

# EVALUACIÓN *IN SILICO* DE LA INTERACCIÓN MOLECULAR ENTRE POLIFENOLES Y PROFILINAS ALERGÉNICAS

*IN SILICO* EVALUATION OF THE MOLECULAR INTERACTION BETWEEN POLYPHENOLS AND ALLERGENIC PROFILINS

Haruna L. Barazorda Ccahuana<sup>1</sup>, María Isabel Herrera Valdivia<sup>1</sup>, Diego Ernesto Valencia<sup>1</sup>,  
Badhin Gómez Valdez<sup>1</sup>

(1) Centro de Investigación en Ingeniería Molecular del Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Católica de Santa María

**RESUMEN:** Algunas profilinas vegetales son consideradas potentes alérgenos en pacientes sensibilizados al polen y/o alimentos, por su alta homología presentan reactividad cruzada como resultado de la alta identidad en la secuencia de aminoácidos. En la actualidad, se viene investigando la búsqueda de inhibidores de estas proteínas. El objetivo fue analizar el acoplamiento molecular entre polifenoles y profilinas de origen vegetal reportadas como alérgenos. Se han empleado métodos de la biología computacional: análisis filogenético mediante inferencia Bayesiana, modelamiento estructural por modelado por homología, y acoplamiento molecular. Los resultados muestran que existe una relación filogenética de ancestro común, por lo que es probable relacionar el análisis evolutivo con la reactividad cruzada entre especies con alta homología. Los valores del z-score y del ploteo de Ramachandran validaron la calidad de las estructuras terciarias modeladas; quedando aptas para el acoplamiento molecular. Se encontraron 14 polifenoles que se ubicaron en el mismo sitio de acción, las menores energías de acoplamiento se obtuvieron con las profilinas Zea m 12 (Zea mays) y Ara h 5 (Arachys hypogaea). Los hallazgos obtenidos en esta investigación nos dan una idea de lo que podría ocurrir en la nanoescala. Los polifenoles pueden llegar a ser una alternativa como aditivos al procesamiento de alimentos de origen vegetal para controlar reacciones alérgicas en nuestro organismo.

**Palabras clave:** Profilinas, polifenoles, biología computacional.

**ABSTRACT:** Some plant profilins are considered as potent allergens in patients sensitized to pollen and/or food, because of their high homology they show cross reactivity as a result of their high identity in their amino acid sequence. At present, the search for inhibitors of these proteins is being investigated. The objective was to analyze the molecular interaction between polyphenols and plant profilins reported as allergens. We use computational biology methods: Bayesian inference of phylogeny, structural modeling, and molecular docking. The results show that there is a common ancestor phylogenetic relationship, so it is likely to relate the evolutionary analysis with cross reactivity between species with high homology. Z-score and Ramachandran plot values validated the quality of the modeled tertiary structures, they were ready for the molecular interaction. We found 14 polyphenols that were located in the same site of action, the minor ones were related to the profilins Zea m 12 (Zea mays) and Ara h 5 (Arachys hypogaea). The findings in this research give us an idea of what could happen at the nanoscale level. Polyphenols can become an alternative as additives in food processing to control allergic reactions.

**Keywords:** Profilin, polyphenol, computational biology.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades alérgicas se vienen incrementando en todas las regiones del mundo, una de las más considerables es la alergia alimentaria mediada por Inmunoglobulina E (1, 2).

Una de las proteínas involucradas en el proceso alérgico debido al consumo frutas y vegetales son las profilinas, proteínas de 12 a 16 kDa presentes en todas las células eucariotas; cuya función es polimerizar la actina a nivel celular. En 1991, Valenta y colaboradores identificaron a la primera profilina alérgica (Bet v 2), encontrada en el polen de abedul (3); posteriormente, consideraron a este grupo de proteínas funcionales como panalérgenos, dando explicación a la presencia de reacciones cruzadas en pacientes con alergia a pólenes y frutas de plantas de diferentes familias (4).

Según la Organización Mundial de la Salud y la International Union of Immunological Studies (Unión Internacional de Estudios Inmunológicos) - WHO/IUIS se

han reconocido 48 profilinas como alérgenos, de los cuales 25 son de origen alimentario (<http://www.allergen.org>).

Las tasas de sensibilización en la población son variadas según la zona geográfica, fluctuando entre 16% a 50% en pacientes con Síndrome de Alergia Oral (SAO) (5). La indicación a los pacientes para evitar estos problemas consiste en educación alimentaria para evitar el consumo del alérgeno que puede estar en alguna fruta o alimento procesado (2); también se practican terapias inmunomoduladoras en los pacientes con alergias específicas (2, 6, 7).

El procesamiento de alimentos ha involucrado diferentes técnicas para disminuir el potencial alérgico, el cual puede incluir etapas de: almacenamiento, preparación, separación, aislamiento o purificación. Se ha demostrado que algunos procesos pueden influenciar, pero no eliminar por completo el potencial alérgico de las proteínas, específicamente algunos disminuyen la interacción de la proteína alérgica con la inmunoglobulina E (8).

Los polifenoles son moléculas que forman parte de los metabolitos secundarios de una gran diversidad de plantas en todo el mundo (9).

Correspondencia:

Haruna Luz Barazorda Ccahuana  
Teléfono: +51-987790657  
E-mail: hbarazorda@ucsm.edu.pe

El interés de la investigación en estas moléculas ha crecido considerablemente durante las últimas décadas; debido fundamentalmente al descubrimiento de sus propiedades antioxidantes y anticancerígenas (10), su nivel de acción se da modulando enzimas y receptores proteicos (11).

Al unirse a las proteínas pueden formar complejos insolubles, modificando funciones en las proteínas; esta cualidad puede emplearse para el desarrollo de moduladores o inhibidores de proteínas.

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la relación evolutiva entre 10 especies de proflinas vegetales con el fin de entender si existe alguna relación con el análisis filogenético y la reactividad cruzada, así mismo analizar la relación estructural entre estas y la predicción de posibles lugares de unión con 25 polifenoles como posibles inhibidores, mediante métodos de biología computacional.

## METODOLOGÍA

### Obtención de nucleotídicas de las proteínas

Se seleccionaron arbitrariamente 10 especies de plantas (alérgenos alimentarios y no alimentarios) con capacidad alérgica verificada (<http://www.allergen.org/>).

De los cuales se obtuvo sus secuencias nucleotídicas de la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) basados en el *GenBank Nucleotide* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>); correspondientes a: *Apium graveolens* (apio, ID: AF129423), *Betula pendula* (abedul, ID: M65179), *Chenopodium album* (fresno, ID: AY082337), *Cynodon dactylon* (césped, ID: Y08390), *Zea mays* (maíz, ID: AF201459), *Arachys hypogaea* (maní, ID: AF059616), *Citrus sinensis* (naranja, ID: AJ865015), *Musa acuminata* (plátano, ID: AF377948), *Glycine max* (soya, ID: AJ223982) y *Solanum lycopersicum* (tomate, ID: Aj417553).

### Análisis filogenético

Las 10 secuencias nucleotídicas fueron introducidas para el análisis de Índice de saturación en DAMBE (Data Analysis in Molecular Biology and Evolution) (12), utilizando el test introducido por Xia para medir el Índice de saturación de Sustitución (Iss), con la finalidad de valorar si las secuencias son útiles para análisis filogenético.

El alineamiento múltiple de las secuencias se realizó mediante el método iterativo MUSCLE (Multiple sequence alignment by log expectation) (13), integrado en el software de Mesquite v3.04 (14). Con el programa Gblocks (15) se eliminaron posiciones de homología dudosa donde existían regiones muy variables o con un gran número de brechas (gaps), además se eliminaron sitios mal alineados y regiones divergentes.

Para la reconstrucción filogenética se utilizó el análisis de inferencia Bayesiana con el programa MrBayes v3.1 (16, 17).

Las probabilidades posteriores de cada rama del árbol se aproximaron utilizando el método de Cadenas de Markov y Monte Carlo (MCMC) con el algoritmo Metropolis Hastings (18), para condicionar la lectura contando la frecuencia de árboles que presentan la misma correspondencia de taxones durante el curso del análisis.

El modelo utilizado en el análisis filogenético fue el modelo general de tiempo reversible con una proporción de sitios invariables y una distribución de forma gama (GTR + I +  $\gamma$ ).

El cálculo del análisis se hizo a 100 millones de generaciones mediante dos cálculos independientes, se usó un burn in relativo de 25% para el diagnóstico.

La visualización del árbol se hizo en el programa FigTree v1.4.0 (19).

### Modelamiento por Homología

La estructura terciaria fue obtenida por modelamiento por homología en el servidor Swiss-Model (<https://swissmodel.expasy.org/>). Los códigos de acceso de las secuencias aminoacídicas fueron: AAD29409 (*Apium graveolens*), AAA16522 (*Betula pendula*), AAL92870 (*Chenopodium album*), CAA69670 (*Cynodon dactylon*), AAG35601 (*Zea mays*), AAD55587 (*Arachys hypogaea*), CAI23765 (*Citrus sinensis*), AAK54834 (*Musa acuminata*), CAA11756 (*Glycine max*), CAD10377 (*Solanum lycopersicum*).

Las estructuras obtenidas se validaron utilizando el servidor ProSA mediante el valor del Z-score, el que nos mide la calidad general del modelo (20). Además, se empleó el ploteo de Ramachandran para validar los modelos estructurales usando el servidor RAMPAGE (<http://mordred.bioc.cam.ac.uk/~rapper/rampage.php>).

### Evaluación del pocket (bolsillo)

Para la detección del bolsillo o *pocket* se utilizó el servidor PockDrug (<http://pockdrug.rpbs.univ-paris-diderot.fr>) (21), prediciéndose los dominios más drugables y el volumen de la cavidad del bolsillo. Posteriormente, la generación de conglomerados y residuos interactuantes se realizó en base al uso de la cuadrícula (*grilla*) obtenida por medio de la búsqueda del sitio de unión y porcentaje de drugabilidad.

### Obtención y análisis de los ligandos

Los ligandos fueron compuestos fitoquímicos seleccionados en base a la revisión publicada por Manach y col. (22), quienes evaluaron a polifenoles distribuidos en alimentos. Se hizo la búsqueda de las estructuras de los 25 polifenoles seleccionados en la base de datos PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/search.cgi>).

Se analizó la Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad (ADMET) de todos los compuestos seleccionados.

Este análisis se ha convertido en uno de los temas más importantes para evaluar la disposición de un compuesto en el organismo. Se utilizó el servidor SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>) (23).

### Acoplamiento Molecular

Se realizó el acoplamiento y el cribado virtual (*virtual screening*) usando el programa iGEMDOCK (24) (<http://gemdock.life.nctu.edu.tw/dock/igemdock.php>); haciendo interactuar a los 25 polifenoles con las 10 proflinas vegetales a 300 iteraciones, 80 generaciones y 10 soluciones. Esta aproximación analiza la orientación de compuestos frente a los receptores utilizando patrones para generar un conjunto enfocado.

Se utilizó Chimera UCSF como visualizador Chimera UCSF —(25).

## RESULTADOS

### Análisis filogenético

El análisis de saturación de sustitución de los alineamientos nucleotídicos mostró valores de  $I_{ss} = 0.3026$  y  $I_{ss}$  crítico = 0.7176 asumiendo una topología simétrica, y 0.5770 para una topología asimétrica; esto nos indica que las secuencias han experimentado una pequeña saturación de sustitución; por lo tanto, pueden ser usadas en reconstrucción filogenética.

Las diez secuencias de profilinas alineadas en Gblock nos permitieron obtener 388 posiciones conservadas de 1063 originales, equivalente al 36%.

En base a este proceso de conservación se realizó el alineamiento de las secuencias con el método MUSCLE.

El análisis filogenético estableció la frecuencia y tasa de cambio entre los nucleótidos que conforman la secuencia dentro del alineamiento. El proceso de muestreo con MCMC fue usado para estimar la genealogía ancestral, mostrándose una distancia de 0.3 cambios esperados por sitio (Figura 1).

Adicionalmente, nos presenta bajos valores de *bootstrap* para la mayoría de nodos, donde la topología de los árboles presentaron diferentes tasas de cambio de cada subunidad dentro de las especies relacionado con la longitud de las ramas.

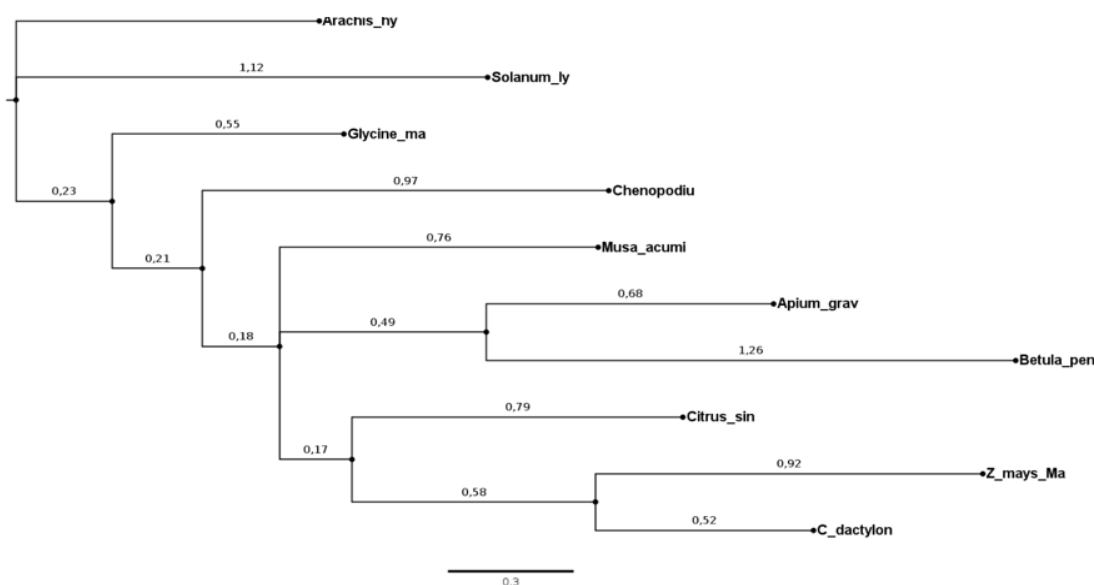


Fig. 1. Árbol filogenético de las profilinas evaluadas

### Análisis de Estructuras

El análisis ADMET (**Tabla 1**) nos brinda las siguientes propiedades: LogP (coeficiente de partición octanol-agua), área de superficie polar topológica (TPSA), solubilidad, absorción gastrointestinal, capacidad inhibitoria de los citocromos CYP1A2, CYP2C19, CYP3A4 y cumplimiento de la Regla de Lipinski.

Todos los compuestos presentaron un LogP menor a 2.24. Los valores del TPSA fluctuaron entre 57.53 (ácido 4-hidroxibenzóico) y 164.75 (ácido clorogénico).

Cuatro compuestos tuvieron solubilidad moderada: apigenina, daidzeína, genisteína y gliciteína; el resto presentó optima solubilidad. La absorción intestinal fue alta en todos los compuestos a excepción del ácido clorogénico y la miricetina, quienes presentaron absorción baja.

Las 10 profilinas analizadas tuvieron alta identidad (80% - 100%) respecto al molde utilizado por el servidor, la cobertura presenta estuvo entre 98% - 100%.

En la **tabla 2** se describen las características del modelamiento por homología. Las plantillas utilizadas tuvieron una resolución entre 1.7 – 2.2 Å, obtenidas por difracción de rayos x; además, los modelos presentaron alta calidad de cadena, lo que ayuda en la generación de modelos estructurales.

En la **Figura 2** se muestra la estructura tridimensional de las profilinas. Se observan las características de su estructura secundaria, como láminas beta (color azul) en número de 6 a 7; esta forma secundaria nos indica la alta estabilidad estructural que poseen las profilinas.

Esta característica puede permitir a las profilinas resistencia a altas temperaturas y a pH bajos, como el que tiene el jugo gástrico. Por otro lado, la estructura de las profilinas es similar en las diferentes especies, a pesar de que no comparten un ancestro común entre ellas.

**Tabla 1.** Características y análisis ADMET de los 25 polifenoles y análisis ADMET.

Compuesto	PubChem CID	logP	TPSA*	Solubilidad	Absorción gastrointestinal	Regla de Lipinski
Ácido <i>caféico</i>	689043	0.93	77.76	Sí	Alta	Sí
Ácido 4-hidroxibenzóico	135	1.05	57.53	Sí	Alta	Sí
<i>Apigenina</i>	5280443	2.11	90.9	Moderada	Alta	Sí
Ácido <i>clorogénico</i>	1794427	-0.38	164.75	Sí	Baja	Sí
<i>Catequina o-cianidanol</i>	9064	0.85	110.38	Sí	Alta	Sí
<i>Cianidina</i>	128861	0.56	114.29	Sí	Alta	Sí
<i>Daidzeina</i>	5281708	2.24	70.67	Moderada	Alta	Sí
Catión <i>delfinidina</i>	128853	0.13	134.52	Sí	Alta	Sí
Ácido 3,4 <i>dihydroxibenzóico</i>	72	0.65	77.76	Sí	Alta	Sí
<i>Epicatequina</i>	72276	0.85	110.38	Sí	Alta	Sí
Ácido <i>ferúlico</i>	445858	1.36	66.76	Sí	Alta	Sí
Ácido <i>gálico</i>	370	0.21	97.99	Sí	Alta	Sí
<i>Genisteina</i>	5280961	2.04	90.9	Moderada	Alta	Sí
<i>Gliciteina</i>	5317750	2.3	79.9	Moderada	Alta	Sí
<i>Kaempferol</i>	5280863	1.56	111.13	Sí	Alta	Sí
<i>Quercetina</i>	5280343	1.23	131.36	Sí	Alta	Sí
<i>Miricetina</i>	5281672	0.79	151.59	Sí	Baja	Sí
<i>Hesperetina</i>	72281	1.91	96.22	Sí	Alta	Sí
<i>Naringenina</i>	932	1.84	86.99	Sí	Alta	Sí
<i>Pelargonidina</i>	440832	0.73	94.06	Sí	Alta	Sí
<i>Peonidina</i>	441773	0.76	103.29	Sí	Alta	Sí
<i>Malvidina</i>	159287	0.71	112.52	Sí	Alta	Sí
Ácido <i>p-cumárico</i>	637542	1.26	57.53	Sí	Alta	Sí
Ácido <i>sinápico</i>	637775	1.31	75.99	Sí	Alta	Sí
<i>Luteolina</i>	5280445	1.73	111.13	Sí	Alta	Sí

\*TPSA: área de superficie polar topológica

Tabla 2. Características del Modelado por homología

Profilina	Plantilla	% de identidad*	Resolución (Å) <sup>+</sup>	Cobertura	z-score	Ploteo de Ramachandran		
						Favorecidas (%)	Permitidas (%)	Fuera (%)
Api g 4	5NZZ	81.82	1.70	0.99	-6.31	93.9	6.1	0
Ara h 5	4ESP	100	1.10	1	-6.53	98.4	1.6	0
Zea m 12	5FEF	100	2.20	0.99	-7.18	97.7	2.3	0
Bet v 2	5NZZ	96.21	1.70	0.99	-6.19	96.2	3.8	0
Sola l 1	5FDS	87.6	1.90	0.98	-6.66	97.6	2.4	0
Gly m 3	4ESP	87.6	1.10	0.98	-6.18	98.4	1.6	0
Mus a 1	5NZZ	80	1.70	0.99	-7.01	93.8	5.5	0.8
Cit s 2	5FDS	81.54	1.90	0.99	-6.79	96.9	3.1	0
Cyn d 12	5FDS	81.54	1.90	0.99	-7.53	95.3	3.1	1.6
Che a 2	5FDS	80.77	1.90	0.99	-7.4	97.7	2.3	0

\*Porcentaje de identidad con la estructura molde,

+Resolución de la plantilla obtenida por rayos X

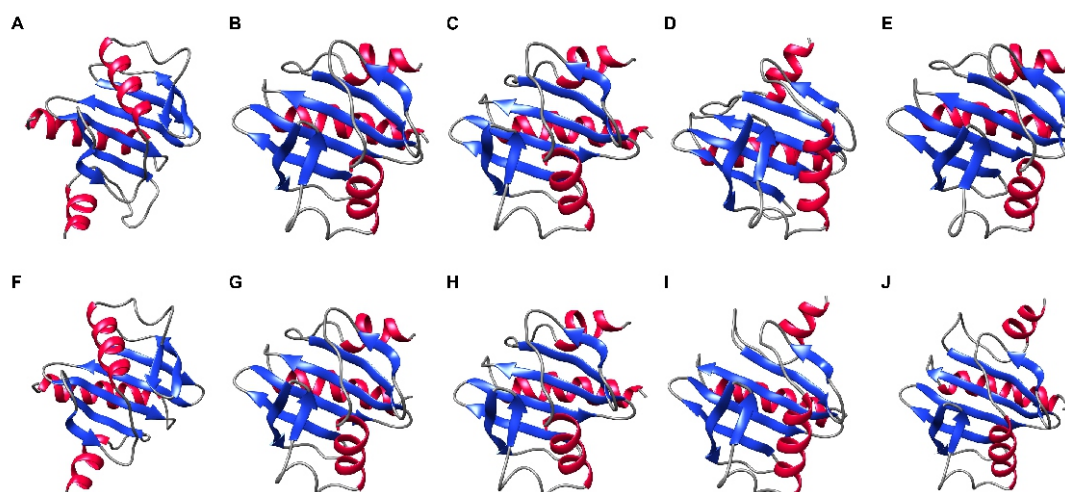


Fig. 6. Estructura tridimensional de las profilinas modeladas. Api g 4 (A), Bet v 2 (B), Che a 2 (C), Cyn d 12 (D), Zea m 12 (E), Ara h 5 (I), Cit s 2 (J), Mus a 1 (K), Gly m 3 (L), Sola l 1 (M).

### Análisis de sitios activos

El análisis estadístico del servidor PockDrug combina tres propiedades (hidrofobicidad, geometría y aromaticidad) para predecir la drugabilidad de los sitios activos de las proteínas. Los sitios activos presentaron un porcentaje de drugabilidad que fluctuó entre 0.69 a 0.89, considerando un puntaje mayor a 0.5 como drugable.

Los volúmenes de la cavidad fluctuaron entre 400 y 640. En la **Tabla 3** se muestran al mejor bolsillo o *pocket* de cada profilina, la profilina del *Apium graveolens* presentó el menor puntaje de drugabilidad (0.69) en comparación con las demás.

**Tabla 3. Propiedades de los bolsillos o pocket en las profilinas vegetales evaluadas**

<u>Profilina</u>	<u>Volumen de cavidad</u>	<u>Hidrofobicidad</u>	<u>Residuos Polares</u>	<u>Residuos aromáticos</u>	<u>Número de residuos</u>	<u>Probabilidad Drugabilidad</u>
Api g 4	580.78	-0.03	0.33	0.07	15	0.69 ± 0.04
Ara h 5	632.2	0.4	0.25	0.06	16	0.86 ± 0.02
Cyn d 12	448.53	0.51	0.21	0.07	14	0.89 ± 0.01
Che a 2	634.98	0.4	0.25	0.06	16	0.86 ± 0.02
Cit s 2	505.98	0.4	0.27	0.07	15	0.86 ± 0.02
Mus a 1	463.12	0.06	0.29	0.07	14	0.73 ± 0.04
Gly m 3	632.44	0.4	0.25	0.06	16	0.86 ± 0.02
Sola l 1	636.87	0.21	0.31	0.06	16	0.79 ± 0.03
Bet v 2	454	0.3	0.29	0.07	14	0.83 ± 0.02
Zea m 12	627.67	0.4	0.25	0.06	16	0.86 ± 0.02

#### Estimación de la afinidad de unión

Los polifenoles con mejor capacidad de acoplamiento fueron 14 de 25, los que se acoplaron de forma simultánea entre las 10 profilinas de estudio. Las energías de acoplamiento se muestran en la **Tabla 4**.

Las interacciones son altamente probables que ocurran en la naturaleza. Así mismo las profilinas del *Zea mays* (Zea m 12) y del *Arachys hypogaea* (Ara h 5) fueron las que menor energía de acoplamiento obtuvieron.

**Tabla 4. Energía Atómica de Contacto de la interacción entre los polifenoles y las profilinas. Datos reportados en kcal/mol.**

	<u>Api g 4</u>	<u>Ara h 5</u>	<u>Cyn d 12</u>	<u>Che a 2</u>	<u>Cit s 2</u>	<u>Mus a 1</u>	<u>Gly m 3</u>	<u>Sola l 1</u>	<u>Bet v 2</u>	<u>Zea m 12</u>
<u>Ácido caféico</u>	-40.6	-62.3	-31.2	-35.4	-32.1	-36.9	-41.5	-34.5	-36.2	-65.6
<u>Catequina</u>	-54.3	-87.5	-44.5	-51.1	-48.6	-51.5	-54.7	-50.7	-47.3	-87.5
<u>Cianidina</u>	-51.5	-83.4	-44.3	-50.6	-45.3	-49.7	-52.1	-50.1	-49.9	-84.8
<u>Daidzeina</u>	-47.6	-78.6	-40.4	-43.6	-43.8	-44.4	-42.8	-43.6	-42.7	-88.5
<u>Ácido 4-dihidroxibenzoico</u>	-37.2	-59.6	-29.8	-35.6	-29.0	-35.3	-31.4	-31.5	-34.4	-67.4
<u>Ácido ferúlico</u>	-51.2	-62.3	-29.7	-33.3	-30.7	-49.5	-32.0	-33.5	-48.8	-65.5
<u>Gliciteína</u>	-56.8	-80.8	-40.1	-44.4	-41.7	-54.2	-42.8	-44.5	-53.7	-87.0
<u>Kaempferol</u>	-53.9	-85.7	-48.4	-51.7	-49.2	-51.2	-48.8	-52.3	-49.2	-87.7
<u>Luteolina</u>	-51.6	-79.0	-45.9	-52.2	-48.2	-49.9	-49.3	-1.2	-49.4	-87.4
<u>Miricetina</u>	-55.5	-89.8	-44.0	-49.9	-44.4	-52.9	-56.8	-49.3	-49.8	-89.3
<u>Naringenina</u>	-51.1	-80.4	-43.2	-47.4	-43.9	-49.1	-44.5	-47.3	-51.2	-85.0
<u>Ácido p-curámico</u>	-48.0	-59.5	-34.4	-38.2	-37.1	-43.6	-36.9	-38.4	-41.4	-65.7
<u>Quercetina</u>	-55.1	-89.2	-43.4	-49.4	-44.3	-52.6	-56.4	-49.3	-50.1	-88.9
<u>Ácido sinápico</u>	-52.2	-74.9	-40.4	-43.7	-40.8	-45.8	-42.2	-44.0	-51.4	-71.2

## DISCUSIÓN

El estudio de las profilinas ha venido cobrando relevancia durante los últimos años debido a su potencial alergénico. La variabilidad geográfica de la prevalencia de la sensibilización por este tipo de proteína ha dificultado establecer un patrón alergénico definido (26). La sensibilización a causa de las profilinas puede darse debido a la sensibilización de un alérgeno mayor; sin embargo, en estudios que buscan identificar el alérgeno primario se ha encontrado que la sensibilización primaria se da en base a dos o más fuentes, que por lo general son profilinas de polen (1, 27-30).

Se han identificado profilinas en una gran variedad de plantas, reportadas hasta el momento más de 800 secuencias de profilinas con sus isoformas de diferentes organismos; de las cuales 48 están reportadas como alérgenos, de ellos 25 son alérgenos de origen alimentario.

Uno de los retos en la investigación del tema, es el desconocimiento de la totalidad de la correlación entre la clínica presentada por los pacientes alérgicos y los principales alérgenos a los que se encuentra sensibilizado (31). Uno de los métodos para la identificación de la alergia alimentaria es mediante la medición de inmunoglobina E, la cual nos puede dar cierto grado de especificidad del alérgeno (32). Uno de los puntos clave es la evaluación de reacciones cruzadas entre aeroalérgenos y alérgenos alimentarios, para llevar un adecuado tratamiento, seguimiento y control de los pacientes (29). Pese a que existen pruebas de sensibilización específica, no es posible determinar la totalidad de reacciones cruzadas, además del constante incremento de los reportes de alérgenos (33). A la fecha no se ha logrado identificar completamente si la reactividad cruzada que existe entre estas especies está relacionada con su relación evolutiva o estrictamente relacionada con su relación estructural.

Por ello, al realizar el análisis de evolución de las 10 profilinas vegetales, nos mostró que existen leves diferencias en los soportes estadísticos, indicándonos que la mayoría de la especie se encuentra relacionada filogenéticamente por un ancestro común.

Estas especies pertenecen a taxones diferentes clasificados según el sistema de Cronquist: Magnoliopsida (cuya circunscripción coincide con lo que conocemos como dicotiledóneas) en las que se encuentran las especies: *Chenopodium album*, *Glycine max*, *Apium graveolens*, *Arachis hypogaea*, *Solanum lycopersicum*, y *Betula pendula*, así como el otro taxón Liliopsida (monocotiledóneas) como *Cynodon dactylon*, *Musa acuminata*, y *Zea mays* los cuales forman grupos monofiléticos que muestran una relación evolutiva común. Por lo que en este ensayo hemos encontrado que la relación evolutiva entre *Betula pendula* y *Apium graveolens* es cercana, ubicadas dentro de un clado y así mismo en el ensayo experimental propuesto por Scheurer y colaboradores (34) reportan a estas como especies que generan reactividad cruzada entre ellas.

Otro hallazgo importante es el mencionado por Popescu en el 2015 en el que encuentran una relación de reactividad cruzada entre aeroalérgenos como es el caso de profilinas provenientes de pólenes con frutas (29), en nuestro caso vemos que *Chenopodium album* al ser un aeroalérgeno comparte ancestro común con profilinas de frutas como es el caso del plátano (*Musa acuminata*) y el apio (*Apium graveolens*).

En cuanto el análisis de relación estructural de las profilinas, estas mostraron la presencia de estructura secundaria altamente conservada, láminas beta que le otorgan una alta estabilidad estructural frente a condiciones de estrés como temperatura, acidez, etc. Desde hace más de dos décadas empleando diferentes métodos físico-químicos para el tratamiento de alimentos en la industria alimentaria de frutas y vegetales para menguar su potencial alergénico (35).

Al ser la inmunoglobina E uno de los principales implicados en la adquisición de alergias alimentarias (36), el objetivo de disminuir el potencial alergénico es limitando este contacto. Se han demostrado en ciertas proteínas que al alterar mediante procesos fisicoquímicos se altera su unión a la IgE (37), sin embargo, no únicamente pueden darse efectos favorables; por ejemplo el incremento de temperatura de la  $\alpha$ -lactoalbúmina expone epítomos de unión a IgE, incrementando su potencial alergénico (38). También se han experimentado con compuestos específicos, como el estudio de Chung y colaboradores, donde demostraron que adicionar polifenol oxidasa/ácido cafeico reduce el potencial alergénico en los alérgenos del maní (39).

Nosotros, considerando disminuir el efecto alérgico propusimos la evaluación de 25 polifenoles con propiedades biológicas, que puedan ayudar a inhibir la actividad de estas profilinas alergénicas y de esta forma frenar su acción alergénica.

Los resultados nos muestran que 14 modelos de polifenoles presentaron ciertas características estructurales similares entre ellas, usando las funciones de puntuación, el acoplamiento nos mostró la afinidad y la actividad de los polifenoles frente a las profilinas vegetales.

La predicción del acoplamiento identificó varias energías de enlace, tales como enlace de hidrógeno (H-Bond), interacción de Van Der Waals (VDW) e interacción electrostática.

Los resultados obtenidos del acoplamiento nos mostraron una tendencia que varía desde -1.2 Kcal/mol a -89.8 Kcal/mol de energía de acoplamiento, siendo el de mayor energía el más apto para un proceso de acoplamiento espontáneo. La profilina que mejor afinidad tuvo con la mayoría de los polifenoles fue la profilina del *Zea m 12* (maíz) seguida de la *Ara h 5* (maní). Por otro parte el de menor afinidad fue el de la profilina de césped. Los estudios mediante el empleo de técnicas de biología computacional son útiles para generar primeras aproximaciones sin la necesidad de recurrir a salas de laboratorio experimental y disminuyendo el tiempo de cálculo.

Este estudio es uno de los primeros en proponer compuestos fenólicos como posibles inhibidores de profilinas con propiedades alergénicas.

## CONCLUSIÓN

El análisis de la relación evolutiva de especies de profilinas con una alta homología podría una estrategia para relacionarla con la reactividad cruzada, es así que nuestros análisis se demuestran que la reactividad cruzada que existe actualmente entre *Betula pendula* y *Apium graveolens* es debido a su relación evolutiva muy cercana.

La primera aproximación que hemos realizado sobre el análisis del acoplamiento con los polifenoles nos mostró que la profilina Zea m 12 y Ara h 5 mostraron mejor afinidad por los ligandos, así mismo también hemos comprobado que estos acoplamientos generaron una energía de interacción altamente favorable

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Fondo Interno de la UCSM de resolución 20179-2013

## REFERENCIAS

- [1]. Asero R, Tripodi S, Dondi A, Businco ADR, Sfika I, Bianchi A, et al. Prevalence and clinical relevance of IgE sensitization to profilin in childhood: a multicenter study. *International archives of allergy and immunology*. 2015;168(1):25-31.
- [2]. Dunlop JH, Keet CA. Epidemiology of food allergy. *Immunology and allergy clinics of North America*. 2017.
- [3]. Valenta R, Duchene M, Pettenburger K, Sillaber C, Valent P, Bettelheim P, et al. Identification of profilin as a novel pollen allergen; IgE autoreactivity in sensitized individuals. *Science*. 1991;253(5019):557-60.
- [4]. Valenta R, Duchene M, Ebner C, Valent P, Sillaber C, Deviller P, et al. Profilins constitute a novel family of functional plant pan-allergens. *Journal of Experimental Medicine*. 1992;175(2):377-85.
- [5]. Scala E, Abeni D, Guerra EC, Locanto M, Pirrotta L, Meneguzzi G, et al. Co-sensitization to Profilin is associated with less severe reactions to Foods in ns LTP s-and Storage Proteins-Reactors and with less severe respiratory allergy. *Allergy*. 2018.
- [6]. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: a review and update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and management. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2018;141(1):41-58.
- [7]. National Academies of Sciences E, Medicine. Finding a path to safety in food allergy: assessment of the global burden, causes, prevention, management, and public policy: National Academies Press; 2017.
- [8]. Verhoeckx KC, Vissers YM, Baumert JL, Faludi R, Feys M, Flanagan S, et al. Food processing and allergenicity. *Food and Chemical Toxicology*. 2015;80:223-40.
- [9]. Heimler D, Romani A, Ieri F. Plant polyphenol content, soil fertilization and agricultural management: a review. *European Food Research and Technology*. 2017;243(7):1107-15.
- [10]. Namvar F, Mohamad R, Baharara J, Zafar-Balanejad S, Fargahi F, Rahman HS. Antioxidant, antiproliferative, and antiangiogenesis effects of polyphenol-rich seaweed (*Sargassum muticum*). *BioMed research international*. 2013;2013.
- [11]. Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*. 2000;52(4):673-751.
- [12]. Xia X, Xie Z. DAMBE: software package for data analysis in molecular biology and evolution. *Journal of heredity*. 2001;92(4):371-3.
- [13]. Edgar RC. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic acids research*. 2004;32(5):1792-7.
- [14]. Maddison W, Maddison D. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis v3.04. 2015. 2015.
- [15]. Castresana J. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molecular biology and evolution*. 2000;17(4):540-52.
- [16]. Huelsenbeck JP, Ronquist F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*. 2001;17(8):754-5.
- [17]. Ronquist F, Huelsenbeck JP. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*. 2003;19(12):1572-4.
- [18]. Chib S, Greenberg E. Understanding the metropolis-hastings algorithm. *The american statistician*. 1995;49(4):327-35.
- [19]. Rambaut A. FigTree v1.4.0. University of Oxford. Oxford, UK Website <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>; 2012.
- [20]. Wiederstein M, Sippl MJ. ProSA-web: interactive web service for the recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. *Nucleic acids research*. 2007;35(suppl\_2):W407-W10.
- [21]. Hussein HA, Borrel A, Geneix C, Petitjean M, Regad L, Camproux A-C. PockDrug-Server. *Nucleic Acids Research*. 2015.
- [22]. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*. 2004;79(5):727-47.
- [23]. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*. 2017;7:42717.
- [24]. Hsu K-C, Chen Y-F, Lin S-R, Yang J-M. iGEMDOCK: a graphical environment of enhancing GEMDOCK using pharmacological interactions and post-screening analysis. *BMC bioinformatics*. 2011;12(1):S33.
- [25]. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, et al. UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of computational chemistry*. 2004;25(13):1605-12.
- [26]. Barber D, De La Torre F, Feo F, Florido F, Guardia P, Moreno C, et al. Understanding patient sensitization profiles in complex pollen areas: a molecular epidemiological study. *Allergy*. 2008;63(11):1550-8.
- [27]. Villalta D, Asero R. Analysis of the allergenic profile of patients hypersensitive to pollen pan-allergens living in two distinct areas of northern Italy. *European annals of allergy and clinical immunology*. 2011;43(2):54.
- [28]. Asero R. Looking for sensitization profiles in different populations by recombinant allergens. *International archives of allergy and immunology*. 2014;164(2):106-8.
- [29]. Popescu F-D. Cross-reactivity between aeroallergens and food allergens. *World journal of methodology*. 2015;5(2):31.
- [30]. Zimmer J, Döring S, Strecker D, Trösemeyer J, Hanschmann K, Führer F, et al. Minor allergen patterns in birch pollen allergen products—A question of pollen? *Clinical & Experimental Allergy*. 2017;47(8):1079-91.
- [31]. Wölbing F, Kunz J, Kempf W, Grimm C, Fischer J, Biedermann T. The clinical relevance of birch pollen profilin cross-reactivity in sensitized patients. *Allergy*. 2017;72(4):562-9.
- [32]. Santos AF, Brough HA. Making the most of in vitro tests to diagnose food allergy. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2017;5(2):237-48.
- [33]. Worm M, Jappe U, Kleine-Tebbe J, Schäfer C, Reese I, Saloga J, et al. Food allergies resulting from immunological cross-reactivity with inhalant allergens. *Allergo journal international*. 2014;23(1):1-16.
- [34]. Scheurer S, Wangorsch A, Hausteiner D, Vieths S. Cloning of the minor allergen Api g 4 profilin from celery (*Apium graveolens*) and its cross-reactivity with birch pollen profilin Bet v 2. *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2000;30(7):962-71.
- [35]. Besler M, Steinhart H, Paschke A. Stability of food allergens and allergenicity of processed foods. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 2001;756(1-2):207-28.
- [36]. Johnston LK, Chien KB, Bryce PJ. The immunology of food allergy. *The Journal of Immunology*. 2014;192(6):2529-34.
- [37]. Loss G, Apprich S, Waser M, Kneifel W, Genuneit J, Büchele G, et al. The protective effect of farm milk consumption on childhood asthma and atopy: the GABRIELA study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2011;128(4):766-73. e4.
- [38]. Maynard F, Chatel J-M, Wal J-M. Immunological IgE cross-reactions of bovine and human  $\alpha$ -lactalbumins in cow's milk allergic patients. *Food and agricultural immunology*. 1999;11(2):179-89.
- [39]. Chung SY, Kato Y, Champagne ET. Polyphenol oxidase/caffeic acid may reduce the allergenic properties of peanut allergens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2005;85(15):2631-7.

Recibido el 30 de abril del 2018 y aceptado para su publicación el 08 de junio del 2018