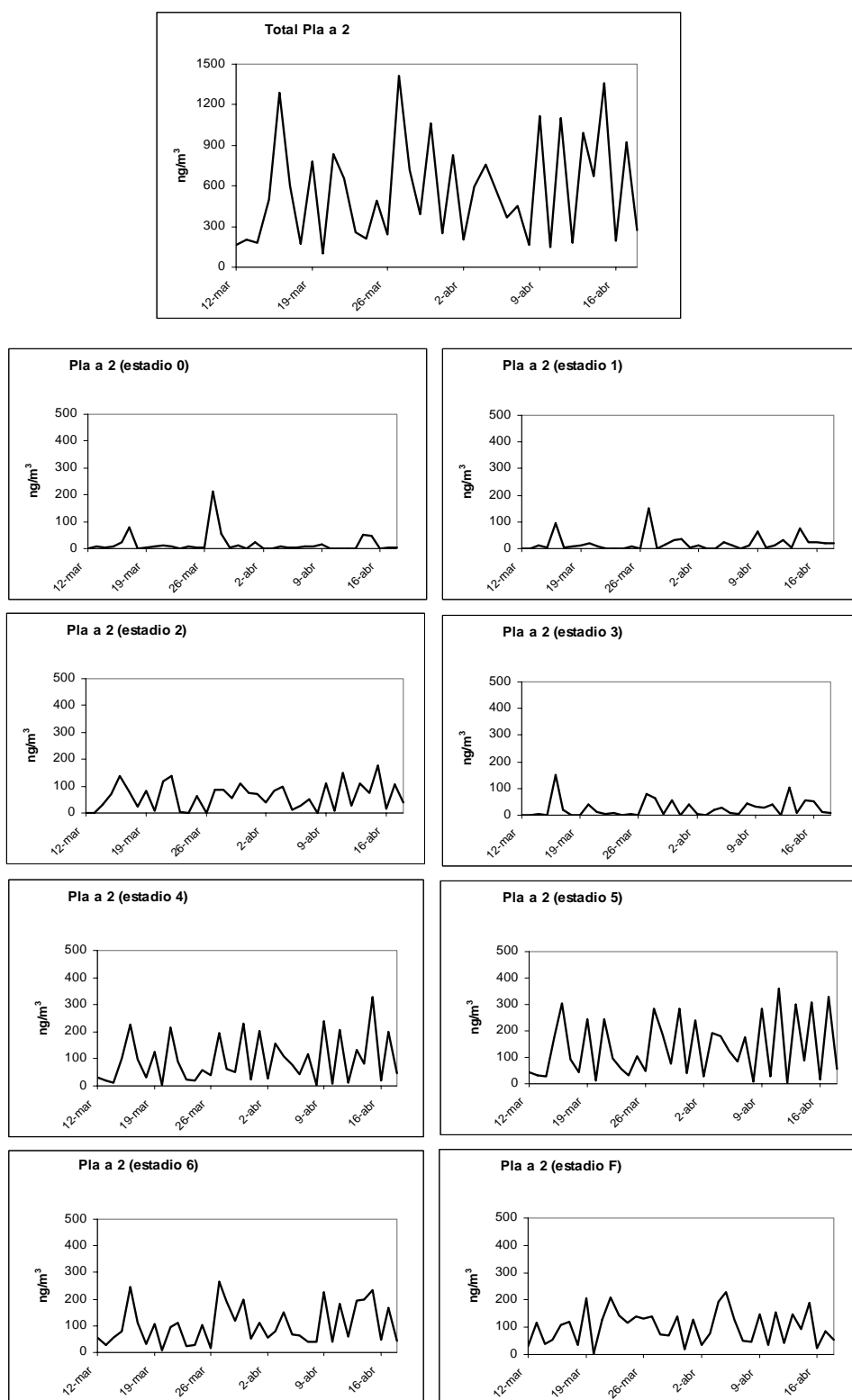


FIG. 2.25. Dinámica de las concentraciones de Pla a 2 totales y por estadios; estadio 0: > 9  $\mu$ m; estadio 1: > 5,8  $\mu$ m; estadio 2: 5,8-4,7  $\mu$ m; estadio 3: 4,7-3,3  $\mu$ m; estadio 4: 3,3-2,1  $\mu$ m; estadio 5: 2,1-1,1  $\mu$ m; estadio 6: 1,1-0,7  $\mu$ m; y estadio F: <0,7  $\mu$ m.

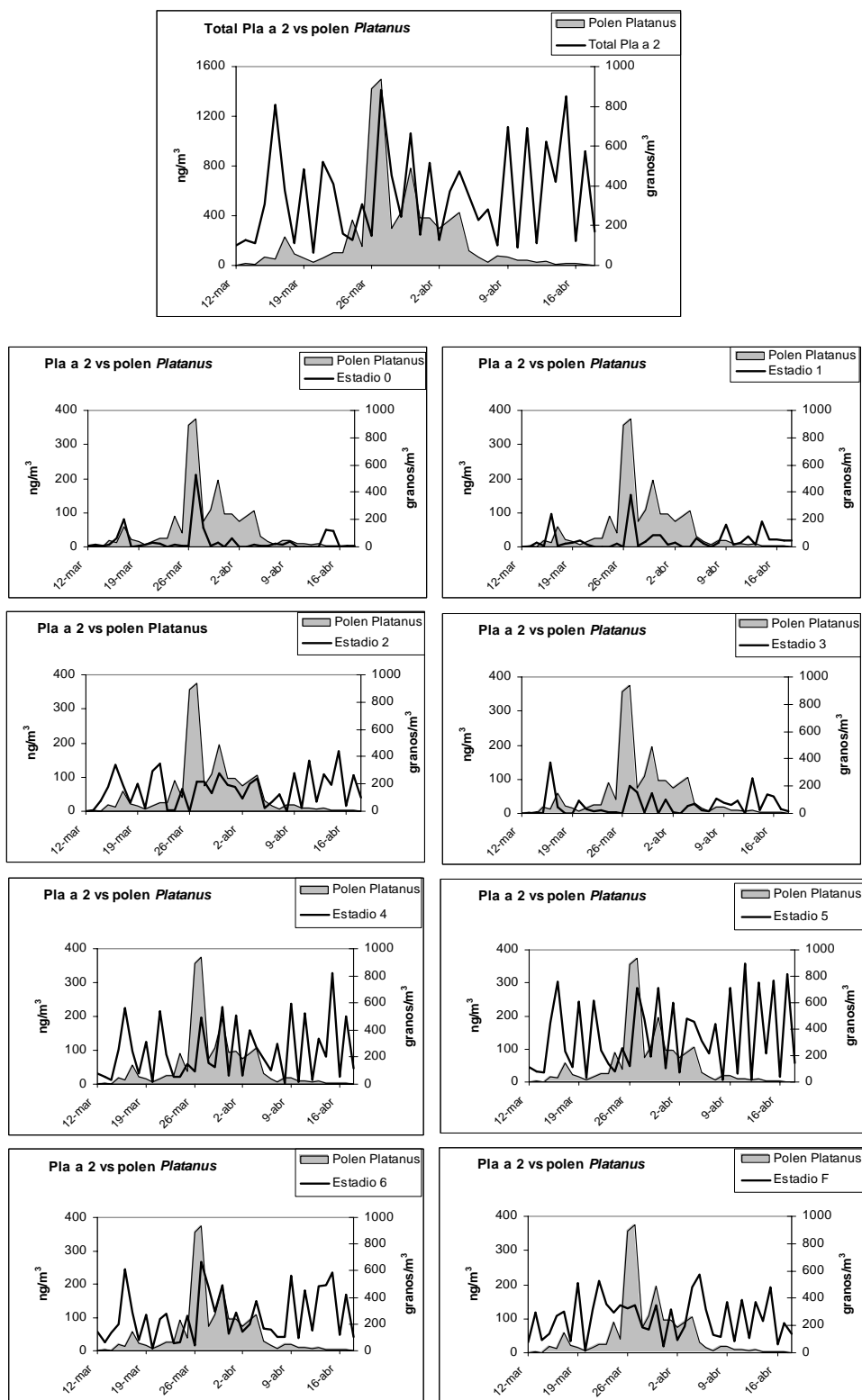


FIG. 2.26. Comparación de la dinámica de las concentraciones totales y por estadios de Pla a 2 ( $\text{ng}/\text{m}^3$ ) frente a polen de *Platanus* ( $\text{granos}/\text{m}^3$ ).

## **2.5. DISCUSIÓN**



El análisis de la actividad alérgica realizado en la atmósfera de la ciudad de Granada se presenta como un estudio complementario a los análisis aerobiológicos, ya que mejora sensiblemente la prevención de las alergias en esta provincia. Al igual que otros investigadores demostraron que además de los granos de polen presentes en el aire existe otras partículas biológicas con igual o mayor grado de alergenidad (Argawal *et al.*, 1981; Solomon *et al.*, 1983; Argawal *et al.*, 1984, Holmquist *et al.*, 2001, Spieksma *et al.*, 1991; Spieksma *et al.*, 1995, Pehkonen & Rantio-Lehtimäki, 1994; Schäppi *et al.*, 1996; De Linares *et al.*, 2007), en esta Tesis Doctoral se pone de manifiesto, con cinco especies vegetales emblemáticas del área Mediterránea, la existencia de dichas partículas, su localización y dinámica según el tamaño y la relación con las concentraciones de polen aerovagante.

El uso de la Técnica ELISA *indirecto* para la detección de la actividad alérgica ha mostrado ser, por tanto, un buen método de detección, amplificando suficientemente la señal a pesar de obtener datos que incluso poseían valores en picogramos por mililitro (pg/ml). Del mismo modo, el captador Andersen utilizado, al reproducir las características de inspiración del tracto respiratorio humano, ha permitido comprobar cómo las partículas alérgicas que se encuentran dispersas en el aire, poseen un tamaño aerodinámico que fácilmente pueden penetrar a las vías respiratorias bajas.

La distribución de las partículas según su tamaño muestra que todos los táxones presentan un mismo patrón con respecto a la disposición de las mayores concentraciones alérgicas, encontrándose localizadas en rangos menores de 3,3  $\mu\text{m}$ . Estos tamaños sub y paucimicrónicos penetran sin dificultad en los bronquios, bronquiolos y alvéolos, pudiendo explicar así el alto porcentaje de síntomas asmáticos entre la población alérgica. Este hecho se ha descrito anteriormente (Reed *et al.*, 1986; Spieksma *et al.*, 1995; Argawal *et al.*, 1984; Solomon *et al.*, l.c.; Pehkonen & Rantio-Lehtimäki, l.c.) dando como explicación tres hipótesis:

I) El transporte de alérgenos por medio de gránulos de almidón liberados previamente a la atmósfera por una ruptura osmótica del grano de polen. Dicha ruptura se encuentra bien documentada, en el caso de las Gramíneas y esporas fúngicas (Suphioglu *et al.*, 1992; Davidson *et al.*, 1996, Wu *et al.*, 2004). El estudio de los gránulos de almidón de tamaño de 2,5-0,6  $\mu\text{m}$  en *Lolium perenne* demostró que éstos poseían actividad alérgica y que

eran liberados a la atmósfera en orden de 700-900 gránulos en días secos mientras que en días lluviosos llegaron a superar los 53.000 gránulos.

II) La segunda de las hipótesis relaciona la presencia de partículas aerovagantes de otros tejidos de la planta que contienen una pequeña cantidad de alergenos del polen. Estudios con especies vegetales como *Ambrosia* (Argawal *et al.*, 1984), *Betula* (Pehkonen & Rantio-Lehtimäki, 1994) o *Platanus* (Ibarrola *et al.*, 2004) han revelado la existencia de estos alergenos en otros órganos como yemas, brotes de las hojas, amentos, tallos o corteza, pudiendo ser expulsados y detectados posteriormente en los muestreos.

III) La tercera y última hipótesis señala la posible transferencia de alergenos de los granos de polen a partículas de polvo posiblemente como resultado de la combinación de estos aeroalergenos con partículas contaminantes (Emberlin, 1995). En general, la frecuencia de síntomas alérgicos es mayor en personas de zonas residenciales e industrializadas que en zonas rurales (D'Amato *et al.*, 2000). Las partículas paucimicrónicas del polen interaccionan con el Ozono (O<sub>3</sub>) o Óxidos de Nitrógeno (NO<sub>x</sub>), que aumenta sus efectos y concentraciones, siendo transportadas pasivamente por dichos contaminantes, pudiendo posteriormente penetrar más fácilmente al tracto respiratorio (D'Amato *et al.*, 2001; Monn *et al.*, 1999; Emberlin, 1997; Santra *et al.*, 1991).

Sin embargo, los métodos de captación también podrían inducir estas altas concentraciones en los estadios de recolección más pequeños al provocar que durante la captura del polen, éstos impacten de tal manera que provoquen su ruptura (Spieksma *et al.*, 1991). Por esta razón, uno de los objetivos del estudio de los filtros impactados al MEB, era confirmar o desmentir este hecho. En total se observaron 24 muestras de las cuales seis pertenecían a los estadios 0 y 1 del captador en cascada utilizado. En ningún momento se halló polen fracturado, no obstante, sí que se encontró polen deformado aunque este hecho podría estar relacionado con el mecanismo de vacío, que el propio microscopio realiza para su funcionamiento. Este hecho también se encuentra refrendado por Solomon *et al.* (1983) donde al obtener mayores concentraciones alergénicas en tamaños de partículas submicrónicas, comprobaron si ello no fuese por un mal funcionamiento del muestreador en cascada, obteniendo los mismos resultados que los expuestos en esta Memoria de Tesis.

En el presente estudio y en base a la observación empírica podemos indicar que las altas concentraciones de alergenos de tamaños sub y paucimicrónicos tiene un origen

multifactorial entre los que se encuentran los ya anunciados por otros autores. Sin embargo, no todos los tipos polínicos estudiados poseen las mismas características, ni los alérgenos utilizados muestran similitudes tales que hagan que las conclusiones sean las mismas para los cinco táxones muestreados.

De todos ellos, sólo *Platanus* presenta actividad alérgica en otros órganos de la planta como en los tallos (Ibarrola *et al.*, 2004) por lo que únicamente en este taxon se puede admitir que estas concentraciones paucimicrónicas puedan provenir de alérgenos expulsados desde los tallos jóvenes de sus árboles.

El polen de la familia *Cupressaceae* se caracteriza por poseer orbículos espinulosos en la superficie del grano de polen, los cuales se ha demostrado que poseen actividad alérgica (Suárez-Cervera *et al.*, 2003). A pesar de no tener datos que lo corroboren, dichos orbículos podrían desprenderse y ser recolectados posteriormente por el captador en cascada aumentando las concentraciones alérgicas en tamaños de partículas sub y paucimicrónicas.

El polen de todos los táxones estudiados podría haber sufrido un proceso de ruptura cuando caen al suelo debido a turbulencias, al tráfico rodado y a otros impactos de origen mecánico liberando su carga proteica, provocando que estas partículas entren de nuevo en circulación en la atmósfera gracias a los ya mencionados fenómenos de resuspensión y ser posteriormente capturados (Fernández-Caldas *et al.*, 1989; Pehkonen & Rantio-Lehtimäki, 1994; De Linares *et al.*, 2007).

### **Actividad alérgica por estadios**

El captador en cascada Andersen, al separar las aeropartículas en función de su tamaño, es un buen instrumento de medida para comprobar la naturaleza química de estas partículas aerovagantes y por tanto cuál es la composición de los contaminantes atmosféricos. De este modo, mediante análisis al MEB, se ha observado que el material recolectado en las diferentes placas posee una determinada composición.

Atendiendo a la clasificación granulométrica de las partículas del suelo, el estudio por estadios ha revelado que en los dos primeros (0 y 1) se localizan las partículas mayores de



5,8  $\mu\text{m}$ , detectándose por tanto granos de polen, restos vegetales, materia del suelo de fracción arena (200-6,0  $\mu\text{m}$ ) como feldspatos, micas, cuarzo, etc.

En cambio, en las placas de recolección número 2 (5,8-4,7  $\mu\text{m}$ ), 4, 5 y 6 (3,3-0,7  $\mu\text{m}$ ) se localizan materiales fracción limo, (6,0-0,2  $\mu\text{m}$ ) como carbonatos, silicatos, feldspatos, óxidos e hidróxidos Al, Fe y Mg, siendo la 3 donde se han detectado únicamente partículas de fracción limo cuya estructura es de tipo laminar o filosilicatada. Por último, el estadio F (< 0,7  $\mu\text{m}$ ) es donde se encuentra los gases contaminantes como O<sub>3</sub>, NO<sub>x</sub>, Pb, SO<sub>2</sub>, CO, etc.

Como se ha comprobado con los resultados obtenidos, la actividad alérgica aparentemente no ha seguido una distribución en función de los tamaños de partículas. Sin embargo, el estudio de la composición química parece indicar que los aeroalergenos tienen mayor afinidad a unas partículas que a otras. Partiendo de la base de que estos alérgenos son liberados a la atmósfera por diferentes motivos, según los análisis inmunológicos realizados, éstos se unen con más frecuencia a los materiales de naturaleza limosa y a los gases contaminantes que a las de mayor tamaño. Este hecho apoya lo expuesto por numerosos autores que determinan que la polución actúa como vehículo conductor de alérgenos pudiendo provocar incluso un cambio conformacional en su estructura, alteraciones en sus propiedades, incrementos de la expresión de la carga proteica alérgica (Ruffin *et al.*, 1983, Santra *et al.*, 1991; Emberlin, 1997), lo que daría lugar a un fuerte incremento de las alergias. Con los resultados obtenidos en esta Memoria de Tesis, se puede confirmar que una gran parte de la actividad alérgica presente en la atmósfera se encuentra ligada a los contaminantes industriales y que además, esta unión no fluctúa a lo largo del periodo de floración manteniéndose más o menos constante durante todo el muestreo, de ahí que observando la dinámica de estos alérgenos en el estadio F sea muy poco fluctuante. Por otro lado, la unión de los aeroalergenos a las partículas de la fracción limo tiene una importancia muy relevante. En el filtro 3, se localiza casi exclusivamente filosilicatos, los cuales interaccionan con muy diversas sustancias, ya que pueden capturar y retener moléculas y no liberar su contenido posteriormente. Esto hace que las proteínas alérgicas se unan a estos filosilicatos y posteriormente no sean detectadas, como se ha demostrado en los resultados de los cinco tipos polínicos analizados.

Por otro lado, en los estadios 2, 4, 5 y 6 se han localizado óxidos e hidróxidos de Fe, Al y Mg cuyas propiedades químico-físicas son opuestas a las de los filosilicatos, por lo que pueden captar por fuerzas polares y apolares numerosas moléculas entre ellas las proteínas alérgicas, liberándolas en el momento en que las condiciones de humedad cambia. Por este motivo, las principales concentraciones de alérgenos se han localizado en las placas 5 y 6.

Por último la menor actividad detectada en los estadios 0 y 1 podría ser atribuible al hecho de que los inmunoensayos se realizan directamente sobre el grano de polen. Teniendo en cuenta que los alérgenos en la mayoría de los tipos polínicos se localizan en su interior, si éstos durante la incubación no han germinado y liberado las proteínas a los pocillos, el anticuerpo primario es incapaz de detectar la existencia de alérgenos y por tanto se obtiene menor actividad de la que realmente existe.

### **Dinámica de la actividad alérgica**

De los cinco tipos polínicos estudiados, *Olea europaea*, *Poaceae*, *Cupressaceae* y *Platanus* han mostrado una dinámica paralela entre concentraciones de polen y actividad alérgica durante el periodo de máxima polinación, siendo *Urticaceae* el único taxon cuya dinámica ha sido aparentemente contradictoria. Sin embargo, durante los periodos previos y posteriores a la floración la actividad alérgica no guarda ninguna relación con las concentraciones polínicas. Por este motivo, se planteó realizar reacciones cruzadas con 13 tipos polínicos que por su frecuencia en la atmósfera de Granada pudieran interferir en los resultados. De esta manera se utilizó polen natural disuelto en tampón PBS quedando las microplacas seriadas de la siguiente manera: de arriba abajo y de izquierda a derecha: B, blanco; Art, *Artemisia vulgare*; Car, *Cupressus arizonica*; Csem, *Cupressus sempervirens*; Che, *Chenopodium album*; Lol, *Lolium perenne*; Ole, *Olea europaea*; Par, *Parietaria judaica*; Plg, *Plantago lanceolata*; Plat, *Platanus hybrida*; Pop, *Populus nigra*; Que, *Quercus ilex*; Ul, *Ulmus minor*; Ru, *Rumex acetosella* (FIG. 2.27).

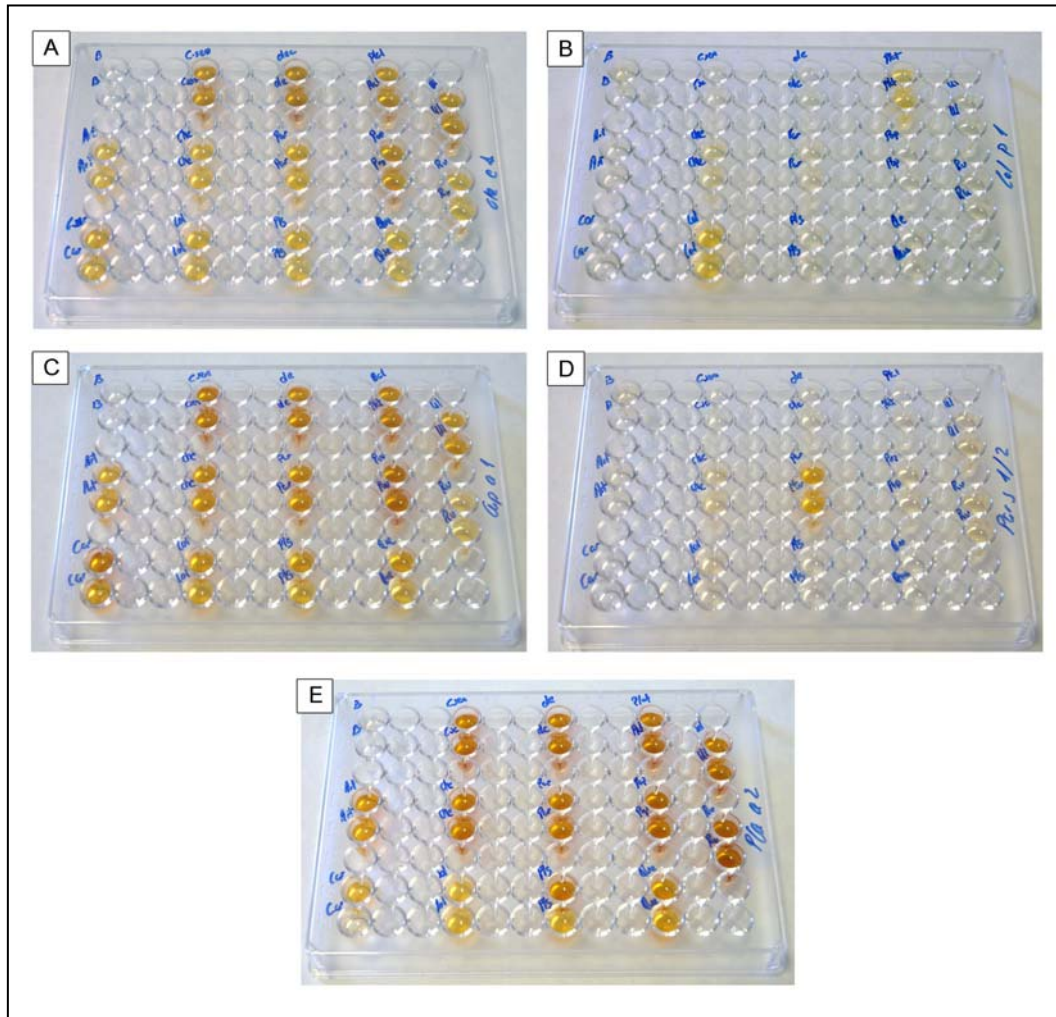


FIG. 2.27. Reacciones cruzadas entre 13 tipos polínicos y 5 anticuerpos primarios: A, anti Ole e 1; B, anti Lol p 1; C, anti Cup a 1; D, anti Par j 1/2; E, anti Pla a 2.

## Ole e 1

Al igual que ocurrió en el año 2005 en la ciudad de Granada (De Linares *et al.*, 2007), *Olea europaea* registró actividad alérgica en etapas anteriores y posteriores a la polinación del Olivo. Tal y como se mencionó en el apartado de Introducción, Ole e 1 se encuentra localizado únicamente en el grano de polen (Villalba *et al.*, 1994) por lo que al no existir registros polínicos anteriores y posteriores a la floración de este taxon, se ha de pensar que este hecho puede estar relacionado con reacciones cruzadas con otras especies vegetales.

La secuencia aminoacídica de Ole e 1 posee homología con otros alérgenos tanto para especies de la misma familia, *Ligustrum* (Lig v 1), *Fraxinus* (Fra e 1) y *Syringa* (Syr v 1), como para plantas no relacionadas taxonómicamente (Lombardero *et al.*, 2002), *Plantago* (Pla l 1), *Lolium* (Lol p 11) y *Chenopodium* (Che a 1). Por este motivo, y con el fin de poder corroborar la existencia de reacciones cruzadas con especies vegetales de distintas familias, se llevó a cabo el ensayo anteriormente expuesto.

Como se puede observar Ole e 1 reacciona con los 13 tipos polínicos utilizados en el análisis. La unión de este alérgeno con la IgE específica muy probablemente se realiza mediante la estructura conformacional y no secuencial (González *et al.*, 2006) lo que podría explicar la intensidad colorimétrica que experimentó el anticuerpo anti Ole e 1 con los demás tipos polínicos. Además, este hecho se puede observar en la dinámica alérgica de los estadios 0 y 1 donde se encuentran los granos de polen, existiendo en los primeros días de muestreo una elevada actividad alérgica siendo prácticamente inexistente en los últimos días del análisis (FIG. 2.16).

El aligustre (*Ligustrum* spp.) es un árbol ornamental cuya polinación comienza a finales de Junio y se alarga durante aproximadamente 30 días. En la ciudad de Granada existen 3 especies (*L. vulgare*, *L. lucidum* y *L. ovalifolium*) las cuales son frecuentemente utilizados como ornamentales en las avenidas y calles (Díaz de la Guardia & Blanca, 1994). Dicho polen tiene la característica de ser muy pesado por lo que en los recuentos aerobiológicos apenas aparece (Cariñanos *et al.*, 2002), registrándose en cifras absolutas anuales un total de 32 granos/m<sup>3</sup> en la ciudad de Granada en 2006. Sin embargo, si este polen cae al suelo podría producirse un fenómeno de resuspensión de las partículas liberadas por el polen debido a impactos mecánicos lo que podría corroborar el hecho de que la actividad alérgica en este último periodo se encuentre casi exclusivamente en partículas menores de 3,3 µm.

### **Lol p 1**

Los resultados obtenidos de la actividad alérgica aerovagante en comparación con las concentraciones polínicas de Gramíneas confirman y corroboran lo sugerido por Spieksma *et al.* (1991), Spieksma *et al.* (1995) y Schäppi *et al.* (1996) produciéndose durante el periodo de floración un pequeño desfase entre el día pico de concentraciones polínicas y alérgicas (FIG. 2.18). Nuestros resultados se explican conociendo que las

mayores concentraciones de polen de esta familia en la ciudad de Granada se producen entre las 17 y 23 horas. Al realizarse los muestreos en las horas centrales del día, las mayores concentraciones de polen registrados el 8 de mayo se originaron a última hora de la tarde, detectándose al día siguiente las partículas sub y paucimicrónicas liberadas durante este pico, las cuales fueron observadas únicamente en los estadios 6 y F.

Sin embargo, en el periodo post estacional de Gramíneas, sigue existiendo altas concentraciones de Lol p 1; por este motivo también se realizaron las pruebas de reacciones cruzadas con otras especies taxonómicamente diferentes (FIG. 2.27). Lol p 1 no posee reacción cruzada con ninguno de los 13 tipos polínicos enfrentados a excepción de *Platanus hybrida*; a pesar de ello, la polinación de esta especie vegetal apenas interfiere con la de las Gramíneas por lo que la actividad detectada parece ser exclusiva de esta numerosa familia. Sin embargo, aunque no existen estudios al respecto, conociendo que Pla a 2 se encuentra también en los tallos de los árboles (Ibarrola *et al.*, 2004) probablemente *P. hybrida* también podría liberar alergenios pasada su floración.

Por tanto, la actividad encontrada en el periodo posterior a la polinación podría estar relacionado bien con el hecho de que esta familia de herbáceas sigue floreciendo hasta bien entrado el mes de julio por las especies de alta montaña presentes en Sierra Nevada o bien por la posible existencia de una reacción cruzada con alergenios liberados por los Plátanos de paseo.

### **Cup a 1**

El análisis del comportamiento estacional del polen de *Cupressaceae* revela que la alternancia de la floración de las distintas especies que poseen este tipo polínico hace que permanezca prácticamente durante todo el año en el aire. No obstante existe una época donde la intensidad polínica registrada es muy elevada, atribuible fundamentalmente a las distintas especies de *Cupressus* que forman parte del paisaje vegetal urbano (Díaz de la Guardia & Blanca, 1994) caracterizado por una intensa producción polínica (Tormo *et al.*, 1996). Por este hecho, el análisis de la actividad alérgica para este taxon se realizó durante los cuatro primeros meses del año, del 16 de enero al 8 de mayo, a pesar de que durante el último tramo los niveles de polen en el aire eran poco significativos.

La evolución de la actividad alérgica y del polen de ciprés ha sido análoga, incluso las dos curvas han presentado dos estacionalidades claramente diferenciadas. Sin embargo en los muestreos anteriores y posteriores a la polinación del Ciprés, Cup a 1 registró una marcada actividad sin aparente explicación. La comparación de Cup a 1 con otros alérgenos de coníferas revela que existe una alta homología con especies de la misma familia (Arilla *et al.*, 2004; Alisi *et al.*, 2001; Aceituno *et al.*, 2000; Suárez-Cervera *et al.*, 2003) y con especies no relacionadas (Ibarrola *et al.*, 2004) como *Platanus acerifolia* (Pla a 2). Por este hecho, de nuevo se realizaron las pruebas de reacciones cruzadas para este anticuerpo quedando reflejado el alto grado de homología con numerosos táxones empleados en el análisis (FIG. 2.27). De los 13 tipos polínicos utilizados todos dieron reacciones positivas frente al anticuerpo anti Cup a 1 aunque *Rumex acetosella* obtuvo una reacción cruzada menos intensa. De esta manera, el periodo pre-estacional que aparece entre los días 16 y 30 de enero (FIG. 2.20) puede ser atribuible a las concentraciones de otras especies de *Cupressaceae* como *Juniperus oxycedrus* o tipos polínicos como *Urticaceae* o *Artemisia* que en esas fechas registraban niveles bajos-medios (6 y 40 granos/m<sup>3</sup>). Durante el periodo post-estacional, del 1 al 9 de mayo, las concentraciones de polen en la atmósfera eran abundantes y variadas encontrándose representados los tipos polínicos típicos de la primavera (*Poaceae*, *Olea europaea*, *Urticaceae* y *Plantago*), de lo que se deduce que éstos podrían ser la causa de la actividad alérgica de Cup a 1 en el muestreo.

### Par j 1 y Par j 2

Tal y como se había comentado al comienzo de esta discusión, el análisis alérgico de *Urticaceae* es el único que aparentemente no presenta relación con las concentraciones polínicas detectadas en la atmósfera de la ciudad de Granada.

Numerosos autores han determinado que Par j 1 posee homología con otros alérgenos del género *Parietaria* (Ayuso *et al.*, 1995), más concretamente, con *P. officinalis* (Par o 1) y *P. mauritanica* (Par m 1). Por su parte Par j 2 presenta similitudes con otros táxones no relacionados filogenéticamente (Stumvoll *et al.*, 2003) como *Betula* (Bet v 2) o *Phleum* (Phl p 7). Además, Par j 1 y Par j 2 tienen un alto grado de homología lo que provoca que la obtención de anticuerpos para cada uno de estos alérgenos por separado sea muy dificultoso (Asturias *et al.*, 2003; Arilla *et al.*, 2006); sin embargo, no se ha encontrado

homología alguna con especies de la misma familia, como *Urtica dioica* (Asturias *et al.*, 2003; Stumvoll *et al.*, 2003; Amoresano *et al.*, 2003; Arilla *et al.*, 2006).

Pese a todo y para contrastar lo expuesto por los diferentes autores, se llevaron a cabo análisis para verificar la existencia o no de estas reacciones cruzadas. Como se puede comprobar (FIG. 2.27) el anticuerpo anti Par j 1/2 no reaccionó con ninguno de los 13 tipos polínicos utilizados en el experimento, a excepción de *P. judaica*.

Por tanto, con toda esta información, los resultados contradictorios que se han obtenido en estos análisis solo podrían ser atribuidos a que el polen de *Urticaceae* únicamente se puede determinar en el rango taxonómico de familia, por no tener diferencias morfológicas detectables a microscopio óptico en la mayoría de sus especies. Por ello, hay que tener en cuenta qué táxones son abundantes en la zona de estudio y cuándo se producen sus polinaciones. En los alrededores del captador son abundantes *U. urens*, *U. dioica*, *P. judaica* y *P. mauritanica* (Blanca & Morales, 1991; Díaz de la Guardia *et al.*, 1998), la floración de cada una de estas especies se produce en meses diferentes, *U. urens* desde enero hasta octubre, *U. dioica* desde abril a noviembre y *P. judaica* y *P. mauritanica* de marzo hasta noviembre (Paiva, 1993). En consecuencia, la estacionalidad alérgica que aparece en este estudio, a la hora de compararla con las concentraciones polínicas, se observa que en el primer periodo los altos niveles de polen son atribuibles a *U. urens*, siendo muy baja la actividad alérgica; estos valores se invierten en la segunda estacionalidad (desde el 9 de mayo al 30 junio) donde *P. judaica* y *P. mauritanica* se encuentran en plena floración, existiendo mayor cantidad de alérgenos que de polen (FIG. 2.22 y FIG. 2.24).

Con todo, el estudio de la actividad alérgica de Urticáceas se ha puesto de manifiesto, de una manera práctica y fiable, la verdadera polinación de *Parietaria*, hecho que desde el punto de vista Aerobiológico más tradicional era imposible de realizar.

## **Plata 2**

Plata 2 ha mostrado una dinámica muy parecida a las concentraciones polínicas de *Platanus* durante el periodo de máxima polinación. La estacionalidad de esta especie vegetal es muy marcada, aconteciendo en un corto espacio de tiempo (cinco semanas; 13 de marzo al 16 de abril).

El estudio de la localización de Pla a 2 en diferentes órganos de la planta ha mostrado que esta proteína de 43 KDa aparece en los granos de polen y en los tallos (Ibarrola *et al.*, 2004). Además este alérgeno posee un elevado grado de homología con otras especies taxonómicamente no relacionadas, así Stumvoll *et al.* (2003) determinaron que existía reacción cruzada con *Betula* (Bet v 2) y *Phleum* (Phl p 7); otros investigadores como Asturias *et al.*, (2003), Amoresano *et al.*(2003) y Arilla *et al.* (2006) encontraron este mismo hecho con *P. judaica* e incluso Ibarrola *et al.* (2004) lo revelaron para Cupresáceas. A pesar de ello, el análisis de las reacciones cruzadas realizado para esta Tesis Doctoral muestra cómo además de las especies vegetales anteriormente nombradas, también posee homología con otros los tipos polínicos (FIG. 2.27).

De esta manera, la existencia de actividad alérgica en los periodos anteriores y posteriores a la floración de este árbol podría estar relacionada con cualquiera de los tipos polínicos que en esa época se encontraban en plena polinación (Gramíneas, Quenopodios, Cupresáceas, Plantagos, Urticáceas, etc.) además de la posibilidad de estar detectando alérgenos de Pla a 2 procedentes de yemas florales o vegetativas aún en crecimiento.





## **2.6. CONCLUSIONES**



Con los resultados obtenidos en este capítulo de la Tesis Doctoral y considerando los objetivos que se pretendían alcanzar, se han elaborado las siguientes conclusiones:

1. La optimización de la Técnica ELISA *indirecto* realizada en este estudio ha logrado reducir los tiempos de reacción entre reactivos y las concentraciones mínimas de anticuerpos primarios y secundarios utilizados, consiguiendo una metodología rápida y eficaz para el estudio de la actividad alérgica en la atmósfera.
2. El análisis inmunológico de cinco especies vegetales ha corroborado que la mayor actividad alérgica se encuentra en los estadios 4 al F es decir, en las fracciones sub y paucimicrónicas, que fácilmente pueden penetrar en las vías respiratorias bajas.
3. La actividad alérgica de *Olea europaea* ha sido la más elevada seguida de *Cupressaceae*, *Poaceae*, *Urticaceae* y *Platanus*; la distribución por tamaños revela que el estadio 5 es donde se contabilizan más alérgenos.
4. En cuatro de los táxones estudiados, *Olea europaea*, *Poaceae*, *Cupressaceae* y *Platanus* existe una dinámica paralela entre la actividad alérgica y las concentraciones polínicas durante el periodo principal de polinación (PPP), coincidiendo sus valores máximos a excepción de Gramíneas donde existe un desfase de 24 horas.
5. Respecto a *Urticaceae*, el estudio de Par j 1 y Par j 2 demuestra que la mayor actividad alérgica se corresponde con la polinación de *Parietaria*, a pesar de que los niveles de polen más elevados de esta familia se atribuyen al género *Urtica*.
6. La existencia de actividad alérgica antes y después de la floración se debe a las reacciones cruzadas entre alérgenos de distintos táxones, por lo que en estudios futuros se hace necesario el uso de anticuerpos monoclonales ya que podría existir menor grado de interacción entre alérgenos.



CAPÍTULO TERCERO

***INCIDENCIA EN LA POBLACIÓN ATÓPICA***



## ÍNDICE

3.1. INTRODUCCIÓN.....	223
3.1.1. ALERGIA E INMUNOLOGÍA.....	225
3.1.2. SISTEMA INMUNOLÓGICO Y REACCIÓN ALÉRGICA.....	226
3.1.3. PLANTAS ALERGÓGENAS.....	234
3.1.4. LA AEROBIOLOGÍA EN RELACIÓN CON LA POLINOSIS .....	239
3.2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....	243
3.3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	247
3.3.1. RECOGIDA DE DATOS .....	249
Unidades de Alergia .....	249
Servicios de Urgencias .....	251
3.3.2. UTILIZACIÓN DE CARTOGRAFÍA TEMÁTICA.....	253
3.3.3. PRESENTACIÓN DE LOS DATOS.....	253
3.4. RESULTADOS.....	255
3.4.1. POLINOSIS EN EL ÁREA DE ESTUDIO.....	257
3.4.2. INCIDENCIA EN LA POBLACIÓN ADULTA .....	264
3.4.3. INCIDENCIA EN LA POBLACIÓN INFANTIL .....	266
3.4.4. SENSIBILIZACIÓN A LOS DIFERENTES TIPOS POLÍNICOS .....	273
3.4.5. INGRESOS POR POLINOSIS EN LOS SERVICIOS DE URGENCIAS .....	282
3.5. DISCUSIÓN .....	285
3.5.1. LA POLINOSIS EN LA PROVINCIA DE GRANADA.....	287
3.5.2. URGENCIAS .....	292
3.6. CONCLUSIONES.....	299





### **3.1. INTRODUCCIÓN**



### 3.1.1. ALERGIA E INMUNOLOGÍA

La primera reseña que se tiene sobre la alergia procede del siglo I antes de J.C. cuando Lucrecio señaló que “el alimento de uno es el veneno de otro”; Galeno, en el año 200 después de J.C., conocía la existencia de un trastorno que podría identificarse como alergia para la leche de cabra; el Talmud babilónico (siglo II) ya daba instrucciones precisas para poder combatir una hipersensibilidad intestinal para el huevo e incluso, en la Edad Media se sabía que ciertos individuos resultaban afectados por graves episodios de estornudos o de asma en presencia de ciertas flores, arbustos o árboles.

Sin embargo, no fue hasta 1819 cuando se describieron los síntomas de esta afección. Fue un homeópata inglés, John Bostock, quien en una reunión de la Sociedad Médica de Londres, expuso sus propios síntomas definidos como “*Un caso de una afección periódica de los ojos y del pecho*”; en 1828 el propio Bostock empleó por primera vez el término de “fiebre del heno” o “catarro de verano” a pesar de que afirmaba que la fiebre no guardaba relación con el heno, o cualquier otra planta. Al año siguiente, Gordon atribuyó la dificultad de respirar al aroma de los prados en floración denominándolo “asma del heno”. Tuvieron que pasar más de cuarenta años para que Blackley (1875) corroborara que la fiebre del heno se debía al polen, aún siendo este hecho rechazado por la gran mayoría de los médicos de la época.

El concepto de Inmunología para esta enfermedad no se introdujo hasta el siglo XX cuando R.C. Richet (1898-1902) sensibilizando específicamente a animales con un veneno (suero de anguila) mediante una inyección previa, originaba un fenómeno que lo denominó “anafilaxis”. En 1903, Arthus confirmó la existencia de agentes no tóxicos capaces de provocar una manifestación de hipersensibilidad y demostró que la repetida administración subcutánea de suero ocasiona reacciones locales (fenómeno de Arthus). En este mismo año, C. von Pirquet sentó los principios de la moderna alergología a través de observaciones y experimentos clínicos sobre humanos, acuñando el término alergia en 1906, palabra griega que significa capacidad de reacción alterada, siendo además el impulsor de las modernas pruebas cutáneas (1910).

Durante los años siguientes investigadores como Coca y Cooke introdujeron términos como atopia, palabra griega que significa “extraño”, para describir una hipersensibilidad la

cual se encuentra definida clínicamente por la presencia de una o más pruebas cutáneas positivas a cualquier alérgeno, sin implicar por ello la presencia de síntomas clínicos.

Todos estos investigadores y otros muchos contribuyeron de forma notable a esta nueva ciencia, pero en la actualidad los conceptos han cambiado. La definición de alergia dada por C. von Pirquet abarcaba todas las alteraciones de un organismo provocadas por el contacto con cualquier sustancia viva o muerta, por lo que en 1925 inmunólogos y alergólogos convinieron que la alergia ha de considerarse solamente como un estado que aparece después de una sensibilización previa, basado en una reacción antígeno-anticuerpo, que se manifiesta como hiper o hiposensibilidad frente a un antígeno primitivamente no tóxico, conociéndose hoy día como reacción alérgica, reacción de hipersensibilidad o simplemente alergia.

Sin embargo, “fiebre del heno” o “asma del heno” se siguen utilizando, aún siendo desorientadores, ya que los síntomas no son provocados por el mismo heno, sino por los pólenes de las plantas y además, es muy rara la presencia de fiebre, aunque no es extraño que el paciente se queje de sensación de calentura; por ello, se introdujeron términos que definieran mejor a esta enfermedad denominándola “polinosis” y “alergia al polen”.

Todos estos avances y lo que se han producido hasta ahora, han influenciado en la organización profesional de la alergología y en los programas de especialización, hasta el punto de que esta rama de la medicina suele conocerse ahora como Alergia e Inmunología.

### **3.1.2. SISTEMA INMUNOLÓGICO Y REACCIÓN ALÉRGICA**

El Sistema Inmunológico es un mecanismo de defensa desarrollado por vertebrados para combatir de forma específica una infección o un crecimiento de células tumorales; gracias a éste, se reconocen elementos extraños al organismo, reaccionando en la mayoría de los casos de forma agresiva.

Se entiende por respuesta inmune al conjunto de procesos moleculares y celulares implicados en la defensa de la integridad biológica del organismo; ésta puede ser una respuesta inespecífica (reacción inflamatoria aguda) o una respuesta inmune específica

La respuesta inespecífica es la primera barrera defensiva del organismo que no requiere sensibilización previa. Las células que mediatizan esta respuesta son polimorfonucleares, neutrófilos, eosinófilos y macrófagos, los cuales se activan de forma inmediata siempre que cualquier sustancia extraña penetre en el organismo, atacándola y activando la respuesta inmune específica. Además, en este tipo de respuestas también pueden intervenir las denominadas células asesinas naturales o células NK capaces de destruir células tumorales sin una sensibilización previa.

La respuesta inmune específica, por el contrario, es elaborada y su acción no es inmediata ya que las células implicadas tienen que proliferar y diferenciarse, deja memoria en el primer contacto con el antígeno (respuesta primaria) y en un segundo contacto se produce una reacción inmunológica más intensa (respuesta secundaria); en esta respuesta participan prioritariamente linfocitos B (LB) y T (LT), sustancias liberadas por éstos (anticuerpos y citocinas o linfocinas) y macrófagos.

Para que se inicie esta respuesta inmune específica es necesario el reconocimiento del antígeno por parte de los linfocitos. Los LB reconocen al elemento extraño por medio de inmunoglobulinas de membrana (mIg), mientras que los LT lo hacen por medio del receptor de células T (TCR).

La característica más importante de los linfocitos B es la capacidad de producir inmunoglobulinas ya que reconocen al antígeno tal y como es. El contacto antígeno-linfocito B provoca que este último se diferencie en células efectoras o plasmáticas, de vida corta, desarrollando funciones inmunitarias como la producción de inmunoglobulinas y células de memoria de vida larga, que permanecen circulando por el organismo a la espera de un contacto posterior con el antígeno.

Los linfocitos T, en cambio, son una población celular muy heterogénea cuyos receptores no son capaces de reconocer al antígeno tal y como es, sino que éste tiene que haber sido procesado previamente por medio de células presentadoras de antígenos (CPA), entre las que se encuentran las células dendríticas y de Langerhans, monocitos/macrófagos y LB. Tras contactar con el antígeno, los linfocitos T proliferan y se diferencian en LT de memoria y LT efectores. Estos últimos a su vez se diferencian en linfocitos T citotóxicos (Tc), con capacidad de lisar células y linfocitos T de colaboración (Th o células T helper), que participan en la iniciación y desarrollo de la respuesta inmune y en la producción de

citocinas. No todos los linfocitos Th producen las mismas linfocinas, así, se denominan Th1 a aquellas que producen interleucina (IL) tipo 2 e interferón gamma (IFN $\gamma$ ) y Th2 las que sintetizan IL-4, IL-5 o IL-10.

De manera general los linfocitos T constituyen alrededor del 65% de linfocitos sanguíneos periféricos mientras que los B, comprenden el 5-15%. El resto de linfocitos son los denominados NK o células asesinas naturales que intervienen en la respuesta inespecífica.

La reacción de hipersensibilidad o reacción alérgica se caracteriza porque es una respuesta específica donde el organismo reacciona de una forma inapropiada o excesiva pudiéndose desarrollar diversos tipos de daños titulares. Para comprender mejor los conceptos de alergia, Coombs y Gell en 1963 propusieron una clasificación de los mecanismos inmunopatológicos; estos autores separaron las reacciones de hipersensibilidad en cuatro grupos (TABLA 3.1): Tipo I (reacción inmediata o anafiláctica) mediada por IgE, Tipo II (reacción citotóxica o citolítica) mediada por anticuerpos citotóxicos, Tipo III (reacción de Arthus) mediada por inmunocomplejos y Tipo IV (reacción tardía) mediada por células. Si bien esta clasificación se mantiene vigente, se ha demostrado la existencia de mecanismos mixtos que constituyen la reacción de hipersensibilidad Tipo V, donde se produce la interacción entre reacciones de Tipo I y III (Aspergilosis broncopulmonar alérgica) y Tipo III y IV (Alveolitis alérgica extrínseca).

### **Reacción de hipersensibilidad Tipo I**

También conocida como reacción inmediata o anafiláctica, se caracteriza por estar mediada por IgE en respuesta a sustancias extrañas denominadas alergenos. La primera descripción de esta respuesta alérgica la realizaron Kustner y Prausnitz en 1921, donde demostraron que la inyección de suero de Kustner, alérgico al pescado, a Prausnitz, hacía que éste último desencadenara una reacción de hipersensibilidad a este alimento. Fue en 1967 cuando Ishizaka descubrió un nuevo tipo de inmunoglobulina, la IgE, responsable de esta reacción de Tipo I.

Tipo	Mecanismo	Tiempo de reacción	Mediadores	Causas
I	IgE	15-20 minutos	Histamina	Polinosis, Alergia a ácaros, animales, alimentos, medicamentos
II	IgG, IgM	---	(ADCC)	Reacciones protransfusionales, Enf. autoinmune
III	IgG	4-6 horas	C' (C5a)	Enf. del suero, Alveolitis extrínseca, Enf. Infecciosa, Enf. autoinmune
IV	Linfocitos Th	>24 horas	Fagocitos	Dermatitis de contacto

TABLA 3.1. Características de los diferentes tipos de Hipersensibilidad. ADCC: activación de reacciones de citotoxicidad dependiente de anticuerpos; C' (C5a): complemento activado C5a que atrae a granulocitos y macrófagos.

La activación de la reacción inmediata (FIG. 3.1) se origina con una primera exposición del alérgeno (respuesta primaria); éste entra en contacto con el sistema inmune, es reconocido como extraño y captado por las células presentadoras de antígenos (CPA), entre las que se encuentran las células dendríticas y de Langerhans, los monocitos/macrófagos y los LB. Dichas células procesan la molécula antigénica migrando posteriormente a los ganglios linfáticos donde son presentados al precursor del Linfocito T que al reconocer la sustancia extraña se activa diferenciándose a Th1 o Th2. Se ha demostrado que en pacientes atópicos existe un predominio de la respuesta tipo Th2 lo que promueve la activación de los LB sintetizando IgE específicas contra ese alérgeno. Durante este proceso los LB también reconocen al alérgeno como sustancia extraña, activándose y produciendo inmunoglobulinas específicas contra esa partícula extraña. Estas IgE posteriormente se unen a mastocitos presentes en las mucosas y basófilos de la sangre, no existiendo durante esta fase de sensibilización inicial daños titulares en el huésped.

En un segundo contacto (respuesta secundaria), el alérgeno se unirá directamente a las IgE presentes en las membranas de mastocitos y basófilos produciéndose una serie de reacciones bioquímicas induciendo la liberación de mediadores del proceso alérgico, los cuales pueden estar ya formados (histamina, triptasa, serotonina, peroxidasa, factor



quimiotáctico de eosinófilos, etc.) o pueden formarse a partir de la unión alergen-anticuerpo (prostaglandinas, leucotrienos, factor activador de plaquetas, quimiocinas y citocinas). Todos estos mediadores producen una serie de efectos biológicos: constricción del músculo liso bronquial, vasodilatación y aumento de la permeabilidad capilar, secreción de moco en las vías aéreas, etc., que son los responsables de los síntomas de la enfermedad alérgica. Esta reacción suele producirse en cuestión de minutos (reacción inmediata) pero algunos pacientes sufren una respuesta tardía 6-24 horas después de la exposición, debido a que el aumento de la permeabilidad vascular y los factores quimiotácticos favorecen el aflujo de IgE, factores de complemento, neutrófilos, macrófagos, eosinófilos, agregación vascular de plaquetas y del factor de Hagerman de la coagulación a la zona donde se produce el contacto, volviéndose a reproducir los síntomas.

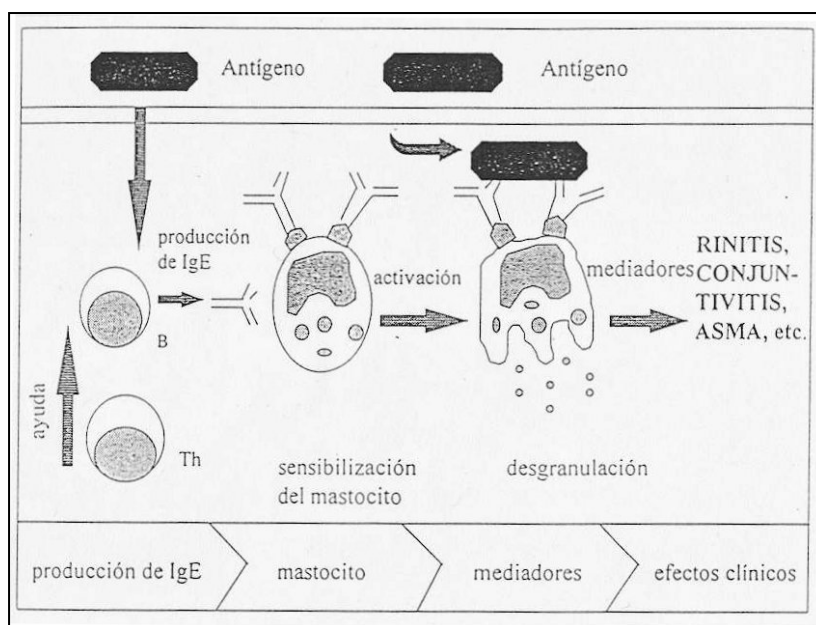


FIG. 3.2. Representación gráfica de la reacción alérgica de Tipo I.

### Mecanismos patogénicos de la alergia

Los síntomas o mecanismos patogénicos más comunes de la alergia pueden clasificarse según su duración en perennes, debido fundamentalmente a la presencia de ácaros y epitelios de animales con una duración continuada a lo largo de todo el año, o estacionales, debidos a la presencia de polen o esporas fúngicas en la atmósfera en determinadas épocas. La polinosis o alergia al polen suele afectar más comúnmente al

sistema respiratorio u ocular, aunque se han detectado casos con cuadros de irritaciones cutáneas (urticaria o dermatitis) e incluso gastroenteritis. Las sintomatologías más comunes son:

a) Asma

El asma es una enfermedad inflamatoria reversible de forma espontánea o terapéutica, en la que se produce una contracción excesiva del músculo liso bronquial. No obstante, este estrechamiento de las vías aéreas también puede ser acentuado por edema e inflamación de la pared o por aumento de la mucosidad de las mismas.

La causa más común de estos síntomas en niños mayores de dos años y adultos es por inhalación de alergenios; sin embargo a edades más jóvenes también pueden producirse por antecedentes familiares de asma o infección por virus del resfriado (rinovirus) y en personas mayores de 20 años por sinusitis hiperplásica crónica, aspergilosis alérgica broncopulmonar, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas, etc.

Con todo ello, la población asmática por polinosis es el grupo más importante que requiere tratamiento y por tanto, los que se han recibido un mayor número de estudios científicos; sin embargo, hay que tener en cuenta el hecho de que los pulmones de estos pacientes pueden responder a estímulos no alérgicos como el aire frío o el ejercicio, conociéndose esta sintomatología como hiperreactividad bronquial.

b) Rinitis

La rinitis es el conjunto de síntomas nasales como estornudos, rinorrea y congestión nasal que persisten durante al menos una hora al día. Pueden clasificarse como rinitis infecciosa, caracterizada por secreciones nasales de color amarillo, verde o blanco, con neutrófilos y a veces con bacterias; y rinitis no infecciosa o alérgica caracterizada por mucosa transparente y acuosa con contenido de eosinófilos.

La rinitis alérgica estacional provocada fundamentalmente por el polen, es la sintomatología alérgica más habitual, aún no siendo una enfermedad mortal. Esta patología causa una notable morbilidad y provoca un fuerte gasto económico en asistencia sanitaria, así como la pérdida de millones de días laborables y escolares.

### c) Conjuntivitis

Se define como la inflamación de la conjuntiva (membrana mucosa que recubre la esclerótica anterior y las superficies internas de los párpados), éstas pueden clasificarse en cinco trastornos principales: Conjuntivitis alérgica estacional (CAE), Conjuntivitis alérgica perenne (CAP), Queratoconjuntivitis atópica (QCA), Queratoconjuntivitis vernal (QCV) y Queratoconjuntivitis papilar gigante (CPG). La gravedad de estos trastornos puede oscilar entre la Conjuntivitis alérgica estacional con mínimos síntomas hasta la Queratoconjuntivitis atópica con posible pérdida de visión.

El polen y las esporas provocan en pacientes sensibilizados, conjuntivitis alérgica estacional (CAE), manifestándose con prurito, tirantez y edema alrededor de los ojos.

### d) Combinación de síntomas

Los pacientes alérgicos sufren, en la mayoría de los casos, dos o más síntomas anteriormente expuestos de manera simultánea. La rinitis y el asma son dos enfermedades muy comunes que presentan el mismo fenómeno inflamatorio y alérgico sólo que en el primero se localiza en las vías respiratorias altas y el segundo en las bajas. Los estudios epidemiológicos han puesto de manifiesto que la rinitis alérgica y la no alérgica se presentan con mucha frecuencia asociadas al asma. Se ha mostrado que esta última se presenta con mucha más periodicidad en sujetos con rinitis que en aquellos sin síntomas nasales. Algunos de los datos disponibles indican que el asma se presenta hasta en el 40% de los pacientes con rinitis, mientras que tan sólo lo hace en el 5% de los sujetos sin afectación nasal.

La rinoconjuntivitis es, dentro de las afecciones de las vías respiratorias altas, la sintomatología más frecuente. De hecho, en la literatura a esta afección se le denomina directamente rinitis siendo dos los órganos afectados (nariz y ojos).

La dermatitis atópica, por otra parte, se asocia con frecuencia a otras manifestaciones atópicas (asma, rinoconjuntivitis), de tal forma que el 70% de los pacientes tienen un historial personal o familiar de atopia, y un 80% muestra respuestas cutáneas positivas a algún alérgeno medioambiental y niveles elevados de IgE.

## Pruebas diagnósticas

Las pruebas cutáneas es el método más utilizado para la diagnosis de la alergia. Existen dos modos diferentes de realización de esta prueba: percutánea conocida comúnmente como *Prick Test* e intracutánea o intradérmica.

### *Prick Test*

Debido a su alta sensibilidad y especificidad, sencillez de ejecución, bajo coste y rapidez en la obtención de resultados, esta prueba es el método más utilizado para confirmar la sospecha clínica de alergia.

El *Prick Test* se basa en la introducción en la piel de un alergen capaz de interaccionar con la IgE de la membrana de los mastocitos y provocar la liberación de sus mediadores, generando una reacción inmediata consistente en un habón o edema rodeado de un halo eritematoso cuyo tamaño depende del grado de sensibilización, de la cantidad de alergen aplicado y de la capacidad individual de los mastocitos para liberar los mediadores.

Hay que tener en cuenta que los resultados positivos de esta prueba no indican que el alergen que ha producido un habón sea el causante de los síntomas que presenta, únicamente señalan que hay sensibilización.

La Técnica *Prick Test* se lleva a cabo de la siguiente manera:

1. La cara interna del antebrazo, donde no deben haber lesiones en la piel, es limpiada con alcohol.
2. Se marcan círculos con el número de alergen a estudiar más uno para el control positivo y otro para el negativo. La lista se evalúa y confecciona por los médicos especialistas de las Unidades de Alergia según lo estimen oportuno.
3. Sobre una gota del extracto alérgico que se quiere estudiar, se hace una pequeña punción (1mm) con el objetivo de asegurar la penetración a la epidermis. Los controles positivos y negativos utilizados son la histamina y el suero fisiológico respectivamente.

4. Tras 15-20 minutos se procede a medir el diámetro de los habones que se hayan producido, y se refleja en una ficha creada con ese objetivo.

Se considera reacción positiva cuando aparece un edema eritematoso de al menos 3 mm de diámetro o de tamaño mayor que el control positivo. Por el contrario, la prueba es negativa cuando no hay ninguna reacción o sólo aparece el habón del control positivo.

Para asegurar la realización de un buen examen, es necesario que el paciente no esté consumiendo medicamentos antialérgicos. En el caso de que el control positivo (histamina) sea negativo, no tiene validez la prueba, ya que el individuo tiene la respuesta alérgica bloqueada.

### 3.1.3. PLANTAS ALERGÓGENAS

#### *Olea europaea* L.

Su polen es la principal causa de alergia en el área Mediterránea y sin embargo, en el norte y centro de Europa, donde el olivo escasea, no posee una clínica relevante (D'Amato *et al.*, 1998). La prevalencia a este tipo polínico en el Sur de Francia alcanza el 25% de la población atópica (D'Amato *et al.*, 1994), al igual que en Italia donde se registraron los mismos porcentajes (Corrado Negrini *et al.*, 1992), siendo entre el 22,1% al 57,3% los registrados en Grecia (Papageorgiou, 1999).

En España, varía en función del área geográfica; así, mientras que en Burgos solo se ven afectado el 2% (Carretero *et al.*, 2005), Bilbao y Santiago de Compostela el 4%, Ourense el 8% y La Coruña el 25% (Dopazo, 2001) de personas con polinosis, estos valores aumentan conforme nos dirigimos al sur; de este modo el porcentaje asciende al 61% en Madrid, 77% en Toledo, 85% en Ciudad Real, 66% en Badajoz (Subiza *et al.*, 1998) o 68% en Murcia (García Sallés & Munuera, 1996).

En Andalucía la incidencia se acrecienta en provincias con tradición olivarera donde se supera el 97% en Jaén, 90% en Sevilla (Subiza *et al.*, 1998), 72% en Córdoba (Domínguez *et al.*, 1995), 69% en Málaga (Torrecillas *et al.*, 1996) ó 66,2% en Almería (Sabariego, 2003).

En Granada, un estudio sobre polinosis realizado en recetas de vacunas antialérgicas en la provincia (Díaz de la Guardia *et al.*, 1991) indica que *Olea* es la principal causa de alergia al polen con un 81,34% del total de recetas tramitadas.

### **Poaceae Barnhart**

La familia *Poaceae* es probablemente el grupo de plantas más abundantes en todo el mundo, siendo las especies de los géneros *Lolium*, *Bromus*, *Poa* o *Dactylis* las que dominan los prados de climas templados, tanto si éstos son cultivados para forraje como si crecen de manera espontánea. Por ello no sorprende que su polen sea la mayor fuente de alérgenos aerovagantes y que causen enfermedades alérgicas en gran parte de la población mundial. Es en el mundo occidental (con climas templados) y sur de Australia donde se le considera como una de las principales causas de polinosis primaverales, siendo atribuido este hecho a la combinación de sus granos de polen con la polución, puesto que esta unión incrementa la liberación de sus alérgenos a la atmósfera (Wissenbach *et al.*, 1998; Petrovska *et al.*, 2004; Schäppi *et al.*, 1999). En el área Mediterránea la prevalencia varía según las zonas, así mientras que en Grecia la incidencia oscila entre el 43% y 70% (Papageorgiou, 1999), en Italia los porcentajes dependen de la zona de estudio siendo su incidencia del 38% en el Sur (D'Amato *et al.*, 1989), 65% en el Centro (Grill- Cariola *et al.*, 2002) o del 53% en el Norte (Corrado-Negrini *et al.*, 1992).

En España, un estudio realizado por Subiza (2003) sobre la alergia a Gramíneas mostró que en el Norte aparecían los porcentajes más elevados de sensibilización: 91% en Burgos, 85% en Vitoria, 81% en La Coruña y Madrid, 80% en Bilbao, 79% en Santander y 50% en Barcelona.

En Andalucía estos valores también son muy elevados con un 87% de prevalencia en Sevilla (Subiza *et al.*, 1998), 74,3% en Jaén (Ruiz Valenzuela, 2001), 56% en Málaga (Torrecillas *et al.*, 1996), o 35,8% en Almería (Sabariego, 2003).

En la provincia granadina el estudio de realizado por Díaz de la Guardia *et al.* (1991) indica que este tipo polínico factura el 45,21% de las recetas expedidas, siendo por tanto el segundo tipo polínico que más alergia provoca.

### ***Cupressaceae* Bartl.**

La importancia alérgica de esta familia se ha puesto de manifiesto en las últimas décadas produciéndose un significativo aumento de las manifestaciones alérgicas durante el invierno debidas al polen de los cipreses en el área Mediterránea, especialmente por las polinaciones de *Cupressus sempervirens* y *C. arizonica*, que son considerados como una causa importante y cada vez más común de polinosis (Michel *et al.*, 1978; Panzani *et al.*, 1991; Mari *et al.*, 1997; Charpin *et al.*, 2005). Asimismo se ha demostrado que la prevalencia a este polen se produce sobre todo en países mediterráneos con una incidencia del 35,1% en Italia, 32% en Israel, 18,5% en Sur de Francia, 13,4% en Marruecos, 11% en Túnez, 4% en Albania (Moral del Gregorio, 2003) o en Grecia que afecta al 12,7% de la población atópica (Gioulekas *et al.*, 2004)

En España la sensibilización a este polen no se encuentra distribuida uniformemente a lo largo de todo el país puesto que esta familia es utilizada como ornamental y dependiendo por tanto de los costumbres de cada ciudad, estas plantas se encontrará más o menos representada. Así, mientras que las mayores incidencias se registran en los municipios de Madrid y Jaén con un 23% en ambas ciudades (Subiza *et al.*, 1998; Ruiz Valenzuela, 2001), la población toledana se ve afectada con un 21%, 16% en Ciudad Real, 10% en Sevilla o 7% en Málaga (Subiza *et al.*, 1998); en otras ciudades se manifiestan una baja incidencia con un 2% en La Coruña (Dopazo, 2001) o 1,8% en Almería (Sabariego, 2003). En la provincia de Granada en 1991 no existía constancia de que se recetasen vacunas contra este taxon (Díaz de la Guardia *et al.*, 1991).

### ***Parietaria* L.**

La familia Urticáceas tiene dos géneros marcadamente diferentes, *Urtica* y *Parietaria* que, desde el punto de vista clínico, a pesar de tener las mismas características morfológicas y coincidir en la polinación, son alergológicamente diferentes, careciendo la primera de ellas de actividad alérgica y siendo la segunda, una de las principales causas de polinosis en el área Mediterránea (D'Amato *et al.*, 1991) llegando a afectar a cerca de 10 millones de personas (Colombo *et al.*, 1998).

Aún así, esta alergopatía difiere según el área de estudio; D'Amato & Liccardi (1994) determinaron que el 25% de la población del Sur de Francia padecían alergia a este tipo

polínico; variando estos porcentajes en Italia y Grecia siendo del 65% y 19% en el Norte (Corrado-Negrini *et al.*, 1992; Papageorgiou, 1999), 30% y 37% en el Centro (Grill-Caiola *et al.*, 2002; Papageorgiou, l.c.) o 82% y 49% en el Sur (D'Amato & Lobefano, 1989; Papageorgiou, l.c.).

En España, la sensibilidad al polen de *Parietaria* se encuentra marcadamente relacionada con el área de estudio siendo en las ciudades de la costa Mediterránea y poblaciones con alto grado de humedad, donde más alergias a este tipo polínico se han detectado. Málaga es la ciudad con mayor porcentaje, 30% (Torrecillas *et al.*, 1998), La Coruña y Jaén con 29% (Ferreiro *et al.*, 1998; Ruiz Valenzuela, 2001), Almería con 25,4% (Sabariego, 2003), Madrid y Santander con 19% (Subiza *et al.*, 1998; De Benito & Soto, 2001), Toledo con 11%, Elche con 10% o Bilbao con 4% (Subiza *et al.*, l.c.).

En Granada la tramitación de vacunas contra este alergenógeno alcanzó el 9,46%, lo que implicaba que este tipo polínico fuese la tercera causa de alergia en la provincia (Díaz de la Guardia *et al.*, 1991).

### ***Chenopodiaceae* Vent./*Amaranthaceae* Juss.**

El tipo polínico *Chenopodiaceae/Amaranthaceae* ha sido considerado por numerosos autores como causantes de polinosis (Subba Reddi, 1974; Spieksma *et al.*, 1980); dentro de estas grandes familias, la especie *Salsola kali* es considerada como la más alergógena en la región Mediterránea, debido al alto porcentaje de polen que desprende, además de otros táxones de esta familia como *Atriplex*, *Chenopodium album* y *Amaranthus retroflexus* (Sabariego *et al.*, 2003).

En los Emiratos Árabes, Kuwait y Arabia Saudí es la primera causa de alergia entre la población atópica (Räsänen, 2000) y en el Sur de Italia llega a alcanzar el 3% del total de polinosis (D'Amato *et al.*, 1989).

En España la frecuencia de alergia a este tipo polínico oscila entre el 52% de Madrid (Subiza *et al.*, 1998), 47,8% de Almería (Sabariego *et al.*, 2003), 44% de Sevilla (Subiza *et al.*, 1998), 42% de Zaragoza (Ferreiro *et al.*, 1998), 35% de La Coruña, 20% de Málaga (Subiza *et al.*, 1998) o Santander (De Benito & Soto, 2001).

En Granada se registró un 1,36% del total de recetas expedidas lo que implicaba que



este taxon era la quinta causa de alergia en la provincia (Díaz de la Guardia *et al.*, 1991).

### ***Artemisia* L.**

*Artemisia* es un género de la familia *Compositae* considerado como un importante aeroalergeno de finales de verano y principios de otoño en Europa Occidental (Jimeno *et al.*, 2005). La frecuencia de polinosis en pacientes atópicos en Europa oscila entre 3%-10% (D'Amato *et al.*, 1998). En España los porcentajes de sensibilizaciones tampoco son muy elevados destacando Almería con un 30,4% (Sabariego, 2003), un 12% de alérgicos en Santander (De Benito & Soto, 2001), 10% en Málaga (Torrecillas *et al.*, 1998) y 9% en La Coruña (Ferreiro *et al.*, 1998). En Granada este taxon provoca la cuarta causa de polinosis en la provincia con un 2,34% del total de recetas expedidas (Díaz de la Guardia *et al.*, 1991).

### ***Platanus* L.**

Desde la década de los setenta ya se conoce la existencia de una hipersensibilidad de Tipo I para el polen de *Platanus* aunque la prevalencia a este taxon es bastante escasa (Enrique *et al.*, 2002). Entre la exigua información alergológica que existe sobre la polinosis del Plátano de sombra en Europa, podemos destacar que esta afección afecta al 13% de alérgicos en Montpellier, 5% en Nápoles (D'Amato & Lobecefo, 1989) y 8,2% en Grecia (Gioulekas *et al.*, 2004). En España, por el contrario, la sensibilización a este taxon varía; mientras que en ciudades como Ciudad Real se ven afectados el 19% (Feo Brito *et al.*, 1998), Santander el 14% (De Benito & Soto, 2001), La Coruña el 13%, Santiago de Compostela el 9% (Dopazo, 2001), Barcelona el 8,5% (Enrique *et al.*, 2002) o Málaga el 5,3% (Torrecillas *et al.*, 1998), otras ciudades presentan un mayor porcentaje, con un 25% en Zaragoza y Logroño (Pola *et al.*, 1998, Lobera & Blasco, 1998), 29% en Badajoz (González *et al.*, 1998), 52% en Toledo (Moral *et al.*, 1998), siendo en Madrid la primera causa de polinosis afectando al 56% del total de pacientes atópicos (Subiza *et al.*, 1994).

En Granada el porcentaje de recetas facturadas no superaba el 0,44% del total por lo que la incidencia era escasa o nula (Díaz de la Guardia *et al.*, 1991).

### ***Plantago L.***

La capacidad alergénica de este tipo polínico ha sido descrita en algunas zonas de Europa y Australia (Bousquet *et al.*, 1984) aún siendo muy pocos los pacientes monosensibilizados; por ello es muy difícil de evaluar el grado de alergenicidad de esta especie vegetal (Ranea Arroyo, 2002).

En el sur de Italia la prevalencia al polen de *Plantago* alcanza solo el 3% de la población alérgica (D'Amato *et al.*, 1989); sin embargo en España estos porcentajes aumentan considerablemente, afectando al 65% en Santander (De Benito & Soto, 2001), 56,2 % en Jaén (Ruiz Valenzuela, 2001), 41% en La Coruña (Ferreiro *et al.*, 1998), 23,4% en Almería (Sabariego, 2003), 18% en Elche (Fernández Sánchez *et al.*, 1998), 11% en Málaga (Torrecillas *et al.*, 1998) o 1,28% en Granada (Díaz de la Guardia *et al.*, 1991).

### ***Populus L.***

El polen de los chopos o álamos apenas presenta alergenicidad; en Estados Unidos se realizó un estudio para comprobar su verdadero carácter alergógeno detectándose que el 67% de pacientes poseían algún grado de alergia a este taxon. Sin embargo, al realizarse en diferentes estados, estos porcentajes variaban considerablemente concluyéndose que su sensibilización se debía a las concentraciones polínicas registradas en el aire más que a su verdadero carácter alergógeno (Barjau *et al.*, 2003). En Grecia (Gioulekas *et al.*, 2004) el 8,4% de la población de Tesalónica presentan positividad en el *Prick Test*; por su parte en España, en un estudio de la polinosis en 12 ciudades españolas (Subiza *et al.*, 1998) sólo dos de ellas presentaron alergia a este polen (Madrid con un 29% y Ciudad Real con un 4%).

#### **3.1.4. LA AEROBIOLOGÍA EN RELACIÓN CON LA POLINOSIS**

En el transcurso de esta Tesis Doctoral, se ha comprobado cómo la Aerobiología está relacionada con un amplio abanico de disciplinas científicas. Sin embargo, el campo clásico de aplicación de los datos aerobiológicos es la Medicina debido a las implicaciones alergénicas de este tipo de partículas. Tradicionalmente, el aerobiólogo ha pretendido catalogar y cuantificar la diversidad polínica y fúngica existente en la atmósfera para

establecer calendarios polínicos y fúngicos o para la creación de modelos predictivos, utilizando estadística tradicional, modelos de estimación espacial en combinación con SIG o complejos algoritmos denominados Sistemas Expertos. Todo ello con el fin de mejorar los mecanismos de prevención de las alergias en España (Recio, 1995; Alba, 1997, Ruiz, 2001; Belmonte & Canela., 2002; Sabariego, 2003; Sánchez Mesa, 2003; Alba *et al.*, 2006; Nieto-Lugilde, 2006; Aznarte, 2007) o en otros países como Finlandia (Kuparinen *et al.*; 2006), Alemania (Vogel *et al.*; 2006), Rusia (Sofiev *et al.*, 2006) o Norte América (Isaard & Ariatti, 2006).

En la actualidad, existe un incremento considerable de las afecciones alérgicas en todo el mundo. Gracias a las correlaciones epidemiológicas, aerobiológicas y los estudios clínicos llevados a cabo desde 1983, se comprenden mucho mejor los mecanismos que rigen la polinosis (D'Amato *et al.*, 1998).

El gran número de personas afectadas que superan ya al 23% de la población (García González *et al.*, 1999) y el coste económico que ello conlleva, hace que los trabajos de monitorización del contenido de partículas bióticas sean de gran interés. Los recuentos polínicos son de gran utilidad puesto que ayudan a:

- Establecer qué tipos de polen alergénico existe en la zona.
- Conocer el periodo de polinación y por tanto el periodo en que la población está expuesta.
- Predecir la intensidad de la polinación.
- Planificar viajes sin riesgos a reacciones alérgicas.
- Explicar la variabilidad en la severidad de la polinosis año tras año en las diferentes áreas geográficas.
- Detectar nuevos tipos polínicos alergógenos.

Con ello se consigue diferenciar sensibilizaciones clínicas de las subclínicas, aclarar la prevalencia de las sensibilizaciones, determinar el inicio y el fin de los tratamientos profilácticos o reducir la dosis en la administración de vacunas alérgicas.

La alergología ha suscitado un interés creciente entre los investigadores, de forma que en este ámbito la información y avances científicos se reflejan casi exclusivamente por publicaciones científicas. Existen estudios sobre Alergia y Aerobiología generales (D'Amato *et al.*, 1998; Burr *et al.*, 2003; Geller-Berntein, 1996; Mandrioli & Ariatti, 2001; Riera *et al.*, 2002; Ring, 2001; Gore & Custovic, 2004; Steenberger *et al.*, 1999); por ciudades, Granada (Díaz de la Guardia *et al.*, 1991), Málaga (Torrecillas *et al.*, 1996), Córdoba (Cariñanos, *et al.*, 2002), Almería (Sabariego, 2003), Badajoz (González-Galán *et al.*, 1998), Santander (De Benito & Soto Torres, 2001), Salamanca (Calvo *et al.*, 1996), Bilbao (Antepara *et al.*, 1995), Madrid (Subiza *et al.*, 1998); por especies vegetales, *Olea europaea* (Domínguez *et al.*, 1993; Liccardi *et al.*, 1994; Carnéz Sanchez *et al.*, 2000; Conde Hernández, 2002), *Poaceae* (González Minero *et al.*, 1998; Muñoz *et al.*, 2000; Sánchez Mesa, 2003; Nakano *et al.*, 2003), *Cupressaceae* (Agea *et al.*, 2000; Panzani, 2003; Charpin *et al.*, 2005; Díaz de la Guardia *et al.*, 2006), *Urticaceae* (Botey *et al.*, 1999; Vidal *et al.*, 2001; Conrrado Negrini *et al.*, 2002) o *Platanus* (Enrique *et al.*, 2002; Nitiu & Mallo, 2002).



## **3.2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



## Hipótesis de trabajo

En las últimas tres décadas la alergia se ha convertido en uno de los principales problemas sanitarios. La Organización Mundial de la Salud estima que aproximadamente existen 300 millones de personas que padecen asma en todo el mundo y son otros tantos los que sufren rinitis alérgicas (OMS, 2005). Aunque no se sabe concretamente el porqué de este incremento, la Medicina y la Biología son las disciplinas que podrían dar una respuesta plausible a este hecho. En el caso de las polinosis, la Aerobiología juega un papel muy importante ya que son las partículas biológicas, polen y esporas, que se dispersan por el aire, las principales responsables de estos síntomas.

La hipótesis planteada en este capítulo es llegar a conocer la incidencia de la alergia al polen en la provincia de Granada puesto que los datos existentes sobre polinosis en esta área geográfica son escasos (Díaz de la Guardia *et al.*, 1991); por otro lado, la existencia de 15 años de estudios aerobiológicos así como los datos recientes sobre la actividad alérgica en la atmósfera, podrían dar respuesta al aumento de estas reacciones de hipersensibilidad. El análisis de los datos en los Servicios de Urgencias conseguiría demostrar a su vez, el paralelismo entre los tipos polínicos más abundantes en la atmósfera y las afecciones en las personas sensibilizadas en un mismo periodo.

## Objetivos

Los objetivos planteados son los siguientes:

- Conocer la incidencia de polinosis en la población de Granada y provincia, matizando su grado de afección en la población adulta e infantil, según la edad, sexo y tipo de sensibilización.
- Determinar si estas alergias se encuentran delimitadas según el área geográfica dentro de la misma provincia o si por el contrario, toda el área estudiada padece las mismas sensibilizaciones.
- Valorar el grado de alergenidad de cada una de las especies vegetales y su repercusión en la población; así como conocer la relación existentes entre los casos de polinosis y concentraciones polínicas y alérgicas presentes en la atmósfera.



- Correlacionar los ingresos en los Servicios de Urgencias con las concentraciones polínicas, según la edad y sexo de los pacientes, así como el intervalo horario de admisión.

### **3.3. MATERIAL Y MÉTODOS**



### 3.3.1. RECOGIDA DE DATOS

#### Unidades de Alergia

Con el fin de poder mostrar los resultados obtenidos de manera fácil y de rápida comprensión, el estudio geográfico de la población atópica en la provincia de Granada se ha realizado en base al Mapa Sanitario asignado en 2002 por la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía para la Sanidad Pública (FIG. 3.3). De esta manera la provincia se subdivide en cuatro distritos de Atención Primaria (Centro, Nordeste, Noroeste y Sur) denominados respectivamente: 1) Distrito Granada, 2) Distrito Nordeste, 3) Distrito Metropolitano y 4) Distrito Sur.



FIG. 3.3. Mapa de los distritos sanitarios correspondientes a la provincia de Granada.

Para poder conocer la incidencia de polinosis en la población se solicitó la colaboración de las siguientes Unidades de Alergia: 1) Unidad de Alergología- Servicio de Medicina Interna, Hospital Clínico Universitario “San Cecilio”; 2) Unidad de Alergia Infantil, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de Granada; 3) Unidad de Alergia e Inmunológica Pediátrica, Hospital Materno Infantil; 4)

Clínica de Alergología "Alergomedic, Clínicas de Alergia y Asma de Granada". La elección de la muestra poblacional, se llevó a cabo considerando las siguientes características:

1. Pacientes que acudieran por primera vez a consulta de manera consecutiva en el periodo comprendido entre: a) enero de 1999 a mayo de 2003 para la Unidad de Alergia e Inmunológica Pediátrica, Hospital Materno Infantil y Clínicas de Alergología "Alergomedic, Clínicas de Alergia y Asma de Granada"; b) enero de 2000 a diciembre de 2003 para la Unidad de Alergología- Servicio de Medicina Interna y Unidad de Alergia Infantil, Departamento de Pediatría ubicadas en el Hospital Clínico Universitario "San Cecilio".
2. Pacientes que mostraran solamente clínica estacional y test cutáneos positivos a algún tipo polínico, quedando totalmente descartados los que padecían alergopatías a animales, alimentos, medicamentos o que su procedencia fuera de otra provincia (Jaén, Almería).
3. Pacientes que desarrollaran sintomatología respiratoria o cutánea de naturaleza alérgica (rinitis, conjuntivitis, asma, urticaria).

Para llevar a cabo este trabajo se elaboró un cuestionario de recogida de datos que pretendía ser lo más simple posible, para no extenderse demasiado en cada uno de los historiales clínicos. Para ello, dicho cuestionario se completaba marcando con una "X" los tipos polínicos que dieran positivo en *Prick Test* y la sintomatología que padecían; así mismo, se tomaron los siguientes datos: número de historial, sexo, edad, lugar de procedencia, antecedentes familiares. Si algún paciente presentaba alergia a otro alérgeno se indicaba en la casilla "Observaciones" (TABLA 3.2).

Hospital:

Historia (n°)				
Fecha consulta				
Sexo				
Edad				
Procedencia				
Antec. Fam.				
<i>Olea</i>				
<i>Poaceae</i>				
<i>Cupressaceae</i>				
<i>Platanus</i>				
<i>Parietaria</i>				
<i>Artemisia</i>				
<i>Chenop./Amaran.</i>				
<i>Plantago</i>				
<i>Populus</i>				
Asma				
Rinoconj + Asma				
Rinoconjuntivitis				
Rinitis				
Conjuntivitis				
Rinitis + Asma				
Urticaria				
Observaciones				

TABLA 3.2. Cuestionario de recogida de datos en Unidades de Alergia.

### Servicios de Urgencias

El estudio de pacientes ingresados en los Servicios de Urgencias del Hospital Clínico Universitario “San Cecilio” y Hospital Materno Infantil de Granada aquejados de síntomas de alergias se realizó en el periodo comprendido entre el 30 de abril y el 26 de junio de 2005. Lo más importante era establecer la correlación de síntomas de alergia con el contenido de polen aerovagante de *Olea europaea* y *Poaceae* para ver cuál de estos datos se ajusta más a los síntomas que sufren los alérgicos y por tanto conocer si la información aportada por los aerobiólogos es útil para los pacientes de alergia y responsables de salud.

El estudio clínico se realizó completando un cuestionario (TABLA 3.3), revisando manualmente todos los ingresos de Urgencias producidos en ese periodo de estudio en ambos Hospitales. Dicho cuestionario se completaba rellenando los cuadros de número de historial (HHCC), nº de registro, hora de ingreso, sexo, edad, lugar de procedencia, alergias, motivo de ingreso, comienzo de los síntomas, diagnóstico y tratamiento. Si algún paciente tenía algún otro dato de interés se indicaba en la última casilla.

Datos Urgencias Hospital:

HHCC				
Registro				
Hora ingreso				
Sexo				
Edad				
Procedencia				
Alergias				
Motivo ingreso				
Comienzo síntomas				
Diagnóstico				
Tratamiento				
Observaciones				

TABLA 3.3. Cuestionario de recogida de datos en los Servicios de Urgencias.

La elección de la muestra, se llevó a cabo considerando las siguientes características:

- Pacientes ingresados por problemas en las vías respiratorias o urticaria con antecedentes de alergia.
- Pacientes ingresados con síntomas de alergia en cuyo diagnóstico final mostraban causa alérgica.
- Pacientes cuyo motivo de ingreso vinculaba al contacto directo con plantas.
- Pacientes aquejados de sintomatología estacional habiéndose cursado durante uno o más años.

Para este estudio se descartó la población menor de dos años puesto que, los síntomas asmáticos o sibilancias que padecen son difíciles de diagnosticar pudiendo provocar un error en el estudio y a los mayores de 65 años cuyos síntomas no estuvieran estrechamente relacionados con el polen (pacientes con tratamiento de alergia al polen o pacientes cuyos síntomas aparecieron al contacto con plantas).

### **3.3.2. UTILIZACIÓN DE CARTOGRAFÍA TEMÁTICA**

El uso de los Sistemas de Información Geográfica (SIG) en el campo de la salud pública es muy reciente, representando una nueva tecnología que puede tener múltiples aplicaciones (Richards *et al.*, 1999). Los SIG se han descrito como un conjunto de datos geográficos y temáticos que interactúan, permitiendo analizar y sintetizar un gran volumen de datos con el fin de describir una situación, en nuestro caso en el ámbito de la salud.

Esta novedosa herramienta puede ser utilizada para simplificar resultados complejos del análisis, identificar grupos de población que se encuentran en mayor riesgo de enfermar o morir, o para apoyar la vigilancia en la prevención y el control de problemas de salud.

En la presente Tesis Doctoral se ha utilizado el modelo vectorial donde a partir de un mapa de municipios de Granada, subdividido en cuatros distritos sanitarios, se le asigna diversas variables clínicas. Éstas se codifican por la posición de sus límites municipales (polígonos) obteniendo con ello un resumen esquemático y de rápida comprensión de las afecciones alérgicas que padece la población atópica de la provincia. De esta manera, se han realizado mapas alergológicos para describir la distribución geográfica de los tipos polínicos con mayor capacidad alergógena que provocan la primera y segunda causa de alergia tanto en la población total analizada como la adulta e infantil.

### **3.3.3. PRESENTACIÓN DE LOS DATOS**

Los análisis estadísticos pueden realizarse para obtener información a tres niveles: a) encontrar la causa del fenómeno; b) describir las consecuencias; c) realizar correlaciones o predicciones asumiendo que una variable depende de la otra.

Con los datos obtenidos en las Unidades de Alergología se ha realizado un estudio



descriptivo de la población atópica en la provincia de Granada para conocer qué tipos polínicos son los causantes de las polinosis más severas, qué población se muestra más afectada y cual es la sintomatología que provoca. Para ello se ha intentado combinar el uso de tablas y gráficas que resuman lo mejor posible los resultados obtenidos.

En primer lugar, se examinan los datos de manera general con toda la población analizada; posteriormente, conociendo de antemano que la sintomatología alérgica en la población adulta e infantil es diferente (De Linares, 2002; Díaz de la Guardia *et al.*, 2006), se muestran dos apartados generales para cada tipo de población.

En todos ellos y con el objetivo de no extenderse demasiado en la exposición de los resultados, se ha aplicado el uso de SIG para mostrar los tipos polínicos más alergógenos en función del área geográfica.

A continuación, se realiza un estudio de la polinosis según la especie vegetal estudiada. Así, se muestran los datos de la población alérgica a *Olea*, *Poaceae*, *Cupressaceae*, *Urticaceae*, *Chenopodiaceae/Amaranthaceae*, *Artemisia.*, *Platanus*, *Plantago* y *Populus*.

Sin embargo, con el estudio de los pacientes ingresados en los Servicios de Urgencias se ha realizado además un análisis de correlación no paramétrico de *Spearman* con el que se pretende conocer el grado de asociación existente entre las concentraciones polínicas de *Olea europaea* y *Poaceae* y el número de ingresos producidos en el mismo periodo de muestreo.

## **3.4. RESULTADOS**



### 3.4.1. POLINOSIS EN EL ÁREA DE ESTUDIO

Tras el primer estudio exhaustivo realizado en la provincia de Granada en el que se evalúa la incidencia de sensibilización a diferentes tipos polínicos (*Olea*, *Poaceae*, *Parietaria*, *Cupressaceae*, *Chenopodiaceae/Amaranthaceae*, *Artemisia*, *Platanus*, *Plantago* y *Populus*), se presentan los siguientes resultados.

Después de examinar 9.693 historiales clínicos de pacientes con problemas alérgicos (TABLA 3.4) tratados durante los años 1999-2003, se ha tomado una muestra de 5.961 pacientes con polinosis, lo que supone el 65,4% de la población afectada.

Unidades de Alergia	Nº pacientes consultados	Nº pacientes con polinosis	% polinosis
Unidad de Alergología (HCU)	6.791	4.000	58,9
Unidad de Alergia Infantil (HCU)	1.532	1.053	68,7
Unidad de Alergia e Inmunología Pediátrica (HMI)	870	561	64,5
Clínica de Alergología (CAA)	500	347	69,4
<b>TOTAL</b>	<b>9.693</b>	<b>5.961</b>	<b>65,4</b>

TABLA 3.1. Total pacientes para el estudio, datos absolutos y porcentuales (%) de pacientes con polinosis. HCU: Hospital Clínico Universitario "San Cecilio"; HMI: Hospital Materno Infantil; CAA: Clínica de Alergología "Alergomedic, Clínicas de Alergia y Asma de Granada".

Si analizamos la incidencia de los diferentes tipos polínicos (TABLA 3.5) se observa como *Olea* es la primera causa de alergia con un 77,2% de pacientes sensibilizados, seguido de *Poaceae* (54,6%), *Chenopodiaceae/Amaranthaceae* (31,5%), *Cupressaceae* (29,5%), *Plantago* (23,4%), *Artemisia* (19,6%), *Platanus* (17,0%), *Parietaria* (15,9%) y *Populus* (7%). Al comparar los porcentajes de sensibilización anual, se observa que dentro de una misma especie pueden variar notablemente. Esto se debe en gran medida a causas probabilísticas más que a concentraciones polínicas producidas en esos años o características alergógenas de la especie. Los pacientes que acuden a las Unidades de Alergia pueden haberse sensibilizado en cualquier momento de sus vidas, no teniendo por qué estar relacionados con el momento de la visita al especialista.

ESPECIE ALERGÓGENA	1999	2000	2001	2002	2003	1999-2003
<i>Olea</i>	79,2	72,8	73,8	78,3	79,6	<b>77,2</b>
<i>Poaceae</i>	47,6	56,8	54,1	57,5	52,8	<b>54,6</b>
<i>Chenop./Amaran.</i>	7,3	34,4	34,1	30,0	27,5	<b>31,5<sup>#</sup></b>
<i>Cupressaceae</i>	8,3	31,7	27,5	27,6	29,3	<b>29,5<sup>#</sup></b>
<i>Plantago</i>	1,7	24,1	22,7	4,8	2,8	<b>23,4<sup>#</sup></b>
<i>Artemisia</i>	24,1	28,5	20,4	18,2	17,9	<b>19,6</b>
<i>Platanus</i>	13,2	22,8	20,2	16,6	14,0	<b>17,0</b>
<i>Parietaria</i>	17,9	19,5	15,5	14,9	15,9	<b>15,9</b>
<i>Populus</i>	10,1	0,4	1,1	8,0	6,1	<b>7,0<sup>#</sup></b>

TABLA 3.5. Porcentaje de sensibilización de los distintos tipos polínicos alergógenos. <sup>#</sup> Sensibilización de especie no testada regularmente.

Las personas monosensibilizadas (TABLA 3.6) podrían llegar a ser los individuos que mejor determinan la capacidad real de las especies vegetales puesto que, sin temor a errores de reacciones cruzadas, muestran los niveles de afección y grado de alergenicidad de este grupo de aeroalergenos. Teniendo en cuenta este dato, se observa que de nuevo *Olea* es la primera causa de polinosis en la provincia de Granada con más del 50% de individuos monosensibles; la segunda causa de alergia es *Poaceae* afectando al 15,1%, seguido de *Cupressaceae*, *Parietaria*, *Artemisia*, *Chenopodiaceae/Amaranthaceae*, *Platanus* y por último *Plantago*.

ESPECIE ALERGÓGENA	1999	2000	2001	2002	2003	1999-2003
<i>Olea</i>	62,9	36,9	44,1	53,4	62,9	<b>50,8</b>
<i>Poaceae</i>	12,4	12,8	16,4	16,3	9,4	<b>15,1</b>
<i>Cupressaceae</i>	2,9	16,6	11,0	11,8	14,1	<b>13,5<sup>#</sup></b>
<i>Parietaria</i>	5,7	15,7	12,1	6,2	8,1	<b>9,7</b>
<i>Artemisia</i>	5,7	5,1	5,6	4,5	2,7	<b>4,6</b>
<i>Chenop./Amaran.</i>	3,7	4,6	4,6	4,5	1,7	<b>3,6</b>
<i>Platanus</i>	--	1,8	0,3	0,8	0,3	<b>1,0</b>
<i>Plantago</i>	--	--	1,1	0,8	--	<b>1,0<sup>#</sup></b>

TABLA 3.6. Porcentaje de sensibilización de los distintos tipos polínicos alergógenos en pacientes monosensibles. <sup>#</sup>Sensibilización de especie no testada regularmente.

Entre la población diagnosticada de polinosis (FIG. 3.4), se puede observar que afecta por igual a hombres y a mujeres; sin embargo, teniendo en cuenta la variable de edad, la segmentación realizada muestra cómo de manera general, la población atópica es más elevada en edades comprendidas entre los 16 y 35 años y menor entre los más jóvenes y mayores de 36 años; son, sin lugar a dudas, las rinoconjuntivitis asmáticas o asma los síntomas más comunes (64%), quedando representadas por debajo del 2% las urticarias y otros síntomas donde se combinan la dermatitis con rinitis y/o asma. Por otra parte, el 48% de los pacientes presentan sensibilización mixta a pólenes, el 19% sensibilización a un solo tipo polínico y el resto (33%) padecen alergia tanto a alérgenos vegetales como a animales (ácaros, epitelios de perro, gato, caballo, etc.).

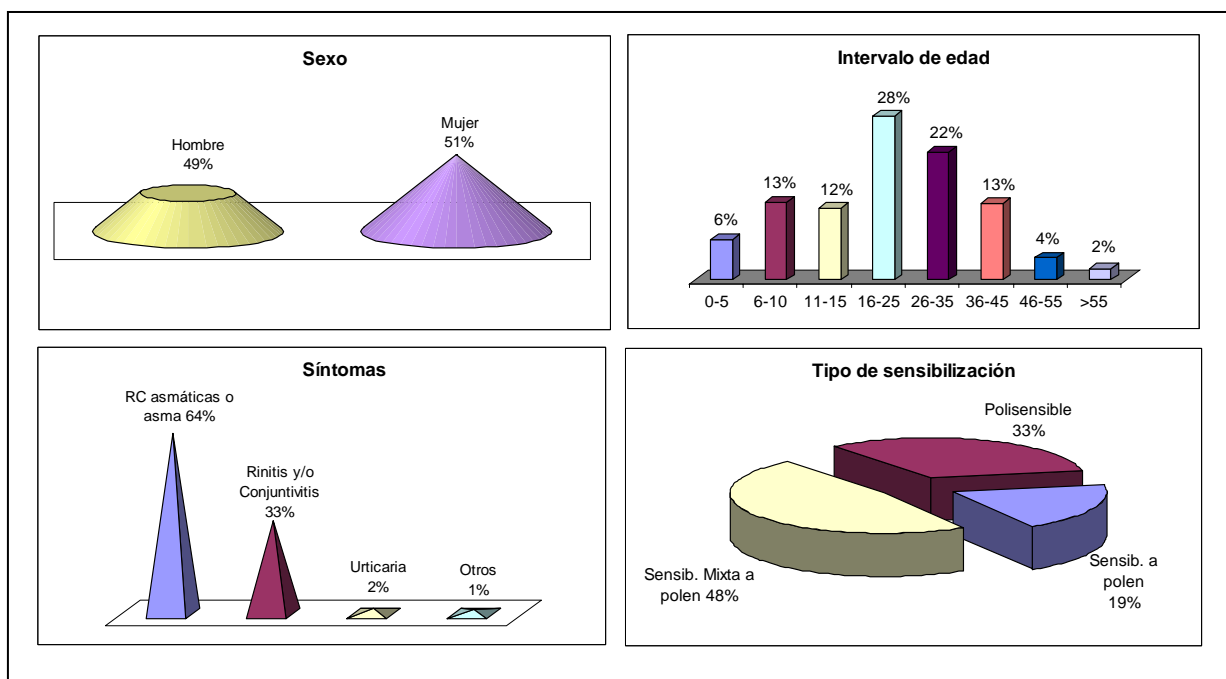


FIG. 3.4. Porcentajes de pacientes alérgicos en función del sexo, intervalo de edad, síntomas y tipo de sensibilización.

Si se analizan solo los pacientes sensibilizados a un solo tipo polínico (FIG. 3.5), éstos presentan leves diferencias con respecto a los resultados generales, de tal manera que es ligeramente superior la frecuencia de mujeres que de hombres (54% frente a 46%); los porcentajes de edad se encuentran distribuidos homogéneamente a lo largo de la segmentación, excepto en los pacientes mayores de 46 años que apenas padecen alergia a un solo taxon. A pesar de ello, siguen siendo las rinoconjuntivitis asmáticas las que con

mayor frecuencia se producen con un 60%, seguido de rinitis y/o conjuntivitis (35%), urticarias y otros.

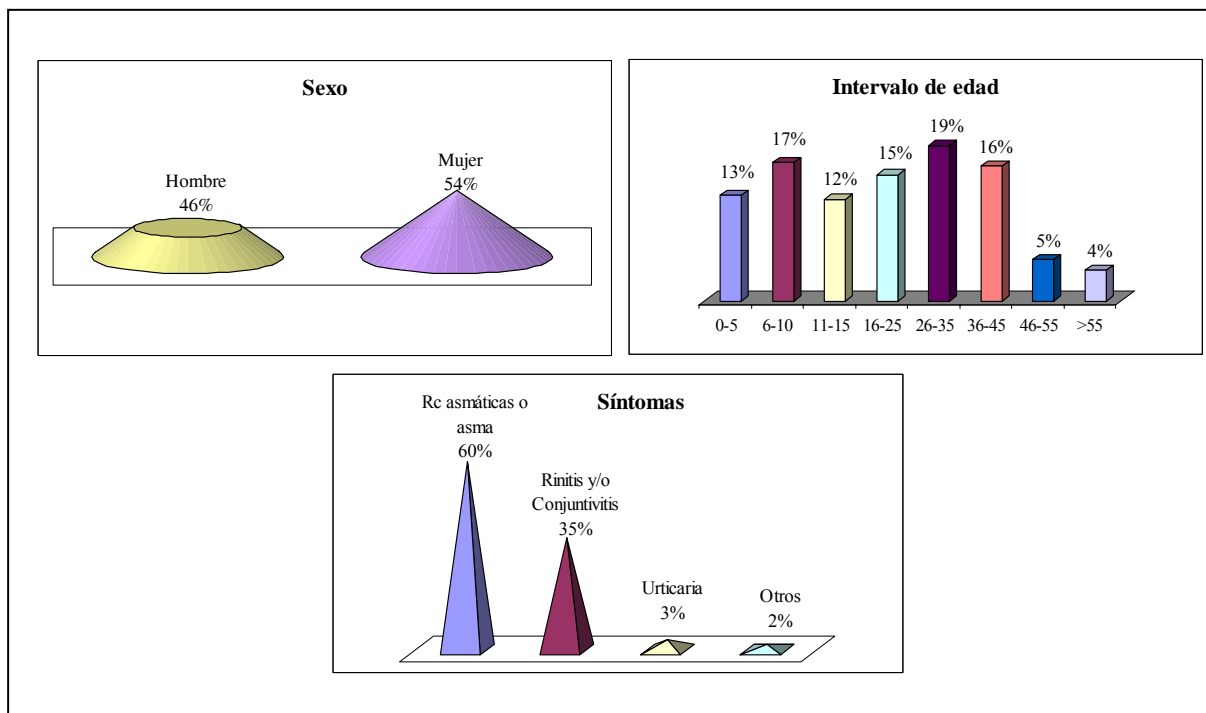


FIG. 3.5. Porcentajes de pacientes monosensibilizados en función del sexo, intervalo de edad y síntomas.

Al enfrentar las variables intervalo de edad-sexo (FIG. 3.6) se puede observar cómo existe una distribución directamente proporcional con respecto al sexo femenino (a más edad, mayor porcentaje de sensibilizaciones). Por el contrario, los hombres poseen una distribución indirecta, padeciendo más alergopatías a edades tempranas y descendiendo a edades adultas.

El estudio de la polinosis en función del área geográfica (FIG. 3.7) revela como, excepto en el Distrito Sur, es *Olea* la primera causa de alergia entre la población granadina, aunque en el Distrito Nordeste esta patología se encuentra compartida con alergia a *Chenopodiaceae/Amaranthaceae*. Sin embargo, en el Distrito Sur es la alergia a *Parietaria* la que mayores porcentajes de sensibilizaciones provoca, principalmente en los municipios de la Costa Tropical, existiendo en las zonas de Las Alpujarras una mayor heterogeneidad a la hora de definir qué tipo polínico es el más alergógeno.

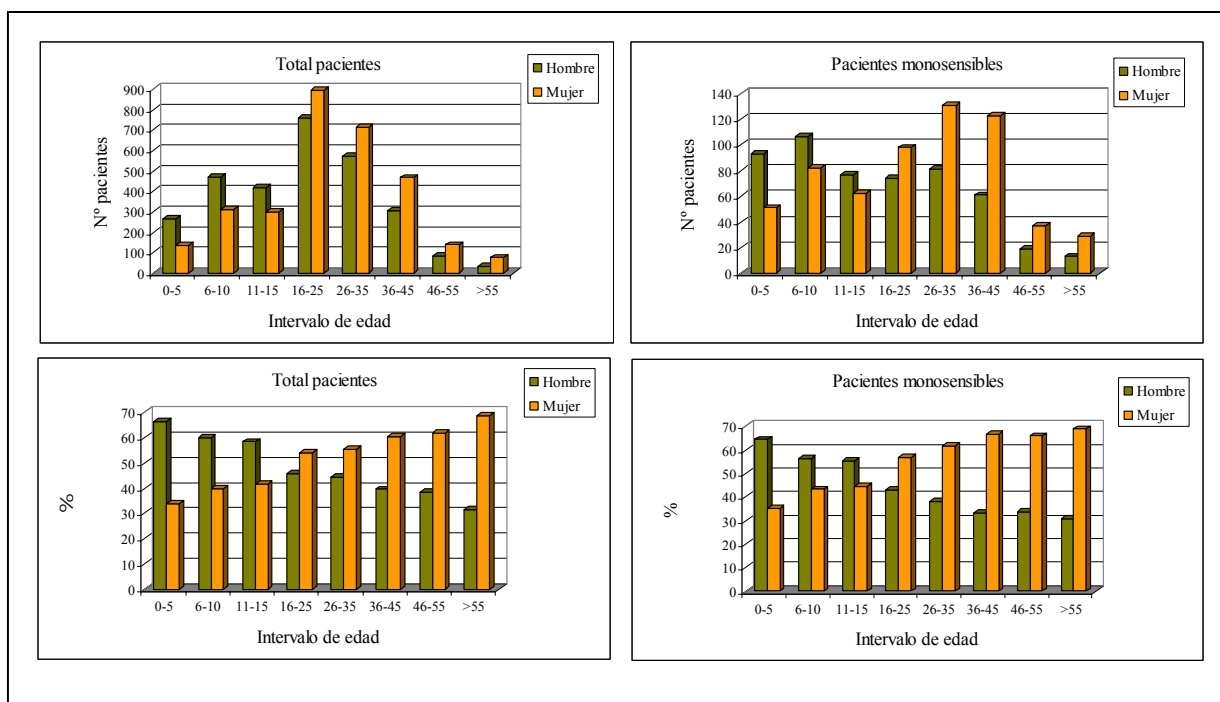


FIG. 3.6. Relación intervalo de edad con respecto al sexo en total de pacientes y monosensibles expresados en nº de pacientes y porcentajes.

La segunda causa de polinosis en la provincia de Granada es menos homogénea; sin duda, el polen de *Poaceae* es la causante de las mayores afecciones en personas atópicas, aunque en muchos municipios esta patología es compartida con otras especies como *Cupressaceae* o *Chenopodiaceae/Amaranthaceae*. El Distrito Sur muestra ahora cómo son las polinosis al Olivo y Gramíneas las que comparten este segundo puesto.

Entre los pacientes alérgicos a una sola especie (FIG. 3.8) se hace más evidente la alergia a *Parietaria* en la zona Sur. Mientras que en los Distritos Granada y Nordeste destacan la aparición de ciertos municipios con alergias a *Cupressaceae* como primer motivo de alergia.

La segunda causa de polinosis en pacientes monosensibles es menos representativa. Más de la mitad de la provincia carece de referencias siendo los Cipreses, Gramíneas, Olivo, Parietarias o Quenopodios los que se reparten esta afección. Destacan los datos del Distrito Sur donde aparece la alergia a *Olea* cómo segunda afección y de cómo *Cupressaceae* en el Distrito Metropolitano es especialmente significativo en los municipios próximos a la capital.



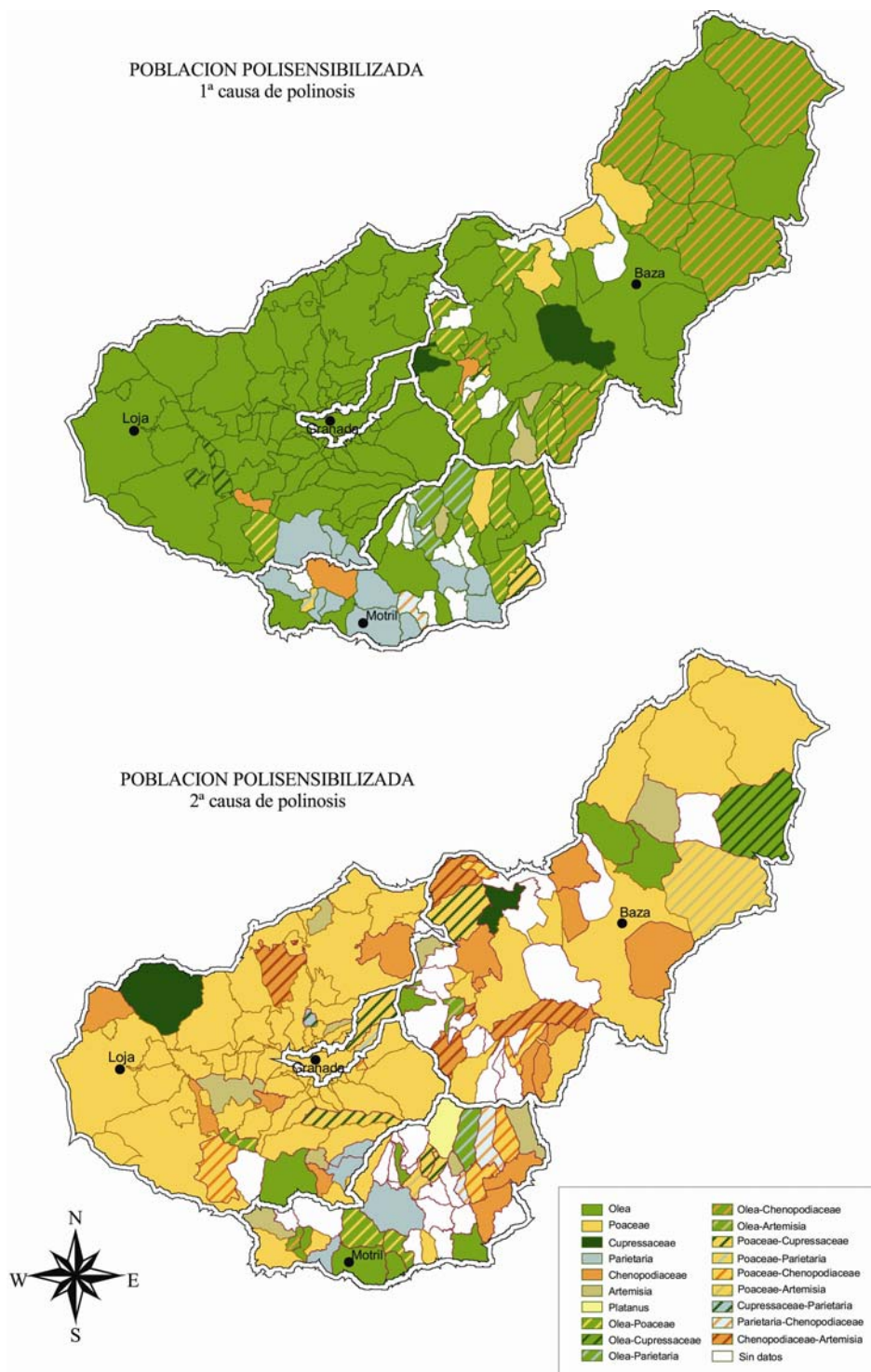


FIG. 3.7. Mapa de la provincia de Granada; 1ª y 2ª causa de polinosis en la población.

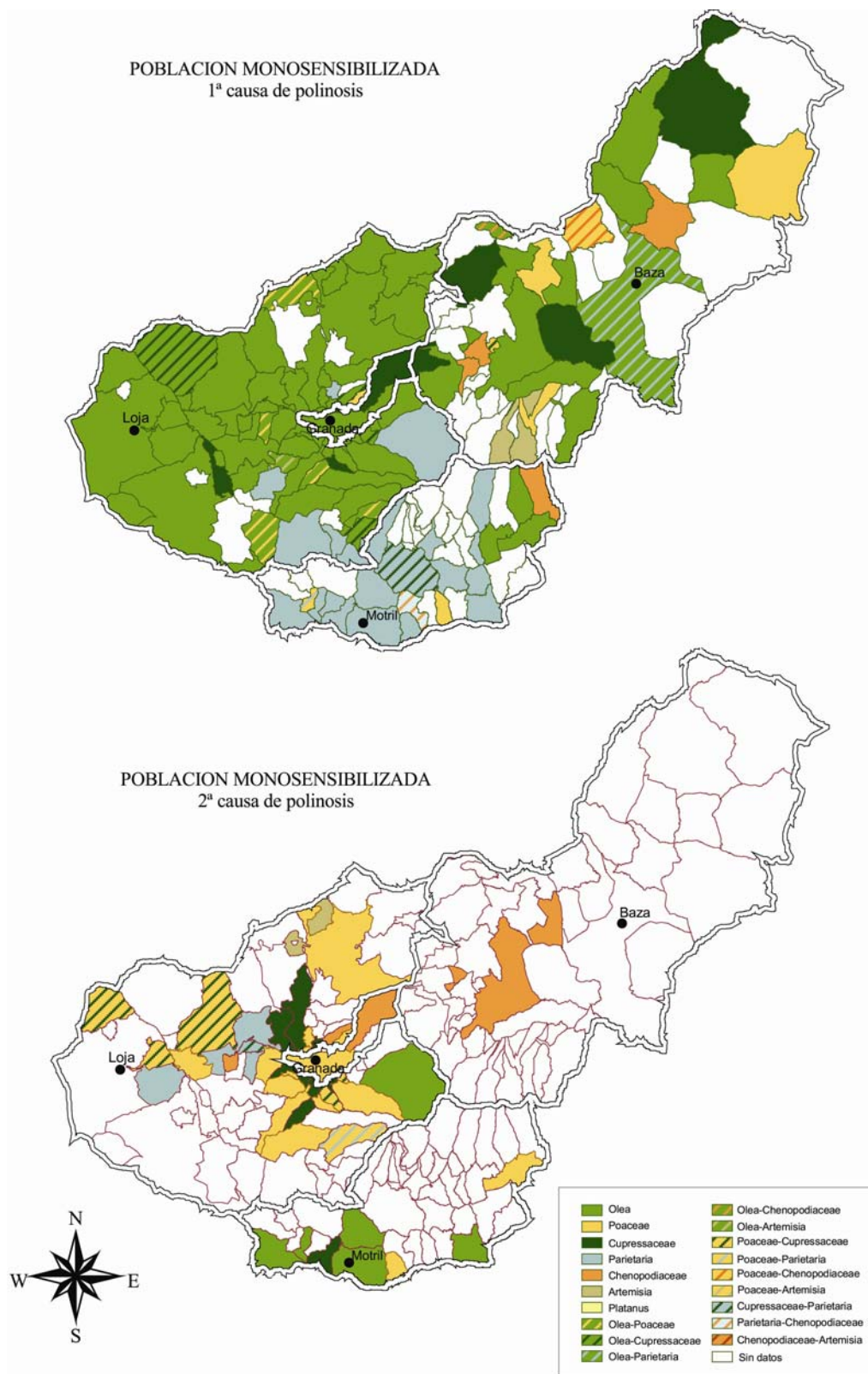


FIG. 3.8. Mapa de la provincia de Granada; 1ª y 2ª causa de polinosis en la población monosensibilizada.

### 3.4.2. INCIDENCIA EN LA POBLACIÓN ADULTA

Como queda reflejado en la TABLA 3.7, la máxima frecuencia de positividad en test cutáneos para la población adulta polisensibilizada se ha obtenido para el extracto de polen de *Olea* (74,1%), seguido de *Poaceae* (55,3%), *Chenopodiaceae/Amaranthaceae* (36,6%), *Cupressaceae* (34,0%), *Artemisia* (23,8%), *Plantago* (18,5%), *Parietaria* (17,4%), *Platanus* (17,4%) y *Populus* (8,8%). Por su parte, el estudio de pacientes sensibilizados a un sólo tipo polínico muestra que de nuevo el polen de *Olea* es la principal causa de alergia con un 42,2%; a éste le sigue el polen de *Cupressaceae* (17,9%), *Poaceae* (15,7%), *Parietaria* (11,8%) y *Artemisia* (5,1%); los demás tipos polínicos han presentado un porcentaje menor del 1% (*Platanus*, 0,8%, *Plantago* 0,7%) o incluso *Populus* no ha provocado ninguna monosensibilización.

ESPECIE ALERGÓGENA	Población Polisensibilizada (%)	Población Monosensibilizada (%)
<i>Olea</i>	74,1	42,2
<i>Poaceae</i>	55,3	15,7
<i>Chenop./Amaran.</i>	36,6	4,9
<i>Cupressaceae</i>	34,0	17,9
<i>Artemisia</i>	23,8	5,1
<i>Plantago</i>	18,5	0,7
<i>Parietaria</i>	17,4	11,8
<i>Platanus</i>	17,4	0,8
<i>Populus</i>	8,8	--

TABLA 3.7. Datos porcentuales (%) de polisensibilización y monosensibilización en la población adulta.

El total de la población mayor de 15 años analizada en este estudio es de 4.050 individuos (TABLA 3.8), de ellos, el 83,6% son pacientes polisensibilizados (incluyéndose a pacientes con sensibilización mixta a pólenes) y el 16,4% son monosensibilizados. Las mujeres son el género más abundante superando en ambos casos el 55%. El intervalo comprendido entre los 16-25 años y 26-35 años son los que con mayor frecuencia sufren esta dolencia afectando al 43,7% y 31,9% en la población polisensibilizada y el 25,8% y 31,8% en la monosensibilizada. La sintomatología que presenta son mayoritariamente

		Polisensibilizados		Monosensibilizados	
		Nº	%	Nº	%
Totales		3.384	83,6	666	16,4
Sexo	♂	1.512	44,7	248	37,2
	♀	1.872	55,3	418	62,8
Intervalo de edad	16-25	1.480	43,7	172	25,8
	26-35	1.078	31,9	212	31,8
	36-45	589	17,4	184	27,6
	46-55	168	5,0	56	8,4
	> 55	69	2,0	42	6,3
Síntomas	RC asmáticas o asma	2.063	61,0	326	48,9
	Rinitis y/o Conjuntivitis	1.286	38,0	322	48,3
	Urticaria	32	0,9	18	2,7
	Otros	3	0,0	--	--

TABLA 3.8. Datos absolutos y porcentuales (%) de la población adulta polisensible y monosensible en función del sexo, intervalo de edad y sintomatología.

rinoconjuntivitis asmática o asma, seguidas de rinitis y/o conjuntivitis y urticarias.

La distribución de la polinosis en la población adulta de la provincia (FIG. 3.9) señala como la primera causa de alergia a *Olea*, excepto en el Distrito Sur donde son las Parietarias las que mayores alergopatías originan. Sin embargo, es de destacar la presencia de fuertes sensibilizaciones a los Cipreses en el Distrito Granada y a los Quenopodios en el Distrito Nordeste. La segunda causa de polinosis en la población adulta de la provincia de Granada está representada por la familia de las Gramíneas aunque la variedad de tipos de alergias es muy elevado principalmente en el Distrito Sur y Nordeste.

La población adulta monosensibilizada (FIG. 3.10) muestra prácticamente los mismos resultados que en la población polisensibilizada, siendo incluso más evidentes la alergia a *Parietaria* en el Distrito Sur. Hay que destacar la aparición de ciertos municipios con alergias a *Chenopodiaceae/Amaranthaceae* y *Cupressaceae* en el Distrito Nordeste y en el Distrito Granada donde la primera causa de polinosis la comparten el Olivo y los Cipreses.

La segunda causa de polinosis en pacientes alérgicos monosensibilizados posee una menor representatividad en los datos, careciendo de referencias en más de la mitad de la provincia y los que presentan una segunda causa de alergia no lo hacen de forma uniforme, sino que se reparten esta afección a los Cipreses, Gramíneas, Olivo, Parietarias o Quenopodios. Destacan los datos del Distrito Sur donde aparece la alergia a *Olea* cómo segunda causa de polinosis y los del Distrito Metropolitano donde *Cupressaceae* origina importantes afecciones, especialmente en los municipios más próximos a la capital.

### 3.4.3. INCIDENCIA EN LA POBLACIÓN INFANTIL

La alergia infantil está siendo una de las afecciones que más está aumentando en los últimos diez años; en la TABLA 3.9 se muestra que *Olea* es la primera causa de alergia entre la población infantil alcanzando el 84,7% del total de pacientes, seguido de Gramíneas con un 55,1%, *Artemisia* (23,7%), *Chenopodiaceae/Amaranthaceae* (11,3%), *Parietaria* (10,8%), *Populus* (10,7%), *Platanus* (10,4%), *Cupressaceae* (8,3%) y *Plantago* (1,4%). El manejo de una batería estándar para la determinación de las alergias se realiza según el especialista. Por esta razón, a la hora de estudiar los grados de alergopatías que los distintos alergenos causan, hay que tener en cuenta este parámetro para que los datos estén lo menos falseados posible; por ello especies como *Artemisia*, *Populus* y *Plantago* han sido tomados únicamente con los datos ofrecidos por la Unidad de Alergia e Inmunología Pediátrica del Hospital Materno-Infantil donde fueron testados de manera continuada durante los años de estudio.

Los porcentajes de alergias entre la población menor de 16 años monosensibilizada de la provincia de Granada muestra cómo de nuevo *Olea* es la principal causa de polinosis llegando a alcanzar casi el 74,5% del total de pacientes seguido por las Gramíneas (13,0%). Estos dos aeroalergenos superan el 80% de sensibilizaciones infantiles quedando por debajo del 7% especies como *Artemisia*, *Parietaria*, *Cupressaceae*, *Chenopodiaceae/Amaranthaceae* o *Platanus*, no existiendo sensibilizaciones a polen de *Plantago* ni *Populus*.

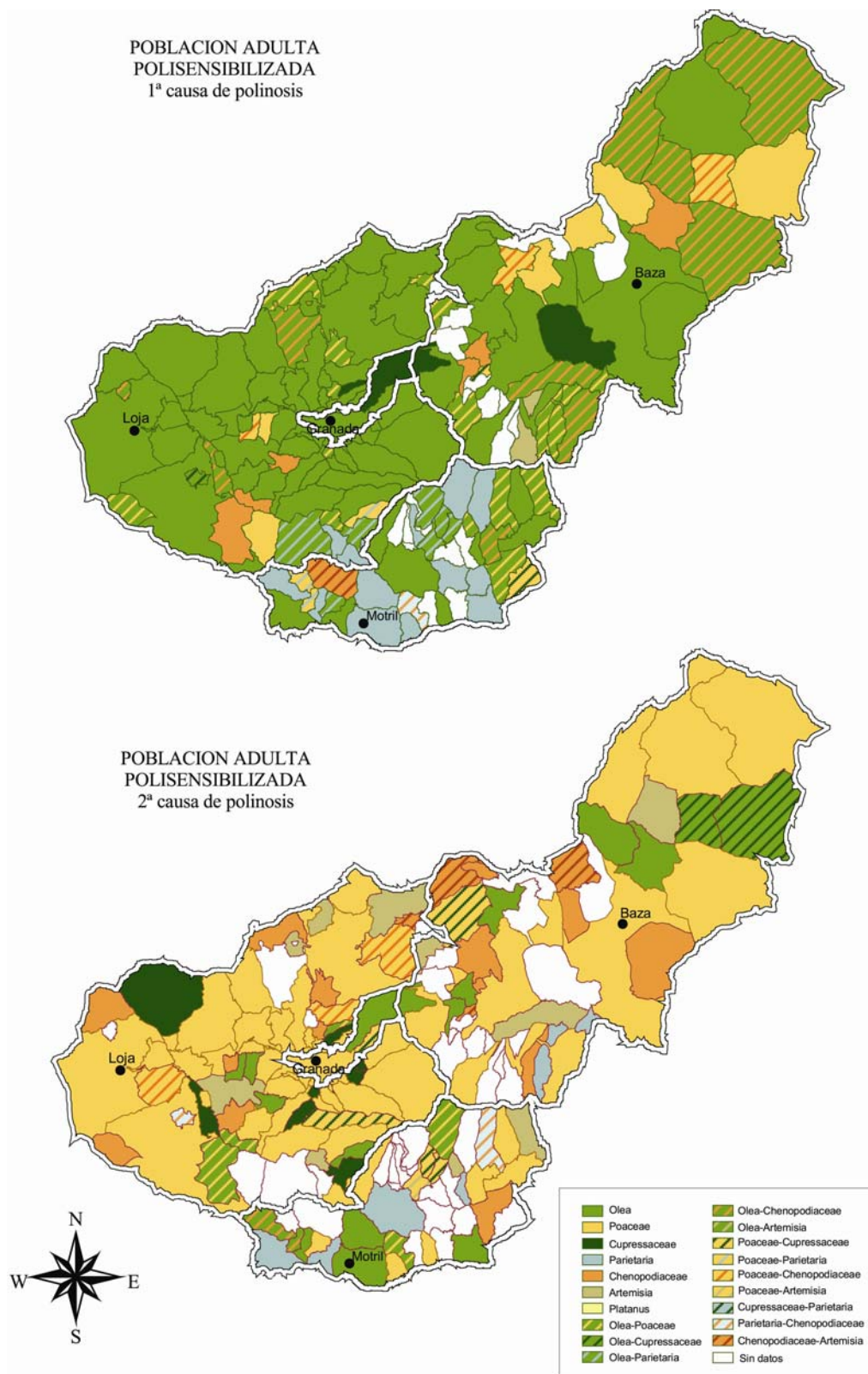


Fig. 3.9. Mapa de la provincia de Granada; 1ª y 2ª causa de polinosis en la población adulta polisensibilizada.

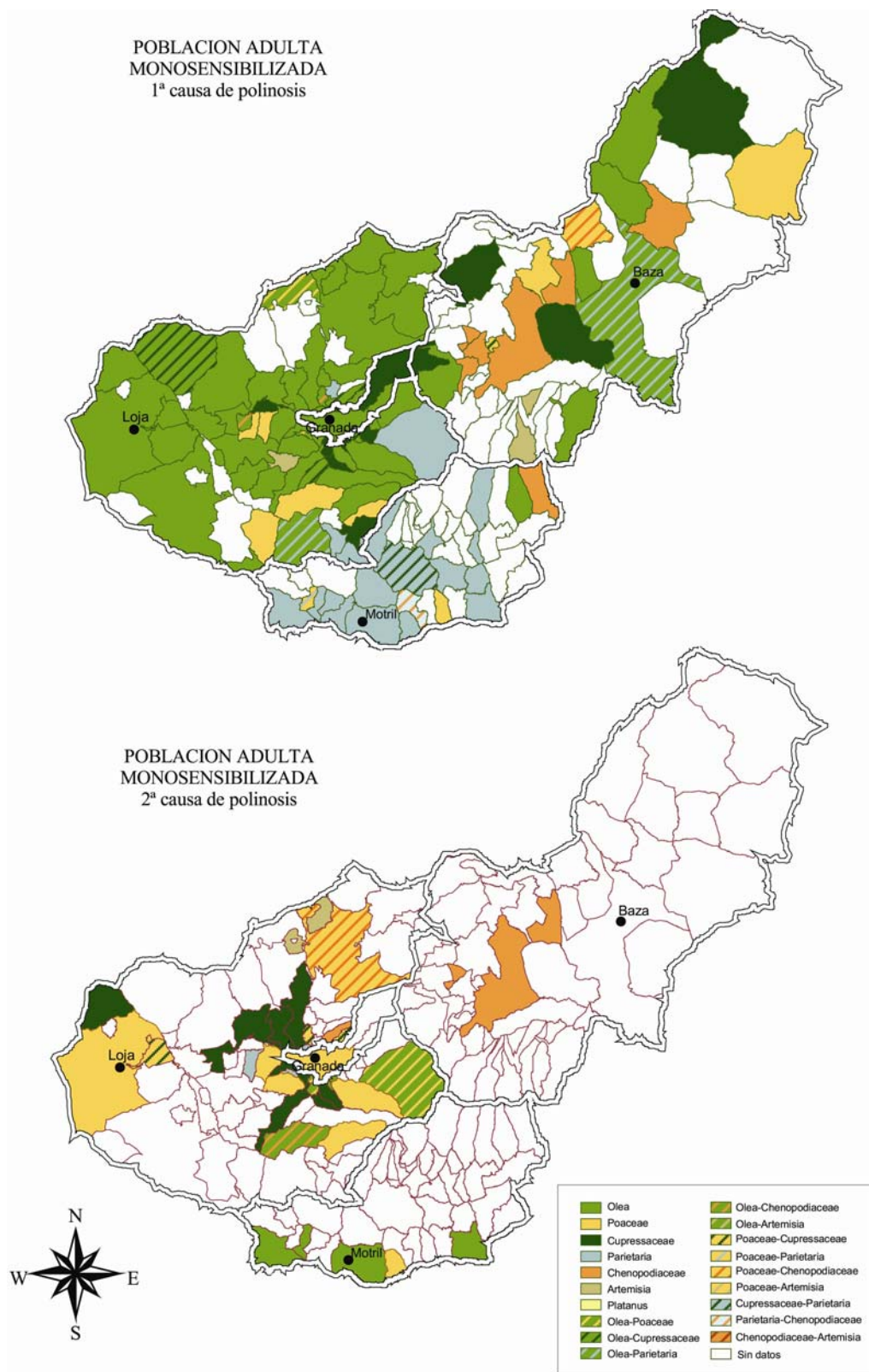


FIG. 3.10. Mapa de la provincia de Granada; 1ª y 2ª causa de polinosis en la población adulta monosensibilizada.

ESPECIE ALERGÓGENA	Población	Población
	Polisensibilizada (%)	Monosensibilizada (%)
<i>Olea</i>	84,7	74,5
<i>Poaceae</i>	55,1	13,0
<i>Artemisia</i>	23,7	6,8
<i>Chenop./Amaran.</i>	11,3	0,8
<i>Parietaria</i>	10,8	4,8
<i>Populus</i>	10,7	--
<i>Platanus</i>	10,4	0,4
<i>Cupressaceae</i>	8,3	1,5
<i>Plantago</i>	1,4	--

TABLA 3.9. Datos porcentuales (%) de polisensibilización y monosensibilización en la población infantil.

Tal y como aparece en la TABLA 3.10, se han obtenido 1.903 historiales con polinosis a alguna especie vegetal. En ellos, el 24,8% del total de la población es sensible a un solo taxon frente al 75,2% que lo son a más de una especie vegetal. Los varones son los que mayor porcentaje de incidencia padecen llegando a alcanzar valores que oscilan entre los 61,4% de pacientes polisensibilizados y los 58,7% de monosensibilizados. La segmentación realizada en la variable edad muestra cómo los niños menores de cinco años tienen un menor porcentaje de alergia en la población infantil polisensibilizada; sin embargo, esto cambia en pacientes monosensibles donde a estas edades padecen más alergopatías puesto que es cuando debutan haciéndolo a un solo taxon.

La sintomatología más frecuente son las rinoconjuntivitis asmáticas o asma superando en 74% del total de pacientes, seguidas de las rinitis y/o conjuntivitis y urticarias. Es de destacar, que en pacientes de corta edad son muy usuales sintomatologías aún no definidas totalmente denominadas por ello como “Otros” alcanzando el 4% en algunos casos. Entre ellas destacan las rinoconjuntivitis asociadas a tos extrínseca, dermatitis atópicas o hiperreactividad bronquial.



		Polisensibilizados		Monosensibilizados	
		Nº	%	Nº	%
Totales		1.431	75,2	472	24,8
Sexo	♂	878	61,4	277	58,7
	♀	553	38,6	195	41,3
Intervalo de edad	< 5	256	17,9	144	30,5
	6-10	595	41,4	189	40,0
	11-15	583	40,7	139	29,4
Síntomas	RC asmáticas o asma	1.068	74,6	353	74,8
	Rinitis y/o Conjuntivitis	272	19,0	82	17,4
	Urticaria	36	2,5	18	3,8
	Otros	55	3,8	19	4,0

TABLA 3.10. Datos absolutos y porcentuales (%) de la población adulta polisensible y monosensible en función del sexo, intervalo de edad y sintomatología.

Los mapas de información geográfica de la provincia (FIG. 3.11) para la población menor de 16 años muestran como en pacientes polisensibilizados la primera causa de polinosis en prácticamente toda la provincia está provocada por *Olea*. Sin embargo, aparecen algunos municipios donde las Gramíneas comparten esta principal alergopatía en el Distrito Metropolitano junto con *Parietaria* en el Distrito Sur.

De la misma manera, la segunda causa de alergia en la provincia de Granada son las Gramíneas excepto en el Distrito Sur donde *Parietaria* y *Olea* originan un elevado número de alergopatías.

El estudio de la población infantil monosensibilizada (FIG. 3.12) experimenta las mismas polinosis que en pacientes alérgicos a más de un tipo de alergen, con ligeros cambios en el Distrito Nordeste donde son las Gramíneas la primera causa de alergia en el municipio de Baza. Sin embargo, este mismo estudio para la segunda causa de polinosis apenas posee datos por lo que son muy pocos los municipios donde se puede observar estas sensibilizaciones. Destaca la alergia al polen de *Poaceae* en los Distritos Granada y Metropolitano y de *Parietaria* y *Olivo* en el Sur.

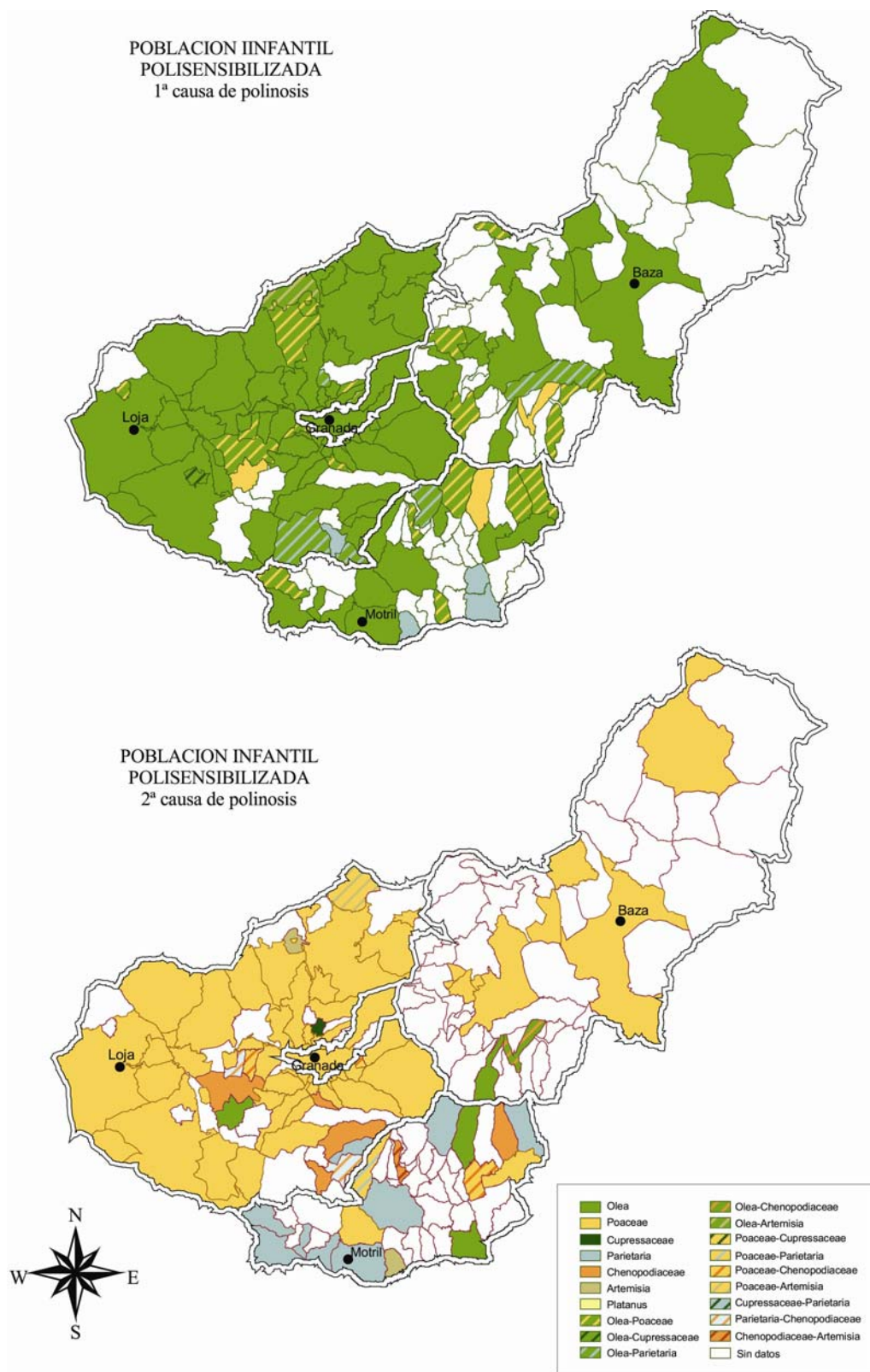


FIG. 3.11. Mapa de la provincia de Granada; 1ª y 2ª causa de polinosis en la población infantil polisensibilizada.

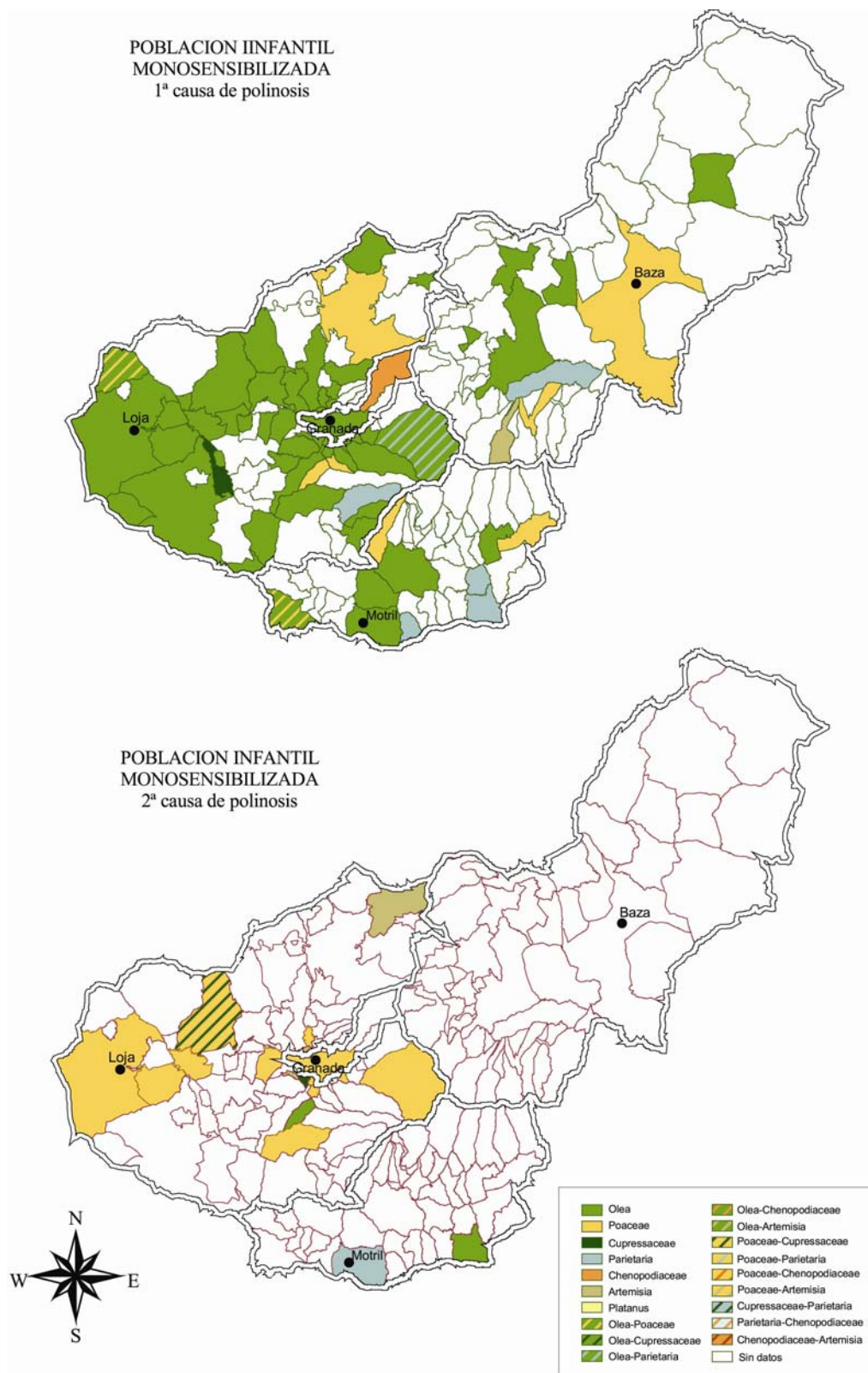


FIG. 3.12. Mapa de la provincia de Granada; 1ª y 2ª causa de polinosis en la población infantil monosensibilizada.

### 3.4.4. SENSIBILIZACIÓN A LOS DIFERENTES TIPOS POLÍNICOS

#### *Olea*

En Granada, el porcentaje de alergia a este tipo polínico supera el 77% en general (TABLA 3.5) y el 49% en personas monosensibilizadas (TABLA 3.6), siendo por ello la primera causa de alergia en Granada; además de ser la tercera provincia española con mayor índice de polinosis al polen de Olivo.

Entre las personas alérgicas a este tipo polínico (TABLA 3.11) no existe diferencias en el género afectando por igual a hombres que a mujeres; el intervalo de edad de entre 16-25 años son los que sufren mayor número de alergia (31%) aunque los pacientes monosensibilizados los mayores porcentajes se encuentran en niños de entre 6 y 10 años (22,9%). Las afecciones como el asma o la rinoconjuntivitis asmática son las sintomatologías más frecuentes oscilando entre los 67,4% al 72,4%, seguido de rinitis y/o conjuntivitis, urticaria y otros.

		Polisensibilizados		Monosensibilizados	
		Nº	%	Nº	%
Totales		4.018	87,3	584	12,7
Sexo	♂	1.910	50,0	288	49,3
	♀	1.912	50,0	296	50,7
Intervalo de edad	< 5	212	5,5	99	17,0
	6-10	512	13,4	134	22,9
	11-15	489	12,8	89	15,2
	16-25	1.185	31,0	76	13,0
	26-35	845	22,1	94	16,1
	36-45	432	11,3	67	11,5
	46-55	103	2,7	16	2,7
	> 55	44	1,2	9	1,5
Síntomas	RC asmáticas o asmas	2.577	67,4	423	72,4
	Rinitis y/o Conjuntivitis	1.152	30,1	129	22,1
	Urticaria	42	1,1	13	2,2
	Otros	51	1,3	19	3,3

TABLA 3.11. Número de pacientes y porcentaje de la población alérgica a *Olea*.

**Poaceae**

Siendo la segunda causa de polinosis en la provincia, la incidencia supera el 54% (TABLA 3.5) aunque en pacientes monosensibilizados este porcentaje desciende a tan solo el 15,1% (TABLA 3.6).

Tal y como se muestra en la TABLA 3.12, son los hombres lo que manifiestan mayor porcentaje de alergia a este polen (52,8%) aunque esta variable cambia cuando se trata de individuos monosensibles puesto que es ahí cuando las mujeres presentan una mayor incidencia (45,3% de hombres monosensibilizados frente al 54,7% de mujeres). En todos los casos más del 50% de individuos afectados por esta alergopatía se encuentran en el intervalo de edad de 16 a 35 años. La sintomatología pese a ser las rinoconjuntivitis asmáticas la afección más frecuentes en la población, es de destacar que en pacientes monosensibles esta dolencia desciende (50%) aumentando considerablemente las rinitis y conjuntivitis (44,6%).

		Polisensibilizados		Monosensibilizados	
		Nº	%	Nº	%
Totales		3.109	95,5	148	4,5
Sexo	♂	1.606	52,8	67	45,3
	♀	1.435	47,2	81	54,7
Intervalo de edad	< 5	132	4,3	8	5,4
	6-10	396	13,0	22	14,9
	11-15	423	13,9	20	13,5
	16-25	964	31,7	37	25,0
	26-35	681	22,4	34	23,0
	36-45	326	10,7	19	12,8
	46-55	90	3,0	5	3,4
	> 55	29	1,0	3	2,0
Síntomas	RC asmáticas o asma	2.047	67,3	74	50,0
	Rinitis y/o Conjuntivitis	910	29,9	66	44,6
	Urticaria	35	1,2	8	5,4
	Otros	49	1,6	--	--

TABLA 3.12. Número de pacientes y porcentaje de la población alérgica a *Poaceae*.

***Cupressaceae***

En Granada la prevalencia al polen de *Cupressaceae* supera al 29% del total de pacientes atópicos (TABLA 3.5) siendo el 13,5% de ellos monosensibles a este taxon (TABLA 3.6). Es la tercera causa de polinosis en la provincia TABLA 3.6 y TABLA 3.7.

Tal y como muestra la TABLA 3.13 para los pacientes alérgicos a este tipo polínico se observa como son las mujeres las mayormente afectadas, oscilando su porcentaje entre el 52,4% y 63,3%. La característica más significativa de esta polinosis es que su afección se localiza en personas de entre 16 y 55 años con una incidencia del 88% del total de la población polisensibilizada y del 93% en personas monosensibles a este taxon. Por último, cabe destacar que la sintomatología más común en pacientes polisensibilizados siguen siendo las rinoconjuntivitis asmáticas o asma; sin embargo, en aquellos individuos cuya alergia se atribuye únicamente a los cipreses el 72,7% de ellos padecen rinitis y/o conjuntivitis.

		Polisensibilizados		Monosensibilizados	
		Nº	%	Nº	%
Totales		1.400	91,6	128	8,4
Sexo	♂	648	47,6	47	36,7
	♀	713	52,4	81	63,3
Intervalo de edad	< 5	17	1,2	--	--
	6-10	38	2,8	3	2,3
	11-15	87	6,4	3	2,3
	16-25	527	38,7	16	12,5
	26-35	383	28,1	34	26,6
	36-45	224	16,5	49	38,3
	46-55	64	4,7	16	12,5
	> 55	21	1,5	7	5,5
Síntomas	RC asmáticas o asma	853	62,7	32	25,0
	Rinitis y/o Conjuntivitis	492	36,1	93	72,7
	Urticaria	9	0,7	3	2,3
	Otros	7	0,5	--	--

TABLA 3.13. Número de pacientes y porcentaje de la población alérgica a *Cupressaceae*.

## *Parietaria*

En la provincia de Granada esta alergopatía afecta al 15,9% del total de la población atópica (TABLA 3.5) siendo el 9,7% de ella monosensible (TABLA 3.6). Es de destacar que las mayores afecciones se localizan en el Distrito Sur, siendo el primer causante de polinosis, mientras que en el resto de la provincia, es la cuarta causa en monosenbilizados. Por ello, podríamos decir este taxon posee un mayor índice de alergenidad de lo que se representa en la TABLA 3.5.

Tal y como se observa en la TABLA 3.14, en pacientes polisensibilizados no existe diferencias con respecto al género, estando los porcentajes igualados entre hombres y mujeres; sin embargo, en pacientes monosensibles, son ellas las que padecen más con un 61% del total. El intervalo de edad con mayor número de pacientes se encuentra entre los 11 y 45 años, teniendo todos ellos síntomas asmáticos con más frecuencia (59% al 66,7%).

		Polisensibilizados		Monosensibilizados	
		Nº	%	Nº	%
Totales		848	89,5	100	10,5
Sexo	♂	421	51,8	39	39,0
	♀	391	48,2	61	61,0
Intervalo de edad	< 5	53	6,5	5	5,0
	6-10	76	9,4	4	4,0
	11-15	89	11,0	11	11,0
	16-25	230	28,3	19	19,0
	26-35	197	24,3	19	19,0
	36-45	116	14,3	24	24,0
	46-55	35	4,3	9	9,0
	> 55	16	2,0	9	9,0
Síntomas	RC asmáticas o asma	542	66,7	59	59,0
	Rinitis y/o Conjuntivitis	259	31,9	40	40,0
	Urticaria	6	0,7	1	1,0
	Otros	5	0,6	--	--

TABLA 3.14. Número de pacientes y porcentaje de la población alérgica a *Parietaria*.

***Chenopodiaceae/Amaranthaceae***

En la provincia de Granada la prevalencia a este polen es superior al 31,5% del total de pacientes atópicos estudiados (TABLA 3.5) estando únicamente representados el 3,6% de la población monosensibilizada (TABLA 3.6).

Realizando un estudio de la polinosis a este taxon (TABLA 3.15) se observa como son las mujeres las que padecen mayores alergopatías entre la población polisensibilizada y monosensibilizada (53% y 60%, respectivamente); a pesar de ello, existen diferencias, siendo en los primeros casos los jóvenes adultos de entre 16 y 25 años los más afectados (41,3%) con rinoconjuntivitis asmáticas (63%). En cambio, personas monosensibilizadas entre los 26 y 35 años (33,3%), presentan rinitis y/o conjuntivitis en más del 56% del total analizado, siendo tan solo tres los menores de 15 años que sufren esta alergia de manera exclusiva.

		Polisensibilizados		Monosensibilizados	
		Nº	%	Nº	%
Totales		1.617	98,2	30	1,8
Sexo	♂	750	46,9	12	40,0
	♀	848	53,1	18	60,0
Intervalo de edad	< 5	9	0,6	2	6,7
	6-10	43	2,7	1	3,3
	11-15	111	6,9	--	--
	16-25	660	41,3	2	6,7
	26-35	442	27,7	10	33,3
	36-45	231	14,5	8	26,7
	46-55	70	4,4	3	10,0
	> 55	32	2,0	4	13,3
Síntomas	RC asmáticas o asma	1.006	63,0	12	40,0
	Rinitis y/o Conjuntivitis	574	35,9	17	56,7
	Urticaria	16	1,0	1	3,3
	Otros	2	0,1	--	--

TABLA 3.15. Número de pacientes y porcentaje de la población alérgica a *Chenopodiaceae/Amaranthaceae*.



**Artemisia**

La sensibilidad a este polen supera el 19,6% del total de pacientes analizados (TABLA 3.5), siendo tan solo el 4,6% las personas monosensibilizadas a este taxon (TABLA 3.6).

Como se observa en la TABLA 3.16, existen notables diferencias entre la población polisensibilizada y monosensibilizada a *Artemisia*; en el primer caso son los hombres los mayormente afectados (51,7%), con edades comprendidas entre los 16 y 35 años (39,5%) padeciendo en un 60,6% asma o rinoconjuntivitis asmáticas; mientras que la población monosensible a este tipo polínico está representada principalmente por mujeres (59,5%) con un intervalo de edad de 26-35 años (28,6%), las cuales sufren mayoritariamente rinitis y/o conjuntivitis (54,8%).

		Polisensibilizados		Monosensibilizados	
		Nº	%	Nº	%
Totales		1.128	96,4	42	3,6
Sexo	♂	573	51,7	17	40,5
	♀	535	48,3	25	59,5
Intervalo de edad	< 5	53	4,8	3	7,1
	6-10	68	6,1	3	7,1
	11-15	73	6,6	3	7,1
	16-25	438	39,5	5	11,9
	26-35	268	24,2	12	28,6
	36-45	142	12,8	8	19,0
	46-55	46	4,2	2	4,8
	> 55	20	1,8	6	14,3
Síntomas	RC asmáticas o asma	672	60,6	14	33,3
	Rinitis y/o Conjuntivitis	411	37,1	23	54,8
	Urticaria	22	2,0	5	11,9
	Otros	3	0,3	--	--

TABLA 3.16. Número de pacientes y porcentaje de la población alérgica a *Artemisia*.

***Platanus***

En la provincia granadina el polen de este taxon afecta al 17% de la población atópica (TABLA 3.5) de los cuales sólo el 1,0% son monosensibles (TABLA 3.6).

Entre la población de Granada alérgica al Plátano de sombra (TABLA 3.17) se observa cómo entre la población polisensibilizada, los hombres se ven ligeramente más afectados por esta alergia que las mujeres (53% frente al 47%), tienen edades comprendidas entre los 11 a 45 años y la sintomatología más frecuente que padecen son las rinoconjuntivitis asmática o asma alcanzando el 66% del total de pacientes estudiados.

Sin embargo, la población monosensible no comparten muchas de estas características puesto que el 71,4% de ellos son hombres, más del 42% son personas adultas (26-35 años), siendo las rinitis y/o conjuntivitis los síntomas más frecuentes (57,1%).

		Polisensibilizados		Monosensibilizados	
		Nº	%	Nº	%
Totales		1.009	99,3	7	0,7
Sexo	♂	533	53,0	5	71,4
	♀	473	47,0	2	28,6
Intervalo de edad	< 5	26	2,6	--	--
	6-10	61	6,1	1	14,3
	11-15	104	10,3	1	14,3
	16-25	393	39,1	1	14,3
	26-35	252	25,0	3	42,9
	36-45	127	12,6	--	--
	46-55	30	3,0	1	14,3
	> 55	13	1,3	--	--
Síntomas	RC asmáticas o asma	665	66,1	3	42,9
	Rinitis y/o Conjuntivitis	324	32,2	4	57,1
	Urticaria	8	0,8	--	--
	Otros	9	0,9	--	--

TABLA 3.17. Número de pacientes y porcentaje de la población alérgica a *Platanus*.

***Plantago***

El polen de este taxon afecta al 23,4% de la población (TABLA 3.5), existiendo únicamente el 1% de personas alérgicas solo a este tipo polínico (TABLA 3.6).

Tal y como muestra la TABLA 3.18, los hombres son los más afectados con el 52,6% y 75% del total de polisensibilizados y monosensibilizados respectivamente. Aún teniendo una muestra de monosensibles muy pequeña, éstos poseen edades comprendidas entre los 26 y 45 años, dato que difiere del resto de pacientes que tienen una edad de 16 a 25; sin embargo, en todos ellos, la sintomatología más frecuente son las afecciones de las vías respiratorias bajas (asma o rinoconjuntivitis asmáticas).

		Polisensibilizados		Monosensibilizados	
		Nº	%	Nº	%
Totales		687	99,4	4	0,6
Sexo	♂	360	52,6	3	75,0
	♀	324	47,4	1	25,0
Intervalo de edad	< 5	2	0,3	--	--
	6-10	8	1,2	--	--
	11-15	38	5,6	--	--
	16-25	308	45,0	--	--
	26-35	197	28,8	1	25,0
	36-45	90	13,2	2	50,0
	46-55	25	3,7	--	--
	> 55	16	2,3	1	25,0
Síntomas	RC asmáticas o asma	414	60,5	3	75,0
	Rinitis y/o Conjuntivitis	264	38,6	--	--
	Urticaria	5	0,7	1	25,0
	Otros	1	0,1	--	--

TABLA 3.18. Número de pacientes y porcentaje de la población alérgica a *Plantago*.

**Populus**

La incidencia al polen de *Populus* es del 7% (TABLA 3.5) no existiendo ningún caso de monosensibilización, por lo que queda en entre dicho su verdadera capacidad alérgica, obteniéndose este dato probablemente por reacciones cruzadas con otros tipos polínicos.

Como muestra la TABLA 3.19, la población afectada a este polen son principalmente hombres con un 55,4%; el intervalo de edad con mayor porcentaje se encuentra comprendido entre los 16 y 35 años siendo las rinoconjuntivitis asmáticas y asma las afecciones más frecuentes dentro de esta población.

		Polisensibilizados	
		Nº	%
Totales		251	100,0
Sexo	♂	139	55,4
	♀	112	44,6
Intervalo de edad	< 5	19	7,6
	6-10	32	12,7
	11-15	28	11,2
	16-25	82	32,7
	26-35	61	24,3
	36-45	19	7,6
	46-55	8	3,2
> 55	2	0,8	
Síntomas	RC asmáticas o asma	191	76,1
	Rinitis y/o Conjuntivitis	57	22,7
	Urticaria	3	1,2
	Otros	--	--

TABLA 3.19. Número de pacientes y porcentaje de la población alérgica a *Populus*.

### 3.4.5. INGRESOS POR POLINOSIS EN LOS SERVICIOS DE URGENCIAS

El análisis de los ingresos en los Servicios de Urgencias de pacientes aquejados de polinosis, muestra que fueron 921 las personas que acudieron a estos Servicios frente a los 35.005 ingresos totales que se registraron durante los 58 días que abarca el presente estudio. En cifras porcentuales los ingresos por polinosis representaron el 0,8% y 1,8% en la población adulta e infantil, respectivamente. Dado que el total de pacientes adultos (275) es mucho menor que el de infantil (646), los resultados generales se encontrarían sesgados en relación con esta variable; por esta razón, en este estudio se comentarán los datos de la población adulta e infantil por separado.

De este modo, los resultados clínicos obtenidos muestran que los ingresos de pacientes presentan una estacionalidad muy señalada durante la primavera de 2005, siendo los días 22, 23 y 24 de mayo cuando se produce el mayor número de consultas, con 17, 21 y 24 ingresos, en el caso de la población adulta, y 53, 64 y 57 admisiones en pediatría, respectivamente (FIG. 3.13).

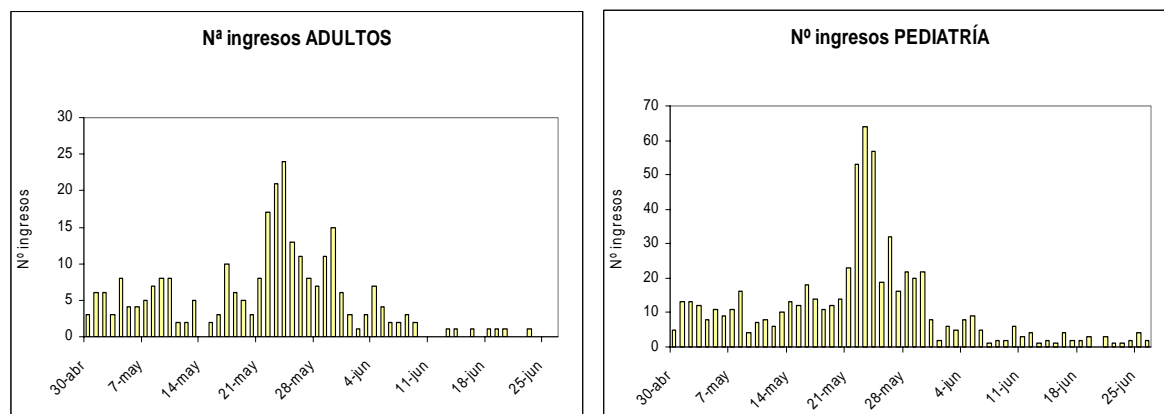


FIG. 3.13. Número de ingresos registrados en los Servicios de Urgencias de adultos y pediatría.

Al igual que ocurría con los datos de polinosis obtenidos en la población atópica, el estudio pormenorizado de los pacientes ingresados en los Servicios de Urgencias (TABLA 3.20) muestra que entre la población adulta son las mujeres (56,7%) las que sufren un mayor grado de sensibilización frente al 43,2% de hombres; por el contrario, en la población infantil esta relación se invierte, siendo los niños los que acuden con más frecuencia a los Servicios de Urgencias (65%). El segmento de la población comprendido

		Población Adulta		Población Infantil	
		Nº	%	Nº	%
Totales		275	29,9	646	70,1
Sexo	♂	119	43,2	420	65,0
	♀	156	56,7	226	35,0
Intervalo de edad	< 5	--	--	279	43,2
	6-10	--	--	246	38,1
	11-15	--	--	118	18,4
	16-25	110	39,6	--	--
	26-35	95	34,2	--	--
	36-45	36	12,9	--	--
	46-55	19	6,8	--	--
	>56	18	6,5	--	--
Procedencia	Capital	137	49,8	272	42,1
	Área metropolitana	116	42,2	331	51,2
	Provincia	3	1,1	36	5,6
	No Residentes	19	6,9	7	1,1
Síntomas	RC asmáticas o ama	226	82,2	530	82,0
	Vías Altas	48	17,4	113	17,5
	Urticaria	1	0,4	3	0,5
Intervalo horario	0:00-6:00	70	25,4	97	15,0
	6:01-12:00	58	21,1	92	14,2
	12:01-18:00	62	22,5	172	26,6
	18:01-0:00	85	31,0	285	44,2

TABLA 3.20. Número de pacientes y porcentaje de la población adulta e infantil ingresada en los Servicios de Urgencias. RC: Rinoconjuntivitis.

entre los 16-25 y 26-35 años de edad son los que realizan mayor número de consultas en este Servicio, con un 39,6% y 34,2%, respectivamente. Por otro lado, el análisis de los ingresos en pediatría revela que los pacientes menores de cinco años son los que acuden con mayor frecuencia (43,2%) a este Servicio. Los resultados obtenidos revelan que las personas residentes en la capital y área metropolitana son los que acuden con más asiduidad.

La rinoconjuntivitis asmáticas y asma son los síntomas que provocan un mayor número de ingresos en ambas poblaciones (adulto e infantil) seguido de rinitis y/o conjuntivitis y por último urticarias.

La hora de ingresos en Urgencias de estos pacientes es fundamentalmente de 18 a 0 horas, adultos (31,0%) e infantiles (44,2%); sin embargo hemos de destacar que prácticamente durante las 24 horas se están produciendo ingresos, sobre todo de adultos.

### **3.5. DISCUSIÓN**





### 3.5.1. LA POLINOSIS EN LA PROVINCIA DE GRANADA

Las alergias están siendo hoy en día uno de los principales problemas de salud en las sociedades modernas. La prevalencia a las enfermedades atópicas se ha incrementado en pocas décadas y sin embargo el motivo de este aumento está pobremente demostrado; algunas de las justificaciones expuestas son la mejora en el reconocimiento por parte del especialista de los alérgenos causantes de alergia y la susceptibilidad genética, puesto que se ha demostrado la existencia de genes relacionados con las enfermedades atópicas en determinados cromosomas (Cookson, 1998); a pesar de ello, ambos factores no explican por completo el incremento que estas alergopatías ha experimentado en pocos años. Otros motivos que podrían contribuir son las variables ambientales que pueden provocar el acrecentamiento de las sensibilizaciones y consecuentemente el desarrollo de una polinosis; la denominada “hipótesis de la higiene” indica que el cambio de las formas de vida ha podido provocar un descenso en la estimulación del sistema inmune alterándose ahora con más facilidad con partículas primitivamente no tóxicas como los alérgenos. En ella se argumenta que la baja prevalencia de infecciones parasitarias en las sociedades occidentales ha provocado un aumento en la respuesta tipo Th2 en los pacientes atópicos por lo que la producción de IgE es mucho mayor (Steerenberg *et al.*, 1999; Ring, 2001; Mösges, 2002; D’Amato & Laccardi, 2002); otros autores señalan que los mecanismos reguladores del sistema inmune como la apoptosis, la anergia, ignorancia al antígeno o la acción de células T reguladoras (Treg) se encuentran desequilibradas en pacientes atópicos, permitiendo con ello la diferenciación y proliferación de células T colaboradoras de tipo 2, específicas contra alérgenos (Umetsu *et al.*, 2002; Sakaguchi, 2004; Akdis *et al.*, 2005). Además a esto habría que añadir el incremento de las partículas contaminantes en el aire que inducirían o facilitarían estas patologías alérgicas (Jalaludin *et al.*, 2004; Santra *et al.*, 1991).

Las sensibilizaciones encontradas en esta Tesis Doctoral y que afectan a la población alérgica de la provincia de Granada no difieren de los aportados en la bibliografía tanto española como del área Mediterránea. Es indiscutiblemente *Olea* la especie vegetal que más alergopatías causa con un 77,2%, 74,1% y 84,7% del total de pacientes sensibilizados, población adulta y población infantil respectivamente, siendo por ello la tercera provincia española que más alergia origina, seguido de Gramíneas con un 54,6%, 55,3% y 55,1%.

Sin embargo, a partir de aquí, las sensibilizaciones cambian en función de la edad del paciente siendo los Quenopodios, Artemisias y Cipreses los responsables de la tercera y cuarta causa de polinosis (TABLA 3.5, 3.7 y 3.9).

El carácter alergógeno del polen de *Chenopodiaceae/Amaranthaceae* fue puesto en duda por numerosos autores debido a las bajas concentraciones que alcanzan en la atmósfera en algunas localidades donde, a pesar de ello, la incidencia de alergia a este tipo polínico es elevada (Pola *et al.*, 1998). De la misma manera, el polen de *Artemisia*, a pesar de considerarse como la principal causa de polinosis a finales de verano y principios de otoño (Jimeno *et al.*, 2004), registra escasas concentraciones en el aire. Por ello, se podría señalar que la incidencia de ambos tipos polínicos se debe en gran medida a la existencia de reacciones cruzadas. Éstas se pueden producir bajo dos premisas (Weber, 2003): la primera radica en que aquellas especies relacionadas taxonómicamente comparten muchas de las proteínas y, por tanto, muchos de los alérgenos; y la segunda es que a pesar de existir reacciones cruzadas entre plantas no relacionadas aparentemente, puede que sí lo sean por sus antecesores y por tanto que aún compartan alguna secuencia aminoacídica ancestral idéntica, como son las profilinas, proteínas de transferencia lipídica, etc. Este hecho también puede comprobarse a la hora de estudiar la población monosensibilizada donde *Artemisia* provoca tan solo el 4,6% de incidencia y *Chenopodiaceae/Amaranthaceae* el 3,6%. Sin embargo, el comportamiento de *Cupressaceae* parece ser diferente puesto que es la tercera causa de polinosis en la población total monosensibilizada y la segunda entre la población adulta (13,5% y 17,9%) por lo que el carácter alergógeno de este taxon sí podría ser relevante.

En un estudio más pormenorizado se ha realizado un análisis de la polinosis en pacientes monosensibles puesto que son éstos lo que podrían determinar el verdadero potencial alergénico de las especies vegetales consideradas como causantes de alergia. De esta manera, se pone de manifiesto que este tipo de población sufre en su mayoría alergia al polen del Olivo (50,8%), seguido de Gramíneas (15,1%), Cipreses (13,5%), Parietarias (9,7%), Artemisias, Quenopodios, Plantagos y Plátanos de sombra (TABLA 3.6).

Con los resultados aerobiológicos y alergológicos obtenidos en esta Tesis (FIG. 3.14) se ha demostrado cómo *Olea* y su alérgeno mayoritario, Ole e 1, registra notables concentraciones en la atmósfera por lo que se desprende que al existir mayor contacto con

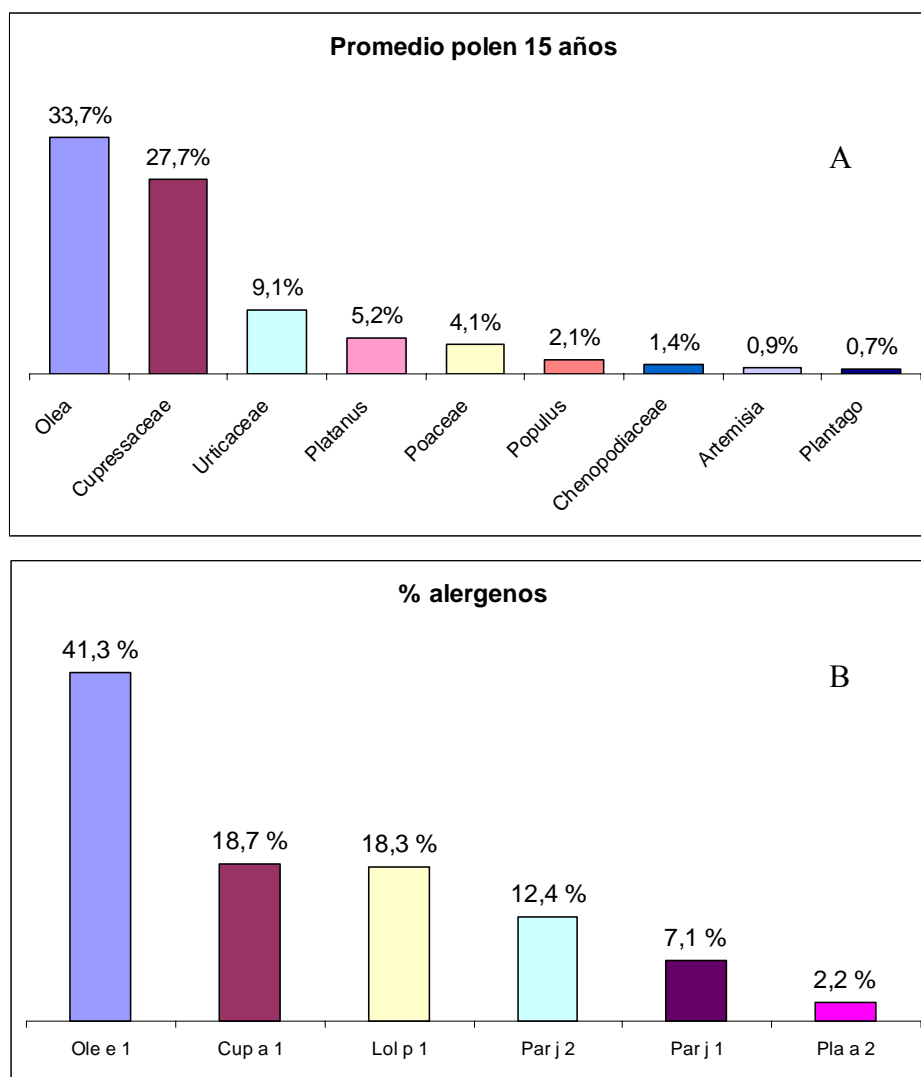


FIG. 3.14. A) Datos porcentuales (%) de las concentraciones polínicas durante 15 años de muestreo; B) Datos porcentuales (%) de la actividad alérgica presentes en la atmósfera de Granada registrada durante el año 2006.

estas partículas, la incidencia es muy elevada. Sin embargo, el polen de Gramíneas registrado apenas supera el 4% del total en los 15 años de estudio, dato aparentemente contradictorio puesto que es la segunda causa de polinosis en la población granadina. El análisis de la actividad alérgica, por su parte, indica todo lo contrario, siendo Lol p 1 el tercer alérgeno más abundante en el aire aunque las diferencias con el segundo (Cup a 1) es de tan solo de un 0,4%. Tal y como se ha discutido en el Capítulo Segundo, la superficie granulada del polen de *Poaceae* contiene pequeñas estructuras esféricas de 0,02  $\mu\text{m}$  de diámetro formado por esporopoleína con los mismos biopolímeros del polen, y por tanto

con carácter alergógeno, que pueden ser liberados y suspendidos en la atmósfera (Knox, 1993), además se ha demostrado que en los prados y césped, al ser cortados de forma periódica, también liberan alergenios de tamaño submicrónico (Emberlin, 1995). Con todos los resultados obtenidos se podría indicar que el carácter alergógeno de las Gramíneas es muy elevado a pesar de que en los recuentos aerobiológicos los niveles de este tipo polínico sean bajos, debido muy probablemente a esa fuerte emisión de partículas submicrónicas con carácter alergénico, pudiendo ser estos últimos los causantes de los porcentajes tan elevados de polinosis para esta especie vegetal. Resultados similares se han obtenido con las demás tipos polínicos donde los porcentajes de monosensibilizaciones se asemejan más a los resultados obtenidos en el estudio alergénico que en el aerobiológico, siendo la tercera causa de alergia los Cipreses, seguidos de Parietarias y como octava causa los Plátanos de sombra.

El estudio de la población en función de la edad revela como la alergia a Cupresáceas muestra serias diferencias. Tal y como se ha demostrado en otras publicaciones (López Silva *et al.*, 2005; Díaz de la Guardia *et al.*, 2006) la sensibilización al polen de ciprés está estrechamente vinculada a la edad, siendo las personas mayores de 15 años las que padecen más alergopatías superando el 90% del total de la población alérgica a este tipo polínico en la provincia de Granada (TABLA 3.13). Teniendo en cuenta este dato, en la población adulta monosensibilizada (TABLA 3.11), el polen de *Cupressaceae* provoca más del 17% del total de polinosis superando a la incidencia de Gramíneas que alcanza el 15,7% y al contrario en la población infantil, donde la alergia a los Cipreses no supera el 1,5% de monosensibilizaciones. Este hecho podría estar relacionado por la combinación de varios factores como que este alergeno necesita un mayor periodo de contacto con el Sistema Inmunológico para que se produzca las reacciones de hipersensibilidad, el considerable aumento de los niveles de polen de ciprés en el aire producido por el uso desmesurado de estas plantas como ornamentales en zonas urbanas y residenciales revelado en el primer capítulo de esta Tesis Doctoral y refrendado por otros autores (Bousquet *et al.*, 1993; Hrabina *et al.*, 2003; Díaz de la Guardia *et al.*, 2006), por la polución atmosférica (Panzani *et al.*, 1986; Muranaka *et al.*, 1986), o simplemente por la mejor calidad de los test diagnósticos (Charpin, 2000). Con todo ello, se podría señalar que la polinosis a *Cupressaceae* se acentúa en la población mayor de 15 años ya que la continua y desmesurada exposición de estos aeroalergenios provoca en pacientes atópicos

la activación de estas reacciones alérgicas por primera vez en su vida a edades adultas, siendo menor la incidencia en niños puesto que el sistema inmunológico infantil se ve mayormente afectado por otros alérgenos posiblemente más nocivos como el Olivo, las Gramíneas o las Parietarias.

En cuanto a la relación entre el sexo y la edad, existen claras diferencias, con una mayor preponderancia en varones antes de la pubertad, invirtiéndose esta relación después de la adolescencia con un mayor predominio de mujeres (FIG. 3.6). Este hecho se produce porque durante los primeros diez años de vida es el género masculino los más susceptibles a padecer alergias; sin embargo durante la adolescencia esta tendencia se invierte principalmente debido a los cambios hormonales que sufren, teniendo una fuerte capacidad de recuperación. Por contra, el género femenino carece de esa capacidad de recuperación por lo que la polinosis se perpetúa estando presente a lo largo del tiempo pudiendo manifestarse o no en cualquier momento de sus vidas.

Los síntomas, como rinoconjuntivitis asmática o asma, son las mayores dolencias que padecen los alérgicos. Sin embargo, no es extraño que el médico de cabecera remita a las Unidades de Alergia con más frecuencia a aquellos pacientes con síntomas asmáticos que a aquellos que padecen rinitis y/o conjuntivitis puesto que las afecciones pulmonares provocan un mayor temor entre la población, por lo que posiblemente esta variable se encuentre sesgada.

El estudio pormenorizado de la polinosis en función de la especie vegetal muestra como la vegetación local se encuentra íntimamente relacionada. Al igual que ocurre en Europa (D'Amato *et al.*, 1998), área Mediterránea (D'Amato & Lobefalo, 1989), Grecia (Gioulekas *et al.*, 2004) o Italia (Hruska, 2003), el estudio de la provincia de Granada revela que las alergias a determinadas plantas se encuentran delimitadas (FIG. 3.7). Los mejores ejemplos se encuentran representados con *Parietaria*, siendo en el Distrito Sur donde mayor incidencia de polinosis se registra debido al alto grado de humedad existente y elevadas concentraciones de *Urticaeae* en esa zona (Nieto-Lugilde, 2004), con *Olea*, cuyos mayores porcentajes de alergia se localizan en toda la franja norte de la provincia y por tanto en la zona más olivarera, e incluso con *Cupressaceae*, donde la utilización de estas especies vegetales como ornamentales se encuentran muy delimitadas, localizándose los mayores grados de polinosis en determinados municipios del Distrito Metropolitano

más cercano a la capital.

A su vez, con este estudio se comprueba el grado de peligrosidad de estas especies vegetales; la polinosis provocada por *Olea* o *Parietaria* posee un grado importante de alergenicidad, puesto que prácticamente existe el mismo porcentaje de incidencia entre la población general y monosensibilizada, además en el análisis poblacional muestra que la primera causa de alergia tanto en personas adultas como infantiles es provocada por ambas especies vegetales estando muy relacionada la zona de residencia; para el caso de pacientes menores de 16 años se muestra cómo éstos debutan principalmente con el polen de Olivo y Parietarias y cómo en el caso de los adultos a estas afecciones además le acompañan las relacionadas con los Cipreses. Sin embargo, otros táxones como *Poaceae*, *Platanus*, *Chenopodiaceae*, *Plantago* o *Artemisia* desvelan que apenas existe población monosensibilizada o bien se encuentra muy limitada por lo que se podría deducir que la incidencia de polinosis para estos tipos polínicos se ve principalmente influenciada por las reacciones cruzadas. Incluso este último hecho se demuestra claramente con *Populus*, donde no se producen monosensibilizaciones.

Por otra parte, el estudio de la sintomatología en pacientes monosensibilizados para cada una de las especies vegetales muestra que la rinoconjuntivitis asmática o asma se producen fundamentalmente con las polinosis a *Olea*, *Parietaria*, *Poaceae* y *Plantago*, o cómo la rinitis y/o conjuntivitis son inducidas principalmente por *Cupressaceae*, *Platanus* o *Artemisia*.

### 3.5.2. URGENCIAS

Numerosos estudios han demostrado que la morbilidad asociada al asma está incrementándose en los últimos años (Linneberg *et al.*, 2001; Galán *et al.*, 2003) debido principalmente a la existencia de contaminantes antrópicos, los cuales pueden provocar en personas sensibles severos ataques de asma (Koenig, 1999) a pesar de que otros estudios sugieren que sus efectos son responsables únicamente de sucesos puntuales (Jalaludin *et al.*, 2004; Anderson *et al.*, 1998).

Las partículas biológicas, por el contrario, podría ser un factor muy importante que relacione los casos de asma con la contaminación. D'Amato *et al.* (2000) sugieren que la polución puede promover la sensibilización y como consecuencia, desarrollar

enfermedades respiratorias moduladas por alérgenos aerovagantes. Incluso, estas partículas contaminantes pueden llegar a ocasionar daños en las vías respiratorias, facilitando la introducción de alérgenos al organismo, contactando con el sistema inmune, o incluso pueden interferir en la propia alérgenicidad de las plantas (D'Amato *et al.*, 2001; Schoene *et al.*, 2004; Santra *et al.*, 1991; Chehregani *et al.*, 2004).

El estudio de series temporales entre el contenido polínico de la atmósfera y los casos de ingresos en los Servicios de Urgencias, proporciona una importante herramienta para conocer cuál es la verdadera causa de las epidemias asmáticas (Tobías *et al.*, 2003).

Al enfrentar los datos obtenidos en el estudio de los pacientes ingresados en los Servicios de Urgencias con las concentraciones polínicas de *Olea europaea* (FIG. 3.15) se puede observar cómo durante el periodo de máxima polinación, los ingresos producidos muestran una dinámica muy parecida. Las mayores concentraciones de polen de Olivo se registraron durante la última semana de mayo, siendo los días 22 y 28 cuando se contabilizaron las cifras más elevadas con 2.518 y 1.108 granos/m<sup>3</sup>, respectivamente. Entre la población adulta se observa un considerable incremento de ingresos el mismo día en que se produjo el primer pico de Olivo (17 ingresos), pero a pesar de que las concentraciones polínicas descienden bruscamente, los pacientes continúan acudiendo a este Servicio, registrándose 21 y 24 ingresos los días posteriores. Durante el segundo pico polínico (28 de mayo) se observa que de nuevo se origina un incremento en los ingresos (15 consultas) con un desfase de 24 horas.

La población infantil (FIG. 3.15), sin embargo, muestra una dinámica de ingresos algo diferente con respecto a la adulta. De nuevo el incremento de consultas en los Servicios de Urgencias Pediátricas se produce el mismo día que el pico del polen de Olivo con un total de 53 consultas, no descendiendo este balance de ingresos hasta tres días más tarde coincidiendo con bajos niveles polínicos. Contrariamente a lo observado en la población adulta durante el segundo pico de *Olea* no se observa en este grupo de población un incremento de ingresos tan acusado.

Sin embargo, en el periodo previo a la floración de *Olea europaea* se observa la existencia de una media de 6 ingresos diarios de pacientes aquejados de polinosis. El polen de Gramíneas se detecta en el aire desde la primavera temprana hasta inicio del verano. Durante 2005 este tipo polínico mostró un periodo de máxima polinación entre los días 1 al 11 de mayo, existiendo más tarde ascensos y descensos a lo largo de todo el muestreo.



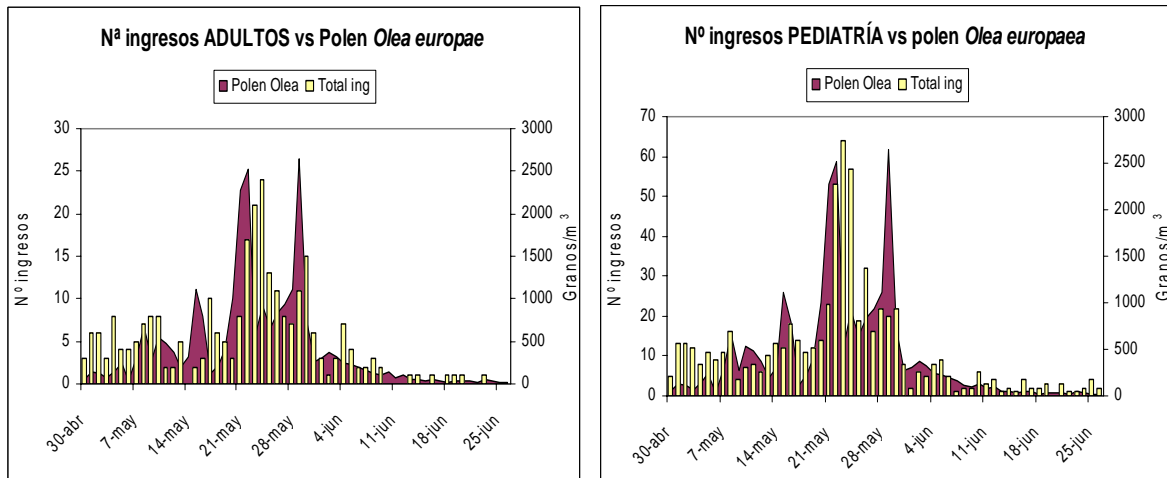


FIG. 3.15. Dinámica polínica de *Olea europaea* vs ingresos producidos en los Servicios de Urgencias de adultos y pediatría.

Cabe destacar la existencia de una relación directa entre los registros polínicos de *Poaceae* y el número de ingresos en ambas poblaciones durante la primera decena de este mes (FIG. 3.16), ya que cuando los niveles de este tipo polínico se incrementan, se observa un aumento en la afluencia de pacientes en Urgencias (1 de mayo con 15 granos/m<sup>3</sup> se registraron 6 y 13 ingresos en la población adulta e infantil, respectivamente). Por otra parte se observa que el incremento de ingresos producidos el día 24 de mayo coincide con un pico de Gramíneas de 25 granos/m<sup>3</sup>.

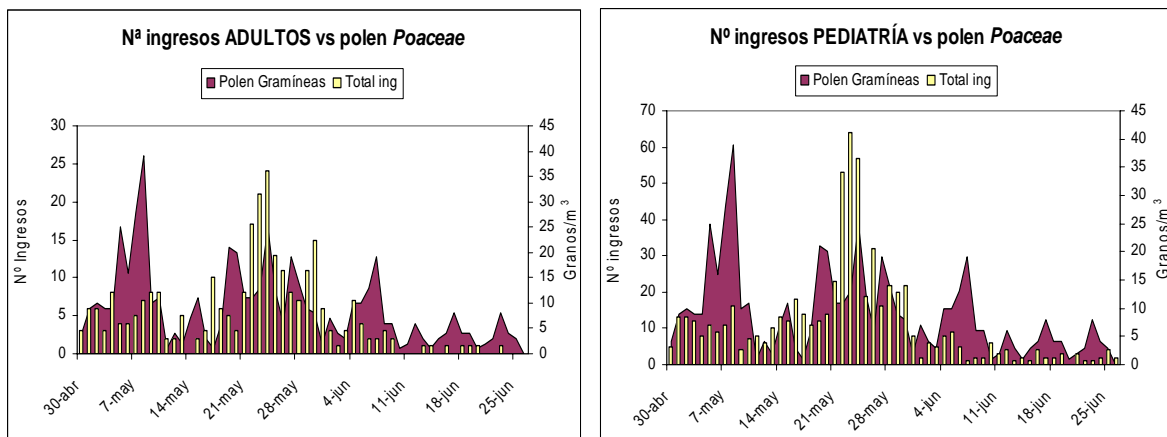


FIG. 3.16. Dinámica polínica de *Poaceae* vs ingresos producidos en los Servicios de Urgencias de adultos y pediatría.

Los resultados obtenidos confirman que son las partículas aerovagantes (granos de polen de *Olea* y *Poaceae*) las que aparentemente ocasionan un incremento de ingresos con

independencia de los niveles de contaminación existentes. Estos resultados coinciden con los realizados, con el mismo propósito, en Madrid (Tobías *et al.*, 2003; Galán *et al.*, 2003), Barcelona (Castellsagué *et al.*, 1995), Seattle (Schwartz *et al.*, 1993), Ontario (Cakmak *et al.*, 2002) o Londres (Anderson *et al.*, 1998) donde se confirma la existencia de una importante correlación entre polen e ingresos en Urgencias. Además, en un estudio realizado en la ciudad de Granada (Mérida Morales *et al.*, 2003) se constató la estrecha relación existente entre los niveles de polen en la atmósfera y el número de pacientes con asma que acuden a los Servicios de Urgencias produciéndose miniepidemias de asma en los periodos primaverales. En nuestro estudio de nuevo se demuestra que en la ciudad de Granada las concentraciones polínicas provocan estas pequeñas epidemias en la primavera produciendo un incremento del 2% en los Servicios de Urgencias.

Otras investigaciones (Schwartz *et al.*, 1993; Anderson *et al.*, 1998; Mérida Morales *et al.*, 2003; Tobías *et al.*, 2003) han demostrado que las correlaciones entre polen y crisis alérgicas están muy relacionadas con el acúmulo de estas partículas biológicas producido con dos y tres días anteriores. Por ello, en el análisis que hemos realizado se han enfrentado a) datos diarios (niveles de polen vs ingresos) y b) niveles de polen acumulados y desfasados vs ingresos diarios para contrastar lo mencionado por estos estudios.

La matriz de *Correlación de Spearman* (TABLA 3.21) muestra que tanto la población adulta como infantil presentan valores significativos positivos ( $p \leq 0,01$ ) para el polen de *Olea* y *Poaceae* diarias, con dos y tres días acumulados; siendo mejores los resultados obtenidos para Olivo que para Gramíneas. Con estos resultados se deduce que es el polen de *Olea* el que induce con más probabilidad las crisis alérgicas en la provincia de Granada puesto que los índices de correlación poseen un mayor grado de significación que los datos obtenidos con *Poaceae*. La acumulación de polen en la atmósfera junto con la predisposición de los pacientes a asimilar más o menos cantidad de alergenos en su cuerpo puede ser la causa del desfase entre los días de máxima polinación y de mayor número de ingresos en los Servicios de Urgencias.

<i>Rho de Spearman</i>	Ingresos Adulta	Ingresos Pediatría
<i>Olea</i>	0,696(**)	0,778(**)
<i>Olea</i> + 1 día	0,750(**)	0,784(**)
<i>Olea</i> + 2 días	0,756(**)	0,757(**)
<i>Poaceae</i>	0,559(**)	0,491(**)
<i>Poaceae</i> + 1 día	0,625(**)	0,523(**)
<i>Poaceae</i> + 2 días	0,697(**)	0,559(**)

TABLA 3.21. Matriz de correlación entre ingresos en los Servicios de Urgencias y registros polínicos. Coeficiente de Spearman y grado de correlación para  $p \leq 0,01$  (\*\*) y  $p \leq 0,05$  (\*).

Las mayores concentraciones de polen de Gramíneas se producen en la primera semana del mes de mayo donde existe un número de ingresos constante en Urgencias. Los resultados de las correlaciones podrían indicar por ello que *Poaceae* induce también casos de crisis alérgicas, aunque en el año de muestreo lo hicieran únicamente al comienzo del estudio, de ahí que exista un importante grado de significación entre polen de Gramíneas e ingresos.

A pesar de haber analizado los ingresos correspondientes al Hospital Materno Infantil y Hospital Clínico Universitario “San Cecilio”, centros donde se atendían únicamente a la población infantil, en el primer caso, y población adulta y pediátrica, en el segundo; cuando se analiza la totalidad de los datos correspondientes al Hospital Clínico Universitario, se comprueba que el porcentaje de ingresos de personas menores de 16 años es del 49,1%, y el resto pertenecen a la población adulta. Por ello, y en contra de lo demostrado por Anderson *et al.* (1998) donde indicaban que la morbilidad asmática es especialmente aplicable a los niños, la población en la ciudad de Granada, se ve afectada de la misma manera sin discriminación de edades.

La variable sexo muestra que entre la población infantil son los varones los que acuden con más frecuencia a Urgencias, mientras que para los adultos, son las mujeres las más afectadas.

En todos los casos, los síntomas que con más frecuencia padecen los pacientes es la rinoconjuntivitis asmática o asma, hecho normalizado puesto que éstas son las afecciones que, por su mecanismo de acción, causan mayor temor en la población.

Por último, y tal y como se mostró en la TABLA 3.20, el intervalo horario donde se produce el mayor número de ingresos difiere con respecto a la edad de la población; mientras que los adultos acuden a Urgencias a lo largo del día, los niños lo hacen principalmente entre las 18 y 0 horas. Este hecho podría estar relacionado con los horarios escolares y laborales de la población. Las crisis asmáticas infantiles deben ser muy severas para que terminen en los Servicios de Urgencias, mientras que los adultos, al no tener que ir acompañados, pueden acudir a estos centros y ser tratados en cualquier momento.



### **3.6. CONCLUSIONES**



A la luz de los resultados obtenidos en el presente capítulo y considerando los objetivos que se pretendían alcanzar con este estudio, se han elaborado las siguientes conclusiones:

1. En la provincia de Granada el mayor número de sensibilizaciones polínicas se debe a *Olea* (77,2%), seguido de *Poaceae* (54,6%), *Chenopodiaceae/Amaranthaceae* (31,5%), *Cupressaceae* (29,5%), *Plantago* (23,4%), *Artemisia* (19,6%), *Platanus* (17%), *Parietaria* (15,95) y *Populus* (7%).
2. El total de la población monosensible es del 19,1%, siendo *Olea* el primer motivo de polinosis con un 50,8% de individuos, seguido de *Cupressaceae* (19,7%) y *Poaceae* (15,7%) en la población adulta y de *Poaceae* (15,1%) y *Artemisia* (6,8%) en la infantil.
3. En relación a los distritos poblacionales existe una mayor incidencia a *Olea* en los Distritos Granada, Metropolitano y Nordeste, y a *Parietaria* en el Distrito Sur.
4. A pesar de que el polen de Gramíneas es el quinto tipo polínico en abundancia, las concentraciones de Lol p 1 han resultado ser el tercer alérgeno más abundante en el aire, revelando así el motivo por el cual *Poaceae* es la segunda-tercera causa de polinosis en la provincia de Granada.
5. La sintomatología en pacientes monosensibilizados es fundamentalmente rinoconjuntivitis asmática o asma en las polinosis a *Olea*, *Parietaria*, *Poaceae* y *Plantago*, y rinitis y/o conjuntivitis las inducidas por *Cupressaceae*, *Platanus* y *Artemisia*.
6. El mayor número de ingresos de pacientes, tanto adultos como infantiles, en los Servicios de Urgencias se produjeron en la tercera semana de mayo, coincidiendo con los picos más elevados de polen de *Olea* y en la franja horaria de 18 a 0 horas.





## ***BIBLIOGRAFÍA***



- Aceituno, E., Del Pozo, V., Mínguez, A., Arrieta, I., Cortegano, I., Cárdbaba, B., Gallardo, S., Rojo, M., Palomino, P. & Lahoz, C. (2000). Molecular cloning of the major allergen from *Cupressus arizonica* pollen: Cup a 1. *Clin Exp Allergy*, 30: 1750-1758.
- Aerobiology, I. A. O. (2002). An epidemiological survey of *Cupressaceae* pollinosis in Italy. *J Invest Allergol Clin Immunol*, 12(4): 287-282.
- Agea, E., Bistoni, O., Russano, A., Corazzi, L., Minelli, L., Bassotti, G., de Benedictis, F. M. & Spinozzi, F. (2000). The biology of cypress allergy. *Allergy*, 57: 957-968.
- Agencia Medio Ambiente. (1997). *Cartografía y estadística de usos y coberturas vegetales del suelo en Andalucía. Evolución 1976-1991*. Ed: Consejería de Medio Ambiente. Sevilla.
- Aira, M. J., Ferreiro, M., Iglesias, M. I., Jato, M. V., Marcos, C., Varela, S. & Vidal, C. (2001). Aeropalínología de cuatro ciudades de Galicia y su incidencia sobre la sintomatología alérgica estacional. *XIII Simposio A.P.L.E.*: 105-114.
- Akdis, M., Blaser, K. & Akdis, C. A. (2005). T regulatory cells in allergy: novel concepts in the pathogenesis, prevention and treatment of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*, 116: 961-968.
- Alba, F. (1997). *Caracterización polínica de la atmósfera de Granada: relación con variables meteorológicas y modelos predictivos de los táxones más alergógenos*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, Granada.
- Alba, F. & Díaz de la Guardia, C. (1996). El polen de las especies arbóreas y herbáceas en el espectro polínico de la atmósfera de Granada. *Monogr Fl Veg Béticas*, 9: 123-133.
- Alba, F. & Díaz de la Guardia, C. (1998). The effect of air temperature on the starting dates of the *Ulmus*, *Platanus* and *Olea* pollen seasons in the SE Iberian Peninsula. *Aerobiologia*, 14: 191-194.
- Alba, F., Díaz de la Guardia, C. & Alonso, R. (1997). Análisis del contenido polínico de la atmósfera de Granada: años 1992-1993. *Monogr Fl Veg Béticas*, 10: 89-100.
- Alba, F., Díaz de la Guardia, C. & Comtois, P. (2000). The effect of meteorological parameters on diurnal patterns of airborne olive pollen concentration. *Grana*, 39: 200-208.

- Alba, F., Díaz de la Guardia, C., De Linares, C., Nieto-Lugilde, D. & Sabariego, S. (2007). Pollen records as bio-indicators of water in the subdeserts of Almería (SE Spain). En prensa.
- Alba, F., Nieto-Lugilde, D., Comtois, P., Díaz de la Guardia, C., De Linares, C. & Ruiz Valenzuela, L. (2006). Airborne-pollen maps for *Olea europaea* L. in eastern Andalucía (Spain) using GIS: Estimations models. *Aerobiologia*, 2: 107-116.
- Alba, F., Sabariego, S., De Pablos, I. & Díaz de la Guardia, C. (2003). Aerobiological study of the main biotic particles (pollen and spores) in Granada (southern Spain). Relationship with meteorological parameters. *Polen*, 13: 237-249.
- Alché, J. D., Castro, A. J., Olmedilla, A., Fernández, M. C., Rodríguez, R., Villalba, M. & Rodríguez-García, M. I. (1999). The major olive pollen allergen (Ole e 1) shows both gametophytic and sporophytic expression during anther development, and its synthesis and storage takes place in the RER. *Journal of Cell Science*, 112: 2501-2509.
- Alché, J. D., Castro, A. J. & Rodríguez-García, M. I. (2002). Localization of transcripts corresponding to the major allergen from olive pollen (Ole e 1) by electron microscopic non-radioactive in situ RT-PCR. *Micron*, 33: 33-37.
- Alché, J. D., Císmonti, A., Hamman-Khalifa, J. & Rodríguez-García, M. I. (2003). Expression of Ole e 3 allergen in the mature pollen grain of olive (*Olea europaea* L.). *Acta Bio. Cracow Bot*, 45: 89-95.
- Alisi, C., Afferni, C., Iacovacci, P., Barletta, B., Tinghino, R., Butteroni, C., Puggioni, M. R., Wilson, I. B. H., Federico, R., Schinina, M. E., Ariano, R., Di Felice, G. & Pini, C. (2001). Rapid isolation, characterization, and glycan analysis of Cup a 1, the major allergen of Arizona Cypress (*Cupressus arizonica*) pollen. *Allergy*, 56: 978-984.
- Alvarado, M. A., Foroughbakhch, R., Jurado, E. & Rocha, A. (2002). El cambio climático y la fenología de las plantas. *Ciencia UANL*, 4: 493-500.
- Amoresano, A., Pucci, P., Duro, G., Colombo, P., Costa, M. A., Izzo, V., Lamba, D. & Geraci, D. (2003). Assignment of Disulfide bridges in Par j 2.0101, a major allergen of *Parietaria judaica* pollen. *Biol Chem*, 384: 1165-1172.
- Andersen, T. B. (1991). A model to predict the beginning of the pollen season. *Grana*, 30: 269-275.

- Anderson, H. R., Ponce de Leon, J. R., Bland, J. M., Bower, S., Emberling, J. & Strachan, D. P. (1998). Air pollution, pollens, and daily admissions for asthma in London 1987-92. *Thorax*, 53: 842-848.
- Ansari, A. A., Killoran, E. A. & Marsh, D. G. (1987). An investigation of human response to perennial ryegrass (*Lolium perenne*) pollen cytosome C (Lol p X). *J Allergy Clin Immunol*, 80(2): 229-235.
- Ansari, A. A., Shenbagamurthi, P. & Marsh, D. G. (1989). Complete primary structure of a *Lolium perenne* (Perennial Rye Grass) pollen allergen, Lol p III: comparison with known Lol p I and Lol p II sequences. *Biochemistry*, 28: 8665-8670.
- Antepara, I., Fernández, J. C., Gamboa, P., Jauregui, I. & Miguel, F. (1995). Pollen allergy in the Bilbao area (European Atlantic Eaboard Climated): pollination forecasting methods. *Clin Exp Allergy*, 25: 133-140.
- Argawal, M. K., Swanson, M. C., Reed, C. E. & Yunginger, J. W. (1984). Airborne ragweed allergens: Association with various particle sizes and short ragweed plant parts. *J Allergy Clin Immunol*, 74(5): 687-693.
- Argawal, M. K., Yunginger, J. W., Swanson, M. C. & Reed, C. E. (1981). An immunochemical method to measure atmospheric allergens. *J Allergy Clin Immunol*, 68(3): 194-200 .
- Arilla, M. C., González-Rioja, R., Ibarrola, I., Mir, A., Monteseirin, J., Conde, J., Martínez, A. & Asturias, J. A. (2006). A sensitive monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay to quantify *Parietaria judaica* major allergens, Par j 1 and Par j 2. *Clin Exp Allergy*, 36(1): 87-93.
- Arilla, M. C., Ibarrola, I., Martínez, A. & Asturias, J. A. (2004). Quantification assay for the major allergen of *Cupressus sempervirens* pollen, Cup s 1, by sandwich ELISA. *Allergol et Immunopathol*, 32(6): 319-325.
- Asturias, J. A., Arilla, M. C. & Gómez-Bayón, N. (1997). Cloning and expression of the panallergen (Ole e 1) from olive tree pollen. *J Allergy Clin Immunol*, 100: 365-372.
- Asturias, J. A., Gómez-Bayón, N., Eseverri, J. L. & Martínez, A. (2003). Par j 1 and Par j 2, the major allergens from *Parietaria judaica* pollen, have similar immunoglobulin E epitopes. *Clinical and Experimental Allergy*, 33: 518-524.
- Asturias, J. A., Ibarrola, I., Bartolomé, B., Ojeda, I., Malet, A. & Martínez, A. (2002). Purification and characterization of Pla a 1, a major allergen from *Platanus acerifolia* pollen. *Allergy*, 57: 221-227.

- Asturias, J. A., Ibarrola, I., Eseverri, J. L., Arilla, M. C., González-Rioja, R. & Martínez, A. (2004). PCR-based cloning and immunological characterization of *Parietaria judaica* pollen profilin. *J Invest Allergol Clin Immunol*, 14(1): 43-48.
- Ayuso, R., Carreira, J. & Polo, F. (1995). Quantitation of the major allergen of several *Parietaria* pollen by an anti Par monoclonal antibody-based ELISA. Analysis of crossreactivity among purified Par j 1 and Par m 1 allergens. *Clin Exp Allergy*, 25: 993-999.
- Aznarte, J. L., Benítez Sánchez, J. M., Nieto-Lugilde, D., De Linares, C., Díaz de la Guardia, C. & Alba, F. (2007). Forecasting airborne pollen concentration times with neural and neuro-fuzzy models. *Expert Systems with Applications*, 32: 1218-1225.
- Baeza Ocariz, M. L. (2002). Nuevos alergenicos: Nuevas potologías alérgicas. *Allergol Immunol Clin*, 17(2): 61-62.
- Barber, D. (2003). Gramíneas: alergenicos y reactividad cruzada. *Allergol Immunol Clin*, 18(3): 12-16.
- Barjau, C., Subiza, J., Jerez, M., Pola, J., Zapata, C. & López, G. (2003). Salicaceae. In: *Altas Aerobiología y Polinosis*, Eds. Schering-Pough & Aeries®. Madrid.
- Barral, P., Batanero, E., Palomares, O., Quiralte, J., Villalba, M. & Rodríguez, R. (2004). A major allergen from pollen defines a novel family of plant proteins and shows intra- and interspecie cross-reactivity. *J Immunol*, 172: 3644-3651.
- Barrios, J. (1942). Estudio polínico primaveral del campo de San Luúcar de Barrameda y sus deducciones para la clínica. *Rev Clin Esp*, 6: 29-33.
- Bassani, M., Pacini, E. & Franchim, G. G. (1994). Humidity stress in pollen of anemophilous and entomophilous species. *Grana*, 33: 146-150.
- Batanero, E., Ledesma, A., Villalba, M. & Rodríguez, R. (1997). Purification, amino acid sequence and immunological characterization of Ole e 6, a cysteine-enriched allergen from olive tree pollen. *FEBS Letters*, 410: 293-296.
- Batanero, E., Villalba, M., Ledesma, A., Puente, X. S. & Rodríguez, R. (1996). Ole e 3, an olive-tree allergen, belongs to a widespread family of pollen proteins. *Eur J Biochem*, 241: 772-778.
- Belmonte, J. (1985). Datos para el estudio de la dinámica de la circulación del polen aerovagante de Catalunya. *Actas de Palinología*: 177-182.
- Belmonte, J. (1988). Concentración polínica en la atmósfera de Barcelona. *Orsis*, 3: 67-75.

- Belmonte, J. & Canela, M. (2002). Modelling aerobiological time series. Application to *Urticaceae*. *Aerobiologia*, 18: 287-295.
- Belmonte, J., Canela, M., Guardia, A., Sbai, L., Vendrell, M., Cariñanos, P., Díaz de la Guardia, C., Dopazo, A., Fernández-González, D., Gutiérrez, M. & Trigo, M. M. (2000). Aerobiological dynamics of the Cupressaceae pollen in Spain, 1992-1998. *Polen*, 10: 27-38.
- Belmonte, J. & Roure, J. M. (1985). Contenido polínico de la atmósfera de Cataluña. Resultados año 1983. *Ann Asoc Palinol Leng Esp*, 2: 319-328.
- Berenguer Subils, S. (1999). *El síndrome del edificio enfermo. Metodología de evaluación*. Ed.: Instituto Nacional de la Seguridad Social e Higiene en el trabajo. Madrid.
- Blanca, G., López Onieva, M., Lorite, J., Martínez Lirola, M. J., Molero Mesa, J., Quintas, S., Ruiz Grela, M., Varo, M. A. & Vidal, S. (2002). *Flora amenazada y endémica de Sierra Nevada*. Ed.: Consejería de Medio Ambiente. Granada.
- Blanca, G. & Morales, C. (1991). *Flora del Parque Natural de Sierra de Baza*. Ed: Servicio de Publicaciones Universidad de Granada. Granada.
- Boluda, L., Alonso, C. & Fernández Caldas, E. (1998). Purification, characterization, and partial sequencing of two new allergens of *Olea europaea*. *J Allergy Clin Immunol*, 101(2-1): 210-216.
- Botey, J., Torres, A., Belmonte, J., Eseverri, J. L. & Marín, A. (1999). *Parietaria* allergy in children. *Pediatric Pulmology*, 18: 157-162.
- Bousquet, J., J. Knani, A. Hejjaoui, R. Fernando, P. Cour, H. Dhivert et al. (1993). Heterogeneity of atopy. I. Clinical and Immunologic characteristics of patients allergic cypress pollen. *Allergy*, 48: 183-188.
- Bousquet, J., Cour, P., Guerin, B. & Michel, F. B. (1984). Allergy in the Mediterranean area. I. Pollen counts and pollinosis of Montpellier. *Clin Allergy*, 14: 249-258.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72: 245-254.
- Bricchi, E., Fornaciari, M., Giannoni, C., Greco, F., Fascini, G., Frenguelli, G., Mincigrucci, G. & Romano, B. (1992). Fluctuations of grass pollen content in the atmosphere of East Perugia and meteorological correlations (year 1989). *Aerobiologia*, 8: 401-406.



- Brusic, V., Petrovsky, N., Gendel, S. M., Millot, M., Gigonzac, O. & Stelman, S. J. (2003). Computational tools for the study of allergens. *Allergy*, 58: 1083-1092.
- Bryant, V. M. & Jones, G. D. (2006). Forensic palynology: Current status of a rarely used technique in the United States of America. *Forensic Scien Int*, 163: 183-197.
- Burr, M. L., Emberlin, J., Treu, R., Cheng, S., Pearce, N. E. & Group, I. P. O. S. (2003). Pollen counts in relation to the prevalence of allergenic rhinoconjunctivitis, asthma and atopic eczema in the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Clin Exp Allergy*, 33: 1675-1680.
- Burt, P., Rutter, J. & Ramírez, F. (1998). Airborne spores loads and mesoscale dispersal of the fungal pathogens causing Sigatoka diseases in banana and plantain. *Aerobiologia*, 14: 209-214.
- Cakmak, S., Dales, R. E., Burnett, R. T., Judek, S., Coates, F. & Brook, J. R. (2002). Effect of airborne allergens on emergency visits by children for conjunctivitis and rhinitis. *The Lancet*, 259: 947-948.
- Calvo, A., Romo, A., García, M. J., Lorenzo, C., Laffond, E., Dávila, I. & Lorente, F. (1996). Importancia de la sensibilización alérgica a pólenes de Salamanca. *XX Congreso de la SEAIC*: 6.
- Cambon, G. (1983). Caractères du espectre pollinique de l'atmosphere de Valencia. *Actas IV Simposio Palinología*: 223-232.
- Candau, P., Conde, J. & Chaparro, A. (1981). Palinología en *Oleaceae*, incidencia de su polen en el aire de Sevilla, clínica de la polinosis. *Bot Macar*, 8-9: 89-102.
- Capel Molina, J. J. (1981). *Los climas de España*. Ed. Oikos-tau. Barcelona.
- Cárdaba, B., del Pozo, V., Jurado, A., Gallardo, S., Cortegano, I., Arrieta, I., Del Amo, A., Tramón, P., Florido, F., Sastre, J., Palomino, P. & Lahoz, C. (1998). Olive pollen allergy: searching for immunodominant T-cell epitopes on the Ole e 1 molecule. *Clin and Exp Allergy*, 28: 413-422.
- Cariñanos, P., Alcázar, P., Galán, C. & Domínguez, E. (2002). Privet pollen (*Ligustrum* sp.) as potential cause of pollinosis in the city of Cordoba, south-west Spain. *Allergy*, 57: 92-97.
- Cariñanos, P., Galán, C., Alcázar, P. & Domínguez, E. (1998). Spectrophotometric analysis as a complementary technique to aerobiology in the study of solid particles in the air. *Aerobiologia*, 14: 147-153.

- Cariñanos, P., Galán, C., Alcázar, P. & Domínguez, E. (1999). Diurnal variation of biological and non-biological particles in the atmosphere of Córdoba, Spain. *Aerobiologia*, 15(3): 177-182.
- Cariñanos, P., Sánchez-Mesa, J. A., Prieto-Baena, J. C., López, A., Guerra, F., Moreno, C., Domínguez, E. & Galán, C. (2002). Pollen allergy related to the area of residence in the city of Córdoba, south-west Spain. *J Environ Monit*, 4: 734-738.
- Carnés, J. & Fernández Caldas, E. (2002). Ole e 4 and Ole e 5, important allergens of *Olea europaea*. *Allergy*, 57(71): 24-28.
- Carnés Sánchez, J., Iraola, V., Sastre, J., Florido, F., Boluda, L. & Fernández Caldas, E. (2002). Allergenicity and immunochemical characterization of six varieties of *Olea europaea*. *Allergy*, 57: 313-318.
- Carreño, V. & Castillo, I. (2001). *Principios de Biología Molecular*. Ed.: Springer-Verlag Ibérica. Barcelona.
- Carretero, P., Juste Picón, S., García González, F., Alloza Gómez, P., Pérez Giménez, R., Blanco Carmona, J., Reinares Ten, C., Vicente Serrano, J. & Bascones, O. (2005). Pólenes alérgicos y polinosis en la ciudad de Burgos. *Allergol Immunol Clin*, 20: 90-94.
- Carrión, J. & Díez, M. J. (2004). Origen y evolución de la vegetación mediterránea en Andalucía a través del registro fósil. In: *El monte mediterráneo en Andalucía*. Ed.: Consejería de Medio Ambiente. Sevilla.
- Castellsagué, T., Sunyer, J., Saez, M. & Anto, J. M. (1995). Short-term association between air pollution and emergency room visits for asthma in Barcelona. *Thorax*, 50: 1051-1056.
- César-Ramos, J. M. (1999). Specific childhood allergic diseases in Southern Europe: Synthesis and Conclusions. *Pediatric Pulmology*, 18: 172-174.
- Chaparro, A. (1991). Mapa polínico de Andalucía (Método volumétrico). *XX Reunión de Alergólogos e Inmunólogos del Sur*: 103-116.
- Charpin, D. (2000). Epidemiology of cypress allergy. *Allerg. Immunol.*, 32: 83-85.
- Charpin, D., Calleja, M., Lahoz, C., Pichot, C. & Waisel, Y. (2005). Allergy to cypress pollen. *Allergy*, 60: 293-301.
- Chehregani, A., Majde, A., Moin, M., Gholami, M., Shariatzadeh, M. A. & Nassiri, H. (2004). Increasing allergy potency of *Zinnia* pollen grains in polluted areas. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 58: 267-272.

- Chuine, I. (2000). A unified model for budburst of trees. *J Theor Biol*, 207: 337-347.
- Clot, B. (2003). Trends in airborne pollen: An overview of 21 years of data in Neuchâtel (Switzerland). *Aerobiologia*, 19: 227-234.
- Colombo, P., Duro, G., Costa, M. A., Izzo, V., Mirisola, M. G., Locorotondo, G., Cocchiara, R. & Geraci, D. (1998). An up date on allergens. *Parietaria* pollen allergens. *Allergy*, 53: 917-921.
- Comtois, P. & Marcoux, N. (1999). An indoor air model. *Aerobiologia*, 15: 115-120.
- Comtois, P. & Schemenaver, R. S. (1991). Tree pollen viability in areas subject to high pollutant deposition. *Aerobiologia*, 7: 144-151.
- Conde Hernández, J., Conde Hernández, P., González Quevedo, M. T., Conde Alcañiz, M. A., Crespo Moreira, P. & Cabanillas Platero, M. (2002). Antigenic and allergenic differences between 16 different cultivars of *Olea europaea*. *Allergy*, 57(71): 60-65.
- Cookson, W. O. C. M. (1998). Genetics and asthma. *Rev Immunol*, 149: 181-187.
- Corrado Negrini, A., Ariano, R., Delbono, G., Ebbli, A., Quaglia, A. & Arobba, D. (1992). Incidence of sensitisation to the pollens of *Urticaceae* (*Parietaria*), *Poaceae* and *Oleaceae* (*Olea europaea*) and pollen rain in Liguria (Italy). *Aerobiologia*, 8: 355-358.
- Cortegano, I., Civantos, E., Aceituno, E., del Moral, A., López, E., Lombardero, M., del Pozo, V. & Lahoz, C. (2004). Cloning and expression of a major allergen from *Cupressus arizonica* pollen, Cup a 3, a PR-5 protein expressed under polluted environment. *Allergy*, 59: 485-490.
- Costa, M. A., Colombo, P., Izzo, V., Kennedy, H., Venturella, S., Cocchiara, R., Mistrello, G., Falagiani, P. & Geraci, D. (1994). cDNA cloning expression and primary structure of Par j I, a major allergen of *Parietaria judaica* pollen. *FEBS Letters*, 341: 182-186.
- Cour, P. (1974). Nouvelles techniques de détection des flux et des retombées polliniques: étude de la sédimentation des pollens et des spores à la surface du sol. *Pollen et Spores*, 16: 103-141.
- Cour, P. & Van Campo, M. (1980). Prevision de récoltes à partir de l'analyse du contenu pollinique de l'atmosphère. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris*, 290: 1043-1046.
- Culley, T. M., Weller, S. G. & Sakai, A. K. (2002). The evolution of wind pollination in angiosperms. *Ecology and Evolution*, 17(8): 361-369.

- Cunsolo, V., Foti, S., Saletti, R., Ceraulo, L. & Di Stefano, V. (2001). Detection and localization of disulphide bonds in a synthetic peptide reproducing the sequence 1-30 of Par j 1.0101 by electrospray ionisation mass spectrometry. *Proteomics*, 1: 1043-1048.
- D'Amato, G. (2002). Environmental urban factors (air pollution and allergens) and the rising trends in allergic respiratory diseases. *Allergy*, 57(72): 30-33.
- D'Amato, G., De Palma, R., Verga, A., Martucci, P., Liccardi, G. & Lobefalo, G. (1991). Antigenic activity of nonpollen parts (leaves and stems) of allergenic plants (*Parietaria judaica* and *Dactylis glomerata*). *Annals of Allergy*, 67: 421-424.
- D'Amato, G., Laccardi, G., D'Amato, M. & Cazorla, M. (2001). The role of outdoor air pollution and climatic changes on the rising trends in respiratory allergy. *Respir Med*, 95(7): 606-611.
- D'Amato, G., Laccardi, G., Russo, M. & D'Amato, M. (2000). On the interrelationship between outdoor air pollution and respiratory allergy. *Aerobiologia*, 16: 1-6.
- D'Amato, G. & Laccardi, P. (1994). Pollen-related allergy in the European Mediterranean area. *Clin and Exp Allergy*, 24: 210-219.
- D'Amato, G. & Lobefalo, G. (1989). Allergenic pollens in the southern Mediterranean area. *J. Allergy Clin Immunol*, 83: 116-122.
- D'Amato, G., Spieksma, F., Liccardi, G., Jäger, S., Russo, M., Kontou-Fili, K., Nikkels, H., Wüthrich, B. & Bonini, S. (1998). Pollen related allergy in Europe. *Allergy*, 53: 567-578.
- Darder, J. B. & Duran, F. (1936). Estudio del factor polínico del aire en Barcelona. *Rev. Med. Barcelona*: 101-132.
- Davidson, A. C., Emberlin, J., Cook, A. D. & Venables, K. M. (1996). A major outbreak of asthma associated with a thunderstorm: experience of accident and emergency department and patients characteristics. 601-604.
- De Benito Rica, V. & Soto Torres, J. (2001). Pollinosis and pollen aerobiology in the atmosphere of Santander. *Allergol Immunol Clin*, 16: 84-90.
- De Linares, C. (2002). *Estudio del espectro polínico de la ciudad de Granada (año 2001) en relación con los procesos alérgicos de la población infantil*. Diploma de Estudios Avanzados. Universidad de Granada, Granada

- De Linares, C., Nieto-Lugilde, D., Alba, F., Díaz de la Guardia, C., Galán, C. & Trigo, M. M. (2007). Detection of airborne allergen (Ole e 1) in relation to *Olea europaea* pollen in S Spain. *Clin Exp Allergy*, 37: 125-132.
- De Pablos, S. (2000). *Contaminantes bióticos de la atmósfera de Granada. Análisis de polen y esporas*. Memoria de Licenciatura. Universidad de Granada, Granada.
- De Weerd, N. A., Bhalla, P. L. & Singh, M. B. (2002). Aeroallergens and pollinosis: Molecular characteristics of cloned pollen allergens. *Aerobiologia*, 18(2): 87-106.
- Deutscher, M. (1990). *Guide to Protein Purification*. Ed.: Academic Press. Vol. 182. Connecticut.
- Di Felice, G., Caiaffa, M. F., Bariletto, G., Afferni, C., Di Paola, R., Mari, A., Palumbo, S., Tinghino, R., Sallusto, F., Tursi, A., Macchia, L. & Pini, C. (1994). Allergens of arizona cypress (*Cupressus arizonica*) pollen: characterization of the pollen extract and identification of the allergenic components. *J. Allergy Clin Immunol*, 94(3): 547-555.
- Díaz de la Guardia, C. (1995). Aerobiología de Andalucía: El Llantén, Plantago. *REA*, 1: 23-24.
- Díaz de la Guardia, C. (1995). Aerobiología de Andalucía Oriental: Granada. *REA*, 1: 43-45.
- Díaz de la Guardia, C. (1995). Aerobiología de Andalucía: Urticáceas. *REA*, 1: 27-28.
- Díaz de la Guardia, C. (1985). *Revisión de los géneros Scorzonera L. y Avellara Díaz de la Guardia & Blanca (Compositae, Lactuceae) en la Península Ibérica*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, Granada.
- Díaz de la Guardia, C. & Alba, F. (1992). Datos de España. In: Airborne grass pollen distribution in Europe 1992. *Aerobiologia*, 8(3-39).
- Díaz de la Guardia, C. & Alba, F. (1994). Datos de España. In: Airborne grass pollen distribution in Europe 1993. *Aerobiologia*, 10(2/2): 2-32.
- Díaz de la Guardia, C., Alba, F., De Linares, C., Nieto-Lugilde, D. & López Caballero, J. (2006). Aerobiological and allergenic analysis of *Cupressaceae* pollen in Granada (Southern Spain). *J. Invest Allergol Clin Immunol*, 16(1): 24-33.
- Díaz de la Guardia, C., Alba, F., Girón, F. & Sabariego, S. (1998). An aerobiological study of *Urticaceae* pollen in the city of Granada (S. Spain) correlation with meteorological parameters. *Grana*, 37: 298-304.

- Díaz de la Guardia, C., Alba, F., Nieto-Lugilde, D. & Sabariego, S. (2003). Diez años de control aerobiológico en la atmósfera de Granada: calendario polínico (1992-2001). *Polen*, 13: 251-260.
- Díaz de la Guardia, C., Alba, F., Trigo, M. M., Galán, C., Ruiz, L. & Sabariego, S. (2003). Aerobiological analysis of *Olea europaea* L. pollen in different localities of southern Spain. Forecasting models. *Grana*, 42: 234-243.
- Díaz de la Guardia, C., Alonso, R., Alba, F. & Valle, F. (1995). Airborne grass pollen in Granada (Spain). *Aerobiologia*, 11: 47-50.
- Díaz de la Guardia, C., Alonso, R. & Bocio, I. (1991). Análisis de las recetas de vacunas antialérgicas en la provincia de Granada. *Monogr Fl Veg Béticas*, 6: 83-98.
- Díaz de la Guardia, C. & Blanca, G. (1994). *Flora ornamental de Granada. Polen e incidencia en las alergias*. Ed.: Servicio de publicaciones de la Universidad de Granada. Granada
- Díaz de la Guardia, C., Galán, C., Domínguez, E., Alba, F., Ruiz, L., Sabariego, S., Recio, M., Fernández, J., Méndez, M., Vendrell, M. & Gutiérrez, M. (2000). Variations in the main pollen season of *Olea europaea* L. at selected sites in the Iberian Peninsula. *Polen*, 10: 103-113.
- Díaz de la Guardia, C., Sabariego, S., Alba, F., Ruiz, L., García Mozo, H., Toro, G. L., Rodríguez Rajo, F. J., Guardia, A. & Cervigón, P. (2000). Aeropalynological study of the genus *Platanus* L. in the Iberian Peninsula. *Polen*, 10: 93-101.
- Díaz de la Guardia, C. & Valle, F. (1993). Las alergias polínicas. *Alsur*, 8: 83-88.
- Díaz de la Guardia, C., Valle, F., Alonso, R. & Romera, R. (1993). Annual, daily and diurnal variations in pollen from *Olea europaea* L. in the atmosphere of Granada (Spain). (1993). *J Allergy and Clin Immunology*, 3(5): 251-257.
- Díaz, M. R., Iglesias, I. & Jato, M. V. (1997). Airborne concentration of *Botrytis*, *Uncinula* and *Plasmopara* spores in Leiro-Ourense (NW Spain). *Aerobiologia*, 13: 31-35.
- Domínguez, E. (1995). Aerobiología en Andalucía. El olivo, *Olea europaea*. *Boletín de la Red Española de Aerobiología*, 1: 21-22.
- Domínguez, E., Galán, C., Villamandos de la Torre, F. & Infante, F. (1991). Manejo y evaluación de los datos obtenidos en los muestreos aerobiológicos. *Monogr REA/EAN*, 1: 1-6.
- Domínguez, E., Infante, F., Galán, C., Guerra, F. & Villamandos, F. (1993). Variations in the concentrations of airborne *Olea* pollen and associated pollinosis in Cordoba

- (Spain): a study of the 10 year period 1982-1991. *Invest Allergol Clin Immunol*, 3(3): 121-129.
- Domínguez, E., Ubera, J. L. & Galán, C. (1984). *Polen alergógeno de Córdoba* Ed.: Publicaciones Monte de Piedad y Caja de Ahorros de Córdoba. Córdoba.
- Dopazo Martínez, A. (2001). *Variación estacional y modelos predictivos de polen y esporas aerovagantes en Santiago de Compostela.*, Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela.
- Downs, S. H., Mitakakis, T. Z., Marks, G. B., Car, N. G. & Belousova, B. G. (2001). Clinical importance of *Alternaria* exposure in children. *Am J Respir Crit Care Med*, 3: 455-459.
- Duro, G., Colombo, P., Costa, M. A., Izzo, V., Porcasi, R., Di Fiore, R., Locorotondo, G., Mirisola, M. G., Cocchiara, R. & Geraci, D. (1996). cDNA cloning, sequence analysis and allergological characterization of Par j 2.0101, a new major allergen of the *Parietaria judaica* pollen. *FEBS Letters*, 341: 295-298.
- Echarri Prim, L., Suquia Mendizaval, A., Lobato, V. & López, M. L. (1986). Polen atmosférico en San Sebastián, 1983, 1984, 1985. I. Polen total y Gramíneas. *Pub Biol Univ Navarra*, 6: 41-45.
- Emberlin, J. (1994). The effects of patterns in climate and pollen abundance on allergy. *Allergy*, 49: 15-20.
- Emberlin, J. C. (1995). Plant allergens on pauci-micronic airborne particles. *Clin Exp Allergy*, 25: 202-205.
- Emberlin, J. (1997). Polluted thoughts. *Community Pharmacy*, 5: 167-181.
- Emberlin, J., Adams-Groom, B. & Prieto-Baena, J. C. (2006). Transfer of pollen from woodland soil to a vehicle and footwear during winter months, Wocester UK. *8Th International Congress on Aerobiology.*: 67.
- Emberlin, J., Jäger, S., Domínguez, E., Galán, C., Hodal, L., Mandrioli, P., Rantio Lehtimäki, A., Savage, M., Spieksma, F. & Bartlett, C. (2000). Temporal and geographical variations in grass pollen seasons in areas of Western Europe: An analysis of season dataset sites of the European pollen information system. *Aerobiologia*, 16: 373-379.
- Emberlin, J., Mullins, J., Corden, J., Millington, W., Brooke, M., Savage, M. & Jones, S. (1997). The trend to earlier Birch pollen season in the U.K.: A biotic response to changes in weather conditions? *Grana*, 36: 29-33.

- Emberlin, J. & Norris-Hill, J. (1991). Annual, daily and diurnal variation of *Urticaceae* pollen in North central London. *Aerobiologia*, 7: 49-57.
- Emberlin, J., Savage, M. & Jones, S. (1993). Annual variations in grass pollen seasons in London 1961-1990: trends and forecast models. *Clin Exp Allergy*, 23: 911-918.
- Enrique, E., Cisteró-Bahíma, A., Bartolomé, B., Alonso, R., San Miguel-Moncín, M. M., Bartra, J. & Martínez, A. (2002). *Platanus acerifolia* pollinosis and food allergy. *Allergy*, 57: 351-356.
- Enrique Miranda, E. (2002). Plátano de sombra. *Platanus (Platanus hispanica)*., *Polinosis. Polen y Alergias*. Ed.: Schering-Pough & Aeries. Barcelona.
- Erdtman, G. (1952). *Pollen Morphology and Plant Taxonomy*. Ed. Almquist Wiskell. Estocolmo.
- Erdtman, G. (1966). *Pollen Morphology and Plant Taxonomy*. Ed. Hafner Publishing. New York.
- Erdtman, G. (1969). *Handbook of palynology*. Ed. Munksgaard. Copenhagen.
- Faegri, K. (1956). Recent trends in palinology. *Bot Rev*, 22: 639-644.
- Faegri, K. & Iversen, J. (1975). *Textbook of pollen analysis*. Ed. Munksgaard. Copenhagen.
- Feo Brito, F., Galindo, P. A. & García, R. (1998). Pólenes alergénicos en Ciudad Real. *Rev Esp Allergol Immunol Clin*, 2: 79-85.
- Fernández, D., Valencia-Barrera, R. M., Vega-Maray, A., Díaz de la Guardia, C., Trigo, M. M., Cariñanos, P., Guardia, A., Pertinez, C. & Rodríguez Rajo, F. J. (2000). Analysis of grass pollen concentrations in the atmosphere of several Spanish sites. *Polen*, 10: 127-136.
- Fernández, P. (1991). *Análisis de las variaciones estacionales del contenido de polen en la atmósfera de Granada; incidencia en las alergias*. Memoria de Licenciatura. Universidad de Granada, Granada.
- Fernández, P., Díaz de la Guardia, C. & Valle, F. (1990). Análisis polínico en la atmósfera de Granada, resultados febrero-junio (años 1989-1990). *An Asoc Palinol Leng Esp*, 5: 29-38.
- Fernández Sánchez, J., García Más, F., Esteban, A. & Miralles, A. (1998). Incidencia de granos de polen y polinosis en la ciudad de Elche, 1995. *Allergol. Immunol Clin*, 13(2): 88-91.



- Fernández-Caldas, E., Swanson, M. C., Pravda, J., Welsh, P., Yunginger, I. W. & Reed, C. E. (1989). Immunochemical demonstration of red oak pollen aeroallergens outside the oak pollination season. *Grana*, 28: 205-209.
- Ferreiro Arias, M., Núñez Orjales, R., Rico Díaz, M. A., Soto Mera, T. & López Rico, R. (1998). Pólenes alérgicos y polinosis en el área de La Coruña. *Allergol Immunol Clin*, 13(2): 98-101.
- Fireman, P. & Slavin, R. (1997). *Atlas de Alergia*. Ed. Harcourt Brace. Madrid.
- Fisher, S., Grote, M., Fahlbusch, B., Muller, W. D., Kraft, D. & Valenta, R. (1996). Characterization of Phl p 3, a major timothy grass (*Phleum pratense*) pollen allergen. *J Allergy Clin Immunol*, 98(1): 189-198.
- Fitter, A. H. & Fitter, R. S. R. (2002). Rapid changes in flowering time in British plants. *Science*, 296: 1689-1691.
- Florido, F., Quiralte, J., Arias de Saavedra, J. M., Sáenz de San Pedro, B. & Martín Casañez, E. (2002). An allergen from *Olea europaea* pollen (Ole e 7) is associated with plant-derived food anaphylaxis. *Allergy*, 57(71): 53-59.
- Font Quer, P. (1993). *Diccionario de Botánica* Ed. Labor. Barcelona.
- Fornaciari, M., Pieroni, L., Ciuchi, P. & Romano, B. (1997). A statistical model for correlation airborne pollen grains *Olea europaea* L. (*Oleaceae*) with some meteorological parameters. *Agric Mediterr*, 127: 134-137.
- Fornaciari, M., Pieroni, L., Orlandi, F. & Romano, B. (2002). A new approach to consider the pollen variable in forecasting yield models. *Economic Botany*, 56(1): 66-72.
- Frei, T. & Leuschner, R. M. (2000). A change from grass pollen induced allergy to tree pollen induced allergy: 30 years of pollen observation in Switzerland. *Aerobiologia*, 16: 407-416.
- Freidhoff, L. R., Ehrlich-Kautzky, E., Grant, J. H., Meyers, D. A. & Marsh, D. G. (1986). A study of the human immune response to *Lolium perenne* (rye) pollen and its components, Lol p I and Lol p II (rye I and rye II). I. Prevalence of reactivity to the allergens among skin test, IgE antibody, and IgG antibody data. *J Allergy Clin Immunol*, 78: 1190-1201.
- Frenguelli, G. & Bricchi, E. (1998). The use of the pheno-climatic model for forecasting the pollination of some arboreal taxa. *Aerobiologia*, 14: 39-44.
- Galán, C. (1987). *Catalogación y modelos de variación de polen aerovagante de la ciudad de Córdoba*. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, Córdoba.

- Galán, C. (1998). Introducción Boletín nº 3 de la Red Española de Aerobiología. *REA*, 3: 5-6.
- Galán, C., Alcázar, P., Cariñanos, P., García Mozo, H. & Domínguez, E. (2000). Meteorological factors affecting daily *Urticaceae* pollen counts in southwest Spain. *Int J Biometeorol*, 43: 191-195.
- Galán, C., Emberlin, J., Domínguez, E., Bryant, R. H. & Villamandos, F. (1995). A comparative analysis of daily variations in the *Gramineae* pollen counts at Córdoba, Spain and London, U.K. *Grana*, 34: 189-198.
- Galán, C., Fuillerat, M. C., Comtois, P. & Domínguez, E. (1998). Bioclimatic factors affecting daily Cupressaceae flowering in Southwest Spain. *Int J Biometeorol*, 41: 95-100.
- Galán, C., García Mozo, H., Cariñanos, P., Alcázar, P. & Domínguez, E. (2001). The role of temperature in the onset of *Olea europaea* L. pollen season in southwestern Spain. *Int J Biometeorol*, 45: 8-12.
- Galán, C., García Mozo, H., Vázquez, L., Ruiz, L., Díaz de la Guardia, C. & Trigo, M. M. (2005). Heat requirement for onset of the *Olea europaea* L. pollen season in several sites in Andalusia and the effect of the expected future climate change. *Int J Biometeorol*, 9: 184-188.
- Galán, C., García-Mozo, H., Vázquez, L., Ruiz, L., Díaz de la Guardia, C. & Trigo, M. M. (2003). Heat requirement for onset of the *Olea europaea* L. pollen season several *Oleaceae* of Andalusia Region and the effect of the expected climate change. *TESA Third European Symposium on Aerobiology*: 34.
- Galán, C., Tormo, R., J. C., Infante, F. & Domínguez, E. (1991). Theoretical daily variation patterns of airborne pollen in the south west of Spain. *Grana*, 30: 201-209.
- Galán, C., Vázquez, L., García Mozo, H. & Domínguez, E. (2003). Forecasting olive (*Olea europaea*) crop yield based on pollen emission. *Field Crops Research*.
- Galán, I., Tobías, A., Banegas, J. R. & Aránguez, E. (2003). Short-term effects of air pollution on daily asthma emergency room admissions. *Eur Respir J*, 22: 802-808.
- García González, M. (1999). Polinosis, una enfermedad en aumento. *REA*, 5: 13-16.
- García Mozo, H., Galán, C., Aira, M. J., Belmonte, J., Díaz de la Guardia, C., Fernández, D., Gutiérrez, M., Rodríguez, F. J., Trigo, M. M. & Domínguez, E. (2002). Modelling start of oak pollen season in different climatic zones in Spain. *Agricultural and Forest Meteorology*, 110: 247-257.

- García Mozo, H., Galán, C. & Domínguez, E. (2003). The impact of future climate change in the start of *Quercus* flowering in the Iberian Peninsula. *Quaternary climatic changes and environmental crises in the Mediterranean Region*: 279-285.
- García Mozo, H., Galán, C., Gómez-Casero, M. T. & Domínguez, E. (2000). A comparative study of different temperature accumulation methods for predicting the start of the *Quercus* pollen season in Cordoba (southwest Spain). *Grana*, 39: 194-199.
- García-Selles, J. & Munuera Giner, M. (1996). Pólenes, *Rinitis alérgica. Mecanismos y tratamientos*. (pp. 148-166). Ed. Edika Med. Barcelona.
- Geller-Bernstein, C. (1996). Aerobiology in the prevention of allergy. *Clinical Applications of Aerobiology*: 69-75.
- Gioulekas, D., Papakosta, D., Damialis, A., Spieksma, F., Giouleka, P. & Patakas, D. (2004). Allergenic pollen records (15 years) and sensitization in patients with respiratory allergy in Thessaloniki, Greece. *Allergy*, 59: 174-184.
- González, E. M., Villalba, M., Quiralte, J., Batanero, E., Roncal, F., Albar, J. P. & Rodríguez, R. (2006). Analysis of IgE and IgG B-cell immunodominant regions of Ole e 1, the main allergen from olive pollen. *Mol Immunol*, 43(6): 570-578.
- González Galán, I., Devesa Alcaraz, J. A., Ramos Maqueda, S. & Rodríguez Mesa, P. (1998). Pólenes alérgicos y polinosis en Badajoz. *Rev Esp Allergol Immunol Clin*, 13(2): 63-69.
- González-Minero, F. J. & Candau, P. (1996). Aeropalinología de *Gramineae* en Huelva. Resultados de tres años de estudio (1990-1992). *Lazaroa*, 17: 97-102.
- González-Minero, F. J., Candau, P., Tomás, C. & Morales, J. (1997). Patrones de distribución de concentraciones polínicas de varios tipos de polen alérgicos (herbáceas) en relación con factores climatológicos. *Rev Esp Allergol Immunol Clin*, 12(6): 357-362.
- González-Minero, F. J., Candau, P., Tomás, C. & Morales, J. (1998). Forecasting olive crop production based on ten consecutive years of monitoring airborne pollen in Andalusia (southern Spain). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 69: 301-315.
- González-Minero, F. J., Morales, J., Candau, P., Tomás, C. & Pérez Tello, A. (1998). Aerobiological study of *Chenopodiaceae* and *Amaranthaceae* in the Mediterranean area of southwestern Spain. *Invest. Allergol. Clin. Immunol.*, 8(6): 370-375.

- Gore, C. & Custovic, A. (2004). Can we prevent allergy? *Allergy*, 59: 151-161.
- Gregory, P. H. (1973). *The microbiology of the Atmosphere*. Ed. Leonard Hill Books. Plymouth, London.
- Grill-Cariola, M., Mazzitelli, A., Capuci, E. & Travaglini, A. (2002). Monitoring pollinosis and airborne pollen in a Rome University. *Aerobiologia*, 18: 267-275.
- Hanrahan, L. P. & Paramore, L. C. (2003). Aeroallergens, allergic rhinitis and sedating antihistamines: Risk factors for traumatic occupational injury and economic impact. *Am J Ind Med*, 44: 438-446.
- Hansen, J., Ruedy, R. & Lo, M. S. K. (2002). Global warming continues. *Science*, 295: 275.
- Hidalgo, P. J., Mangin, A., Galán, C., Hembise, O., Vázquez, L. M. & Sánchez, O. (2002). An automated system for surveying and forecasting *Olea* pollen dispersion. *Aerobiologia*, 18(1): 23-31.
- Hirst, J. M. (1952). An automatic volumetric spore-trap. *Ann Appl Biol*, 39(2): 257-265.
- Holmquist, L., Weiner, J. & Vesterberg, O. (2001). Airborne Birch and Grass pollen allergens in street-level shops. *Indoor Air*, 11: 241-245.
- Hrabina, M., Dumur, J.P., Sicrad, H., Viatte, A. & Andre, C. (2003). Diagnosis of cypress pollen allergy: in vivo and in vitro standardization of a *Juniperus ashei* pollen extract. *Allergy*, 58: 808-813.
- Hruska, K. (2003). Assessment of urban allergophytes using an allergen index. *Aerobiologia*, 19(2): 107-111.
- Huescas, S., Villalba, M. & Rodríguez, R. (2001). Ole e 9, a major olive pollen allergen is a 1,3-B-Glucanase. *J Biol Chem*, 276(30): 27959-27966.
- Hyde, H. A. (1952). Studies in atmospheric pollen. V. A. daily census of pollen at Cardiff for six years 1943-1948. *New Phytol*, 51: 193-281.
- Ibarrola, I., Arilla, M. C., Martínez, A. & Asturias, J. A. (2004). Identification of a polygalacturonase as a major allergen (Pla a 2) from *Platanus acerifolia* pollen. *J Allergy Clin Immunol*, 113(6): 1185-1191.
- Iglesias, I., Jato, M. V., Álvarez, E., Aira, M. J. & Segura, A. (1993). Variaciones anuales y diarias de la concentración de polen de la atmósfera de la ciudad de Ourense. *An Asoc Palinol Leng Esp*, 6: 103-112.

- Iglesias, I., Jato, V. & Izco, J. (1988). Contenido polínico de la atmósfera de Ourense. Primeros resultados (Marzo 1986-Marzo 1987). *An Asoc Palinol Lengua Esp*, 4: 54-63.
- Infante, F. (1987). *Identificación, cuantificación y variación estacional de microhongos aerovagantes de interiores y exteriores de hogares de la ciudad de Córdoba*. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, Córdoba.
- Isard, S. & Ariatti, A. (2004). Forecasting the aerial transport of soybean rust spores (*Phakopsora pachyrhizi*) to North America. *Abstracts XI International Palinological Congress*: 73-74.
- Isard, S. & Ariatti, A. (2006). Application of the Integral Aerobiology Modelling System to Forecasting Soybean Rust Spread in North America. *Abstracts The 8th International Congress on Aerobiology*, 1: 168.
- Isard, S. & Gage, S. H. (2001). *Flow of Life in the Atmosphere*. Ed. Michigan State University Press. Michigan.
- Jäger, S. & Mandrioli, P. (1993). Airborne Birch and Grass pollen distribution in Europe 1993. *Aerobiologia*, 10(2/2): 2-6.
- Jäger, S., Nilsson, S., Berggren, B., Pessi, A. M., Helander, M. & Ramfjord, H. (1996). Trends of some airborne tree pollen in the Nordic Countries and Austria, 1980-1993. *Grana*, 35: 171-178.
- Jaggi, K. S., Ekramoddoullah, A., Kisil, F. T., Dzuba-Fischer, J. M., Rector, E. S. & Schon, A. H. (1989). Identification of two distinct allergenic sites on ryegrass-pollen allergen, Lol p IV. *J Allergy Clin Immunol*, 83(4): 844-852.
- Jalaludin, B. B., Toole, B. I. O. & Leeder, S. R. (2004). Acute effects of urban ambient air pollution on respiratory symptoms, asthma medication use, and doctor visits for asthma in a cohort of Australian children. *Environ Res*, 95: 32-42.
- Jato, M. V., Rodríguez, F. J. & Seijo, M. C. (2000). *Pinus* pollen in the atmosphere of Vigo and its relationship to meteorological factors. *Int J Biometeorol*, 43: 147-153.
- Jato, M. V., Iglesias, I. & Aira, M. J. (2001). *Atlas del polen alergógeno*. Ed. Xunta de Galicia. Santiago de Compostela.
- Jato, M. V., Rodríguez, F. J., Méndez, J. & Aira, M. J. (2002). Phenological behaviour of *Quercus* in Ourense (NW Spain) and its relationship with pollen season. *Int J Biometeorol*, 46: 176-184.
- Jiménez Díaz, C. (1932). *El asma y otras enfermedades alérgicas* Ed. España. Madrid.

- Jimeno, L., Duffort, O., Serrano, C., Barber, D. & Polo, F. (2004). Monoclonal antibody-based ELISA to quantify the major allergen of *Artemisia vulgaris* pollen, Art v 1. *Allergy*, 59: 995-1001.
- Johnson, P. & Marsh, D. G. (1965). Allergens from common ryegrass pollen (*Lolium perenne*). The allergenic determinants and carbohydrate moiety. *Immunochemistry*, 3: 101-110.
- Jones, A. M. & Harrison, R. M. (2004). The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations-a review. *Sci Total Environ*, 36: 151-180.
- Kahn, C. R. & Marsh, D. G. (1986). Monoclonal antibodies to the major *Lolium perenne* (ryegrass) pollen allergen Lol p I (Rye I). *Mol Immunol*, 23(1281-1288).
- Kerr, R. A. (2002). Reducing uncertainties of global warming. *Science*, 295: 29-30.
- King, T. P., Hoffman, D., Lowenstein, H., Marsh, D. G., Platts-Mills, T. A. & Thomas, W. (1994). Allergen nomenclature. WHO/IUIS Allergen Nomenclature Subcommittee. *Int Arch Allergy Immunol*, 105(3): 224-233.
- Knox, R. B. (1993). Grass pollen, thunderstorms and asthma. *Clin Exp Allergy*, 23: 354-359.
- Koenig, J. Q. (1999). Air pollution and asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 104: 717-722.
- Kuby, J. (1997). *Immunology*. Ed. Freeman Company. New York.
- Kuparinen, T., Markkanen, T., Riikonen, H. & Vesala, T. (2006). Modelling the dispersal of airborne seeds, pollen and spores in forested areas. *Abstracts The 8th International Congress on Aerobiology*, 1: 166.
- Lacey, J., Crook, B. & Janaku Bai, A. (1996). The detection of airborne allergens implicated in occupational asthma. In M. L. Muilenberg & H. A. Burge. *Aerobiology*. Ed. Boca Raton CRC Press. New York.
- Larsson, K. A. & Nilsson, S. (1991). An attempt to predict the start, peak and end of a pollen season. *Grana*, 30: 281.
- Latorre, F. (1999). Differences between airborne pollen and flowering phenology of urban trees with floral development. *Aerobiologia*, 15: 131-141.
- Lauzorca, P., Maruri, N., Galocha, B., González, J., Díaz, R., Palomino, P., Hernández, D., García, R. & Lahoz, C. (1988). Olive (*Olea europaea*) pollen allergens--II. Isolation and characterization of two major antigens. *Mol Immunol*, 25(4): 337-344.
- Lebowitz, M. D. & O'Rourke, M. K. (1991). The significance of air pollution in aerobiology. *Grana*, 30(31-43).

- Ledesma, A., Rodríguez, A. & Villalba, M. (1998). Olive-pollen profilin. Molecular and immunologic properties. *Allergy*, 53: 520-526.
- Ledesma, A., Villalba, M., Vivanco, F. & Rodríguez, R. (2002). Olive pollen allergen Ole e 8: identification in mature pollen and presence of Ole e 8-like proteins in different pollens. *Allergy*, 57: 40-43.
- Leuschner, R. M. & Boehm, G. (1981). Pollen and inorganic particles in the air of climatically very different places in Switzerland. *Grana*, 20: 161-167.
- Lewis, W. H., Vinay, P. & Zenger, V. E. (1983). Airborne and allergenic pollen in North America. *The Johns Hopkins University Press*, 169.
- Liccardi, G., Russo, M., Saggese, M., Lobefalo, G., Noschese, P., Piccolo, A., Visone, A., D'Amato, M. & D'Amato, G. (1994). Clinical significance of allergic sensitization to *Olea europaea* L. pollen in Naples area, Italy. *Aerobiologia*, 10: 59-64.
- Lieth, H. (1974). *Phenology and seasonality modelling*. ( Vol. 8). Berlin-Heildeberg-New York.
- Linares, P., Gómez, J. A. & Andion, R. (1982). Estudio aerobiológico mediante método volumétrico de la atmósfera de Valladolid, durante los años 1982, 1983. *Actas IV Simposio Palinología*: 261-267.
- Linneberg, A., Nielsen, N. H., Madsen, F., Frolund, L., Dirksen, A. & Jorgensen, T. (2001). Secular trends of allergenic asthma in Danish adults. The Copenhagen study. *Respir Med*, 95: 258-264.
- Lobera, T. & Blasco, A. (1998). Estudio de polinosis en La Rioja. *Rev Esp Allergol Immunol Clin*, 2: 102-106.
- Lombardero, M., Barbas, J. A., Moscoso del Prado, J. & Carreira, J. (1994). cDNA sequence analysis of the main olive allergen, Ole e 1. *Clin Exp Allergy*, 24: 765-770.
- Lombardero, M., Obispo, T. M., Calabozo, B., Lezaun, A., Polo, F. & Barber, D. (2002). Cross-reactivity between olive and other species. Role of Ole e 1- related proteins. *Allergy*, 57(71): 29-34.
- Lopes Silva, S., Rodríguez Alves, R., Spínola Santos, A., Pregal, A., Mendes, A., Pedro, E., Palma-Carlos, G., Branco-Ferreira, M., Santos, C. & Pereira Barbosa, M. (2005). Cypress allergy in Portugal. *J. Allergy Clin Immunol*, S238.
- Mandrioli, P. (2004). The first 30 years of the International Association for Aerobiology. *Abstracts XI International Palinological Congress*: 14.

- Mandrioli, P. & Ariatti, A. (2001). Aerobiology: future course of action. *Aerobiologia*, 17(1): 1-10.
- Mandrioli, P., Caneva, G. & Sabbioni, C. (2003). *Cultural heritage and Aerobiology*. Ed. Kluwer Academic Publisher. London.
- Mandrioli, P., Comtois, P. & Levizzani, V. (1998). *Methods in Aerobiology*. Ed. Pitagora Editrice Bologna. Bologna.
- Mari, A., Di Felice, G., Barletta, B., Tinghino, R. & Pini, C. (1997). Cypress allergy: An underestimated pollinosis. *Allergy*, 52: 355-356.
- Márquez, J., Seoane-Camba, J. A. & Suárez-Cervera, M. (1997). Allergenic and antigenic proteins release in the apertural sporoderm during the activation process in grass pollen grains. *Sex Plant Reprod*, 10: 269-278.
- Marsh, D. G., Goodfriend, L., King, T. P., Lowenstein, H. & Platts-Mills, T. A. (1986). Allergen nomenclature. *Bull World Health Organ*, 64(5): 767-774.
- Martín, J. (1988). *Estudi el pollen aerovagant de Barcelona*. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona, Barcelona.
- Martínez, A., Asturias, J. A., Monteseirín, J., Moreno, V., García-Cubillana, A., Hernández, M., de La Calle, A., Sánchez-Hernández, C., Pérez-Formoso, J. L. & Conde, J. (2002). The allergenic relevance of profilin (Ole e 2) from *Olea europaea* pollen. *Allergy*, 57(71): 17-23.
- Mérida Morales, A., Alba Sánchez, F., Cortés Domínguez, C., Díaz de la Guardia, C., Linares Serrano, M., Mérida Fernández, C. & Roca Guiseris, J. (2003). Estudio observacional actualizado del perfil asistencial del asma y su agudización (AGA) en un Servicios de Cuidados Críticos y Urgencias (SCCU) andaluz. *Neumosur*, 15(2): 157-166.
- Michel, F. B., Dhivert, H. & al, e. (1978). Pollinoses hivernales. *Rev Fr Allergol.*, 18(2): 83-88.
- Mildenhall, D. G. (2006). Forensic palynology: Operation Lollipop. *8Th International Congress on Aerobiology*, 1: 66.
- Miralles, J. C., Caravaca, F., Guillén, F., Lombardero, M. & Negro, J. M. (2002). Cross-reactivity between *Platanus* pollen and vegetables. *Allergy*, 57: 146-149.
- Monn, C., Alean-Kirkpatrick, A., Künzli, N., Defila, C., Peeters, A., Ackermann-Liebrich, U. & Leuenberger, P. (1999). Air pollution, climate and pollen comparisons in



- urban, rural and alpine regions in Switzerland (SPADALIA study). *Atmospheric Environ*, 33: 2411-2416.
- Montserrat, P. (1951). Análisis polínico del aire de Barcelona I. *Public Inst Biol Aplic*, 8: 209-221.
- Moral, A., Senent, C., Cabañez, N., García, Y. & Gómez-Serranillas, M. (1998). Pólenes alergénicos y polinosis en Toledo. *Rev Esp Allergol Immunol Clin*, 2: 126-134.
- Moral de Gregorio, A. (2003). Aerobiología y polinosis por Cupresáceas en España. *Allergol Immunol Clin*, 18(3): 25-44.
- Mösges, R. (2002). The increasing prevalence of allergy: a challenge for the physician. *Clin Exp All Rev*, 2: 13-17.
- Munuera Giner, M., Carrión García, J. S. & García Selles, M. (1999). Aerobiology of *Artemisia* airborne pollen in Murcia (SE Spain) and its relationship with weather variables: annual and intardiurnal variations for three different species. Wind vectors as a tool indetermining pollen origin. *Int J Biometeorol*, 43: 51-63.
- Muñoz, A. F., Silva, I. & Tormo, R. (2000). The relationships between *Poaceae* pollination levels and cereal yields. *Aerobiologia*, 16(2): 281-286.
- Muranaka, M., S. Suzuki, K. Koizumi, S. Takafuji, T. Miyamoto, R. Ikemori & M. Tokiwa. (1986). Adjuvant activity of diesel exhaust particulates for the production of IgE antibody in mice. *J Allergy Clin Immunol*, 77: 616-623.
- Nakano, T., Bing, Q. & Hori, S. (2003). New theory on pollinosis of airborne tree grains-EM, NO and cytokines. *International Congress Series*, 1240: 545-547.
- Newson, R., Strachan, D., Archban, E., Emberlin, J., Hardaker, P. & Collier, C. (1998). Acute asthma epidemics, weather and pollen in England, 1987-1994. *Eur Respir J*, 11: 604-701.
- Nieto-Lugilde, D. (2004). *Estudio aerobiológico en la costa de Granada: Análisis de los principales componentes alergógenos*. Diploma de Estudios Avanzados. Universidad de Granada, Granada.
- Nieto-Lugilde, D., Alba, F., Díaz de la Guardia, C., De Linares, C. & Ruiz Valenzuela, L. (2006). Geostatistic for *Poaceae* airborne-pollen Maps in SE Spain. *Abstracts The 8th International Congress on Aerobiology*, 1: 141.
- Nilsson, S. & Persson, S. (1981). Tree pollen spectra in the Stockholm region (Sweden), 1973-1980. *Grana*, 20: 179-182.

- Nilsson, S. & Spiekma, F. (1992). *Traveller's allergy service guide*. Ed. Swedish Museum of Natural History and Fisson Sweden. Sweden.
- Nitiu, D. S. & Mallo, A. C. (2002). Incidence of allergenic pollen of *Acer* spp. *Fraxinus* spp. and *Platanus* spp. in the city of La Plata, Argentina: preliminary results. *Aerobiologia*, 18(1): 65-71.
- OMS, (2005) "Un mundo donde podemos respirar libremente" [on line] <<http://www.who.int/respiratory/gard/GARDFlyerES-ProofVII15August.pdf>> [Consulta: 01-Mayo-2007]
- Paiva, J. (1993). Urticaceae. In S. Castroviejo, C. Aedo, S. Cirujano, M. Laínz, P. Montserrat, R. Morales, F. Muñoz, C. Navarro, J. Paiva & C. Soriano, *Flora Ibérica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares*. (Vol. III, pp. 262-275). Ed. Servicios de Publicaciones C.S.I.C. Madrid.
- Palomares, O., Villalba, M. & Rodríguez, R. (2003). The C-terminal segment of the 1,3-B-glucanase Ole e 9 from olive (*Olea europaea*) pollen is an independent domain with allergenic activity: expression in *Pichia pastoris* and characterization. *Biochem J*, 369: 593-601.
- Panayotopulu, E., Cenci, L. & Tursi, A. (1991). *Salsola kali*: a new etiology of pollinosis in the Mediterranean area of Apulia-Italy. *Grana*, 30: 147-149.
- Panzani, R., Cenntani, G. & Brunel, M. (1986). Increase of respiratory allergy to the pollens of cypresses in the south of France. *Ann Allergy*, 56: 460-463.
- Panzani, R., Zerboni, R. & Adriano, R. (1991). *Allergenic significance of Cupressaceae pollen in some parts of the Mediterranean area*. Ed. Blackwell Scientific Publications. London.
- Panzani, R. C. (2003). MESA REDONDA: POLINOSIS II. La alergia a las *Cupressaceae*. Pasado y futuro. *Allergol Immunol Clin*, 18(3): 24.
- Papageorgiou, P. S. (1999). Particularities of pollen allergies in Greece. *Pediatr Pulmonol*, 18: 168-171.
- Pathirane, L. (1975). Aerobiological literature in scientific periodicals. *Grana*, 15: 145-147.
- Pehkonen, E. & Rantio-Lehtimäki, A. (1994). Variations in airborne pollen antigenic particles caused by meteorologic factors. *Allergy*, 49: 472-477.
- Pérez de Zabalza, A. & Álvarez, R. (1983). Estudio anual del polen atmosférico de la ciudad de Pamplona. *Actas IV Simposio Palinología*: 251-260.

- Pérez Hernández, P. P., Fernández Portillo, L. A., García Alonso, C. R., Martín Lozano, J. M. & Romero Velasco, M. (2003). *Libro Blanco de la Agricultura y el Desarrollo Rural*. Ed. Ministerio de Agricultura y Pesca. Madrid.
- Petrovska, N., Wu, X., Donato, R., Wang, Z., Ong, E., Jones, E., Forster, J., Emberlin, M., Sidoli, A., O'Hehir, R. & Spangenberg, G. (2004). Transgenic ryegrass (*Lolium perenne*) with down-regulation of main pollen allergens. *Mol Breeding*, 14: 489-501.
- Petushkova, A. & Kanddyba, P. (1999). Aeromicrobiological studies in the Moscow cathedrals. *Aerobiologia*, 15(3): 193-201.
- Pitzurra, L., Bellezza, T., Giammarioli, M., Giraldi, M., Sbaraglia, G., Spera, G. & Bistoni, F. (1999). Microbial environmental monitoring of the refectory in the monastery of St. Anna in Foligno, Italy. *Aerobiologia*, 15(3): 203-209.
- Pla-Dalmau, J. M. (1958). Nueva técnica para la valoración del polvo atmosférico especialmente útil en determinación palinológica. *Pharmacia Mediterranea*, 2: 201-216.
- Pola, J., Zapata, C. & Sanz, E. (1998). Polinosis en el área de Zaragoza. *Rev Esp Allergol Immunol Clin*, 2: 135-139.
- Portillo, J. R. (1988). *Estudio palinológico y micológico en Zaragoza. Su contribución para el conocieminto del perfil etiopatogénico del asma bronquial*. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza, Zaragoza.
- Quiralte, J., Florido, F., Arias de Saavedra, J. M., Gómez, A., Sáenz de San Pedro, B., González, E. & Rodríguez, R. (2002). Olive allergen-specific IgE responses in patients with *Olea europaea* pollinosis. *Allergy*, 57(71): 47-52.
- Ramjord, H. (1991). Outdoor appearance of aeroallergens in Norway. *Grana*, 30: 91-97.
- Ranea Arroyo, S. (2002). Llantén. *Plantago*., *Polinosis. Polen y Alergia*. Barcelona.
- Ranta, H., Oksanen, A., Bergmann, K. G., Bucher, E., Ekeboom, A., Emberling, J. C., Gerhing, R., Hallsdóttir, M., Jato, V., Jäger, S., Myszkowska, D., Paldy, A., Ramdfjord, H., Severova, E. & Thibaudon, M. (2006). Spatio-temporal patterns of annual loads of airborne birch pollen in Europe. *Abstracts The 8th International Congress on Aerobiology*, 1: 175.
- Rantio Lehtimäki, A., Koivikko, A., Kupias, R., Mäkinen, Y. & Pohjola, A. (1991). Significance of sampling height of airborne particles for aerobiological information. *Allergy*, 46: 68-76.

- Räsänen, L. (2000). Inhalant allergy in the United Arab Emirates. *Allergy*, 55(1): 95-96.
- Rea, G., Iacovacci, P., Ferrante, P., Zelli, M., Brunetto, B., Lamba, D., Boffi, A., Pini, C. & Federico, R. (2004). Refolding of the *Cupressus arizonica* major pollen allergen Cup a 1.02 over expressed in *Escherichia coli*. *Protein Expression and Purification*, 37: 419-425.
- Recio, M. (1995). *Análisis polínico de la atmósfera de Málaga (1991-1994). Relación con los parámetros meteorológicos*. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga, Málaga.
- Recio, M., Cabezudo, B., Trigo, M. M. & Tormo, R. (1997). Accumulative air temperature as a predicting parameter for daily airborne olive pollen (*Olea europaea* L.) during the pre-peak period in Málaga (Western Mediterranean area). *Grana*, 36: 44-48.
- Recio, M., Cabezudo, B., Trigo, M. M. & Toro, F. J. (1996). *Olea europaea* L. pollen in the atmosphere of Málaga (S Spain) and its relationship with meteorological parameters. *Grana*, 35: 307-312.
- Recio, M., Trigo, M. M., Toro, F. J. & Cabezudo, B. (1995). Contenido polínico de la atmósfera de Málaga: Año 1994. *Acta Bot Malacitana*, 20: 83-90.
- Recio, M., Trigo, M. M., Toro, F. J. & Cabezudo, B. (1997). Incidencia del polen de *Plantago* en la atmósfera de Málaga y su relación con los parámetros meteorológicos. *Acta Bot Malacitana*, 23: 121-131.
- Redd, C. E., Swanson, M. C. & Yunginger, J. W. (1986). Measurement of allergen concentration in the air as an aid to controlling exposure to aeroallergens. *Allergy Clin Immunol*, 78: 1028-1030.
- Regueiro González, J., López Larrea, C., González Rodríguez, S. & Martínez Navez, E. (2004). *Immunología: Biología y Patología del Sistema Inmune*. Ed. Panamericana. Madrid
- Richards, T. B., Croner, C. M., Rushton, G., Brown, C. K. & Fowler, L. (1999). Geographic Information Systems and Public Health: Mapping the future. *Public Health Reports*, 114: 359-373.
- Riera, M. D., Cerdá, M. T. & Martín, J. (2002). A correlation study between airborne pollen and cases of pollinosis in humans. *Aerobiologia*, 18(3-4): 169-173.
- Ring, J. (2001). Allergy and Hypersensitivity allergic on the increase. *Curr Opin Immunol*, 1: 699-700.
- Rivas Martínez, S. (1987). *Memoria de mapa de series de vegetación de España*. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. I.C.O.N.A. Madrid.

- Rivas Martínez, S. (1996). *Bioclimatic Map of Europe*. Ed. Cartographic Service. University of León. León.
- Rodríguez-García, M. I. & Fernández, M. C. (1990). Ultrastructural evidence of endoplasmic reticulum changes during the maturation of the olive pollen grain (*Olea europaea*). *Plant Syst Evol*, 171(221-231).
- Rogers, C. A. (1993). Application of aeropalynological principles in Paleoecology. *Rev Paleobot Palinol*, 79: 133-140.
- Rosas, I., McCartney, H. A., W, P. R., Calderon, C., Lacey, J., Chapela, R. & Ruiz-Velazco, S. (1998). Analysis of the relationships between environmental factors (aeroallergens, air pollution, and weather) and asthma emergency admissions to a hospital in Mexico City. *Allergy*, 53(4): 394-401.
- Rubio Pérez, L. A., De Pablos Epalza, C., Lucena Cobos, B., Cáceres Clavero, F., Manríquez Gordillo, T. & Méndez Rodríguez, M. (2002). *El Olivar Andaluz*. Ed. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Sevilla.
- Ruffin, J., Williams, D., Banerjee, U. & Pinnix, K. (1983). The effects of some environmental gaseous pollutants on pollen-wall proteins of certain airborne pollen grains. *Grana*, 22: 171-175.
- Ruiz, L., Díaz de la Guardia, C. & Cano, A. (1998). Study of seasonal and daily variations in airborne *Olea europaea* L. in Jaén (Spain), 1993-1995. *Aerobiologia*, 14: 277-279.
- Ruiz, L., Díaz de la Guardia, C. & Mota, J. F. (1998). Analysis of airborne pollen in the town of Almería (south-East Spain), 1995-1996. *Aerobiologia*, 14: 281-284.
- Ruiz Valenzuela, L. (2001). *Estudio aerobiológico de la atmósfera de Jaén: espectro polínico, modelos de pronóstico e incidencia de los principales aeroalergenos*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, Granada.
- Sabariego, S. (1997). *Esporas fúngicas de la atmósfera de Granada: análisis de la variación estacional e intradiaria*. Memoria de Licenciatura. Universidad de Granada, Granada.
- Sabariego, S. (2003). *Estudio aerobiológico del polen y las esporas de la atmósfera de Almería: Modelos de pronósticos e Incidencia en la población atópica*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, Granada.

- Sabariego, S., Díaz de la Guardia, C. & Alba, F. (1999). Contribución al estudio aeromicológico de la atmósfera de la ciudad de Granada (S. España): variaciones estacionales e intradiarias. *Rev Iberoam Micol*, 16: 230-234.
- Sabariego, S., Díaz de la Guardia, C. & Alba, F. (2000). The effect of meteorological factors on the daily variation of airborne fungal spores in Granada (southern Spain). *Int J Biometeorol*, 44: 1-5.
- Sabariego, S., Díaz de la Guardia, C. & Alba, F. (2004). Estudio aerobiológico de los conidios de *Alternaria* y *Cladosporium* en la atmósfera de la ciudad de Almería (SE de España). *Iberoam Micol*, 21: 121-127.
- Sabariego, S., Díaz de la Guardia, C., Alba, F., Moya, C. & Cruz, S. (2003). Estudio aerobiológico e incidencia de sensibilización del polen de *Chenopodiaceae*/*Amaranthaceae* en Almería. *Polen*, 13: 227-235.
- Sáenz, C. & Gutiérrez, M. (1983). El contenido polínico de la atmósfera de Madrid. *An J Bot Madrid*, 39: 433-463.
- Sakaguchi, S. (2004). Naturally arising CD4<sup>+</sup> regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol*, 22: 531-562.
- Sánchez Mesa, J. A. (2003). *Modelos predictivos de polen de la familia Poaceae en la atmósfera basados en redes neuronales. Estudio sobre la incidencia de alergias en la población*. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, Córdoba.
- Santra, S. C., Gupta, S. & Chanda, S. (1991). Air pollutants and aeroallergens interaction. *Grana*, 30: 63-66.
- Schäppi, G. F., Monn, C., Wüthrich, B. & Wanner, H. V. (1996). Analysis of allergens in ambient aerosols: Comparison of areas subjected to different levels of air pollution. *Aerobiologia*, 12: 185-190.
- Schäppi, G. F., Taylor, P. E., Pain, M. C. F., Cameron, P. A., Dent, A. W., Staff, I. A. & Suphioglu, C. (1999). Concentrations of major grass group 5 allergens in pollen grains and atmospheric particles: implications for hay fever and allergic asthma sufferers sensitized to grass pollen allergens. *Clin Exp Allergy*, 29: 633-641.
- Schoene, K., Franz, J. T. & Masuch, G. (2004). The effect of ozone on pollen development in *Lolium perenne* L. *Environ Pollut*, 131: 347-354.

- Schwartz, J., Slater, D., Larson, T. V., Pierson, W. E. & Koenig, J. Q. (1993). Particulate air pollution and hospital emergency room visits for asthma in Seattle. *Am Rev Respir Dis*, 147: 826-831.
- Senent Sánchez, C. & Gonzalo Reques, F. (1985). *Allergología*. Ed Luzan 5. Madrid.
- Singh, A. & Singh, A. B. (1999). *Aspergillus* spp. as an important occupational risk factor among susceptible individuals. *Aerobiologia*, 15: 233-240.
- Singh, M. B. & Bhalla, P. L. (2003). Hypoallergenic derivatives of major grass pollen allergens for allergy vaccination. *Immunol Cell Biol*, 81: 86-91.
- Singh, M. B., Hough, T., Teerakulpisut, P., Avjioglu, A., Davies, S., Smith, P. M., Taylor, P., Simpson, R. J., Ward, L. D. & McCluskey, J. (1991). Isolation of cDNA encoding a newly identified major allergenic protein of ryegrass pollen: intracellular targeting to the amyloplast. *Proc Natl Acad Sci*, 88: 1384-1388.
- Smith, G. (1986). *Sampling and identifying allergenic pollen and molds. An illustrated Manual for Physicians and lab technicians*. Ed. Blewstone Press. San Antonio, Texas.
- Sofiev, M., Siljamo, P., Ranta, H., Linkosalo, T., Oksanen, A., Karppinen, A. & Kukkonen, J. (2006). From Russian to Iceland +: a complex evaluation of a large-scale pollen and chemical air pollution episode during April-May 2006. *Abstracts The 8th International Congress on Aerobiology*, 1: 169.
- Sofiev, M., Siljamo, P., Ranta, H., Linkosalo, T., Severova, E. & Pelevova, S. V. (2006). Complex evaluation of allergenic seasons in centre and northern Europe using aerobiological and phenological observations and dispersions models. *Abstracts The 8th International Congress on Aerobiology*, 1: 174.
- Solomon, W. R., Burge, H. A. & Muillenberg, M. L. (1983). Allergen carriage by atmospheric aerosol. *J Allergy Clin Immunol*, 72(5 (1)): 443-447.
- Spieksma, F. (1991). Regional European Pollen Calendars. In G. D'Amato, F. Spieksma & S. Bonini (Eds.), *Allergenic pollen and pollinosis in Europe*. Ed. Blackwell Scientific Publications. London.
- Spieksma, F. (1992). Allergological aerobiology. *Aerobiologia*, 8(1): 5-8.
- Spieksma, F. T. M., Charpin & Nolard, N. (1980). City spore concentrations in the European Economic Community (ECC). IV. Summer weed pollen (*Rumex*, *Plantago*, *Chenopodiaceae*, *Artemisia*) 1976 and 1977. *Clin Allergy*, 10: 319-329.

- Spieksma, F. T. M., Kramps, J. A., Plomp, A. & Koerten, H. K. (1991). Grass-pollen carried by the smaller micronic aerosol fraction. *Grana*, 30: 98-101.
- Spieksma, F. T. M., Nikkels, A. H. & Dijkman, J. H. (1995). Seasonal appearance of grass pollen allergen in natural, pauci-micronic aerosol of various size fractions; Relationship with airborne grass pollen concentration. *Clin Exp Allergy*, 25: 234-239.
- Spieksma, F. T. M., Van Noort, P. & Nikkels, A. H. (2000). Influence of nearby stands of *Artemisia* on street-level versus roof-top-level ratio's of airborne pollen quantities. *Aerobiologia*, 16(1): 21-24.
- Standring, R., Spackman, V. & Porter, S. J. (1987). Distribution of a major allergen of ryegrass (*Lolium perenne*) pollen between other grass species. *Int Arch Allergy Immunol*, 83(1): 96-103.
- Steenberg, P. A., Van Amsterdam, J. G. C., Vandebriel, R. J., Vos, J. G., Van Bree, L. & Van Loveren, H. (1999). Environmental and lifestyle factors may act in concert to increase the prevalence of respiratory allergy including asthma. *Clin Exp Allergy*, 29: 1304-1308.
- Stumvoll, S., Westritsching, K., Lidholm, J., Spitzauer, S., Colombo, P., Duro, G., Kraft, D., Geraci, D. & Valenta, R. (2003). Identification of cross-reactive and genuine *Parietaria judaica* pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol*, 111(5): 973-979.
- Suárez-Cervera, M., Asturias, J. A., Vega-Maray, A., Castells, T., López-Iglesias, C., Ibarrola, I., Arilla, M. C., Gabarayeva, N. & Seoane-Camba, J. A. (2005). The role of allergenic proteins Pla a 1 and Pla a 2 in the germination of *Platanus acerifolia* pollen grains. *Sex Plant Reprod*, 18: 101-112.
- Suárez-Cervera, M. & Seoane-Camba, J. A. (1983a). Estudio del contenido polínico de la atmósfera de Barcelona según un nuevo método de filtración. *Collectanea Bot*, 14: 587-615.
- Suárez-Cervera, M. & Seoane-Camba, J. A. (1983b). Estudio comparativo al microscopio electrónico de transmisión de la ultraestructura del grano de polen en algunas especies del género *Lavandula* L. *Actas APLE*, 5: 105-116.
- Suárez-Cervera, M. & Seoane-Camba, J. A. (1985). Sobre el sistema de filtración automática en Aerobiología. *An Asoc Palinol Leng Esp*, 2: 307-317.
- Suárez-Cervera, M., Takahashi, Y., Vega-Maray, A. & Seoane-Camba, J. A. (2003). Immunocytochemical localization of Cry j 1 the major allergen of *Cryptomeria*



- japonica* (Taxodiaceae) in *Cupressus arizonica* and *Cupressus sempervirens* (Cupressaceae) pollen grains. *Sex Plant Reprod*, 16: 9-15.
- Subba Reddi, C. (1974). Volume incidence of air-borne allergens. *Indian J Med Res*, 62(8): 1190-1194.
- Subiza, E. (1980). Incidencia del grano de polen en Madrid. Método volumétrico. *Allergol et Immunopathol*, Suplementum VII.
- Subiza, J. (2003). Gramíneas: Aerobiología y polinosis en España. *Allergol Immunol Clin*, 18(3): 7-11.
- Subiza, J. & al, e. (1995). Allergenic pollen and pollinosis in Madrid. *Clinical Aspects of Allergic Disease*.
- Subiza, J., Cabrera, M., Valdivieso, R., Subiza, J. L., Jerez, M., Jiménez, J. A., Narganes, M. J. & Subiza, E. (1994). Seasonal asthma caused by airborne *Platanus* pollen. *Clin Exp Allergy*, 24: 1123-1129.
- Subiza, J., Feo Brito, F., Pola, J., Moral, A., Fernández, J., Jerez, M. & Ferreira, M. (1998). Pólenes alergénicos y polinosis en 12 ciudades españolas. *Rev Esp Allergol Immunol Clin*, 13(2): 45-58.
- Suphioglu, C., Blaher, B., Rolland, J. M., McClusk, J., Schäppi, G. F., Kenrick, J., Singh, M. B. & Knox, R. B. (1998). Molecular basis of IgE-recognition of Lol p 5, a major allergen of rye-grass pollen. *Mol Immunol*, 35: 293-305.
- Suphioglu, C., Singh, M. B., Taylor, P., Bellomo, R., Holmes, P., Puy, R. & Knox, B. (1992). Mechanism of grass-pollen-induced asthma. *The Lancet*, 7: 596-572.
- Surinyach, R., Montserrat, P. & Font, R. (1956). Epidemiología de la polinosis en Barcelona. *Anales de Medicina*, 42: 36-62.
- Swoboda, I., De Weerd, N., Bhalla, P. L., Niederberger, V., Sperr, W. R., Valent, P., Kahlert, H., Fiebig, H., Verdino, P., Keller, W., Ebner, C., Spitzauer, S., Valenta, R. & Singh, M. B. (2002). Mutants of the major ryegrass pollen allergen, Lol p 5, with reduced IgE-binding capacity: candidates for grass pollen specific immunotherapy. *Eur J Immunol*, 32: 270-280.
- Tejera, M. L., Villalba, M., Batanero, E. & Rodríguez, R. (1999). Identification, isolation and characterization of Ole e 7, a new allergen of olive tree pollen. *J Allergy Clin Immunol*, 104: 797-802.
- Tobías, A., Galán, I., Banegas, J. R. & Aránguez, E. (2003). Short term effects of airborne pollen concentrations on asthma epidemic. *Thorax*, 58: 708-710.

- Tormo, R., Muñoz, A., Silva, J. & Gallardo, F. (1996). Pollen production in anemophilous trees. *Grana*, 35: 38-46.
- Torrecillas, M., García González, J. J., Palomeque, M. T., Muñoz, C., Barceló, J. M., de la Fuente, J. L., Vega Chicote, J. M. & Miranda, A. (1998). Prevalencia de sensibilizaciones en pacientes con polinosis de la provincia de Málaga. *Rev Esp Allergol Immunol Clin*, 13(2): 122-125.
- Torrecillas, M., Muñoz, C., Palomeque, M. T., de la Fuente, J. L., Barceló, J. M., Vega Chicote, J. M., Miranda, A. & García González, J. J. (1996). Patrón de sensibilización a pólenes en Málaga en 1990 y 1995. *XX Congreso de la SEAIC*, 14: 4-5.
- Umetsu, D. T., MacIntine, J. J., Akbari, O., Macaubas, C. & DeKruyff, R. H. (2002). Asthma: as epidemic of dysregulated immunity. *Nat Immunol*, 3(715-720).
- Urbach, E. & Gottlieb, P. (1950). *Alergia* (R. Surinyach, Trans.). Barcelona: Salvat Editores, S.A.
- Valdés, B., Díez, M. J. & Fernández, I. (1987). *Atlas polínico de Andalucía occidental*. Ed. Instituto de Desarrollo Regional, Universidad de Sevilla. Sevilla.
- Valladares, F. (2004). Cambio Global, un nuevo reto para la vieja Europa. *Ecosistemas*, 5/3.
- Van Ree, R., Hoffman, D., van Dijk, W., Brodard, V., Mahieu, K., Koeleman, C. A., Grande, M., van Leeuwen, W. A. & Aalberse, R. C. (1985). Lol p XI, a new major grass pollen allergen, is a member of a family of soybean trypsin inhibitor-related proteins. *J Allergy Clin Immunol*, 95(5 (1)): 970-978.
- Vázquez, L. (2003). *Estudio Aerobiológico y Fenológico de una planta de interés económico, el olivo*. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, Córdoba.
- Vega-Maray, A. M., Fernández-González, D., Valencia-Barrera, R. M., Polo, F., Seoane-Camba, J. A. & Suárez-Cervera, M. (2004). Lipid transfer proteins in *Parietaria judaica* L. pollen grains: immunocytochemical localization and function. *Eur J Cell Biol*, 83: 493-497.
- Vidal, C., Dopazo, A. & Aira, M. J. (2001). *Parietaria* pollinosis in an Atlantic area: clinical and palynological data. *J Invest Allergol Clin Immunol*, 11(2): 107-111.
- Villalba, M., Batanero, E., López-Otín, C., Sánchez, L. M., González de la Peña, M. A., Lahoz, C. & Rodríguez, R. (1993). The amino acid sequence of Ole e 1, the major allergen of olive tree (*Olea europaea*) pollen. *Eur J Biochem*, 216: 863-869.

- Villalba, M., Batanero, E., Monsalve, R. I., González de la Peña, M. A., Lahoz, C. & Rodríguez, R. (1994). Cloning and expression of Ole e 1, the major allergen from olive tree pollen. *J Biol Chem*, 269(21): 15217-15222.
- Villalba, M., López-Otín, C., Martín-Orozco, E., Monsalve, R. I., Palomino, P., Lahoz, C. & Rodríguez, R. (1990). Isolation of three allergenic fractions of the major allergen from *Olea europaea* pollen and N-terminal amino acid sequence. *Biochem Biophys Res Commun*, 172: 523-528.
- Vitousek, P. M. (1992). Global environmental change: an introduction. *Annu Rev Ecol Syst*, 23: 1-14.
- Vogel, H., Vogel, B. & Kottmeier, C. (2006). Modelling of pollen dispersion with a weather forecasting model system. *Abstracts The 8th International Congress on Aerobiology*, 1: 167.
- Weber, R. W. (2003). Patterns of pollen cross-allergenicity. *J Allergy Clin Immunol*, 112: 229-239.
- Whalter, G. R., Burga, C. A. & Edwards, P. J. (2001). *"Fingerprints" of Climate Change: Adapted Behaviour and Shifting species ranges*. Ed. Springer. New York.
- Wheeler, A. W. (1992). Hipersensitivity to the allergen of the pollen from the olive tree (*Olea europaea*). *Clin Exp Allergy*, 22: 1052-1057.
- Wheeler, A. W., Hickman, B. E. & Fox, B. (1990). Heterogeneity of a major allergen from olive (*Olea europaea*) pollen. *Mol Immunol*, 27: 631-636.
- Wielgolaski, F. E. (1999). Staring dates and basic temperatures in phenological observations of plants. *Int J Biometeorol*, 42: 158-168.
- Wissenbach, M., Holm, J., Van Neerven, R. J. J. & Ipsen, H. (1998). Grass pollen allergen: new developments. *Clin Exp Allergy*, 28: 784-787.
- Wu, P. C., Tsai, J. C., Li, F. C., Lung, S. C. & Su, H. J. (2004). Increased levels of ambient fungal spores in Taiwan are associated with dust events from China. *Atmospheric Environment*, 38: 4879-4886.
- Zachos, J., Pagani, M., Sloan, L., Thomas, E. & Billups, K. (2001). Trends, rhythms and aberrations in global climate 65 ma to present. *Science*, 292: 686-690.