



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

“Características socio-demográficas y patrones clínicos de sensibilización molecular, en pacientes con alergia alimentaria por sensibilización a Proteínas Transportadoras de Lípidos (LTPs)”

Dña. Esther Fernández Calvo

2017



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

“Características socio-demográficas y patrones clínicos de sensibilización molecular, en pacientes con alergia alimentaria por sensibilización a Proteínas Transportadoras de Lípidos (LTPs)”

Dña. Esther Fernández Calvo

2017

AGRADECIMIENTOS

A mis directores, el Dr. Antonio Carbonell Martínez, por haberme animado desde el inicio de la residencia a la realización de la tesis, por ser el principal impulsor de este proyecto, y por ayudarme en su ejecución; y la Dra. Ana Isabel Escudero Pastor, por su gran ayuda, esfuerzo y dedicación. Gracias a ellos este bonito trabajo ha podido salir adelante.

A mi tutor, el Dr. Fabio Camacho Alonso, por aceptar formar parte de este proyecto desde el primer momento, a pesar de no conocernos.

A Fernando de la Torre Martínez y a su laboratorio ALK-Abello, por estar siempre accesible, por facilitarme el proceso con sus buenos consejos y por su imprescindible aportación a este trabajo.

A mis compañeros del Hospital General Reina Sofía, al Dr. Juan Carlos Miralles López por su gran contribución a mi formación, y en especial a mis enfermeras Mercedes y Conchi, las que también colaboraron en la realización de este estudio y parte del mérito es de ellas.

A mi familia, ya que sin ellos no hubiera podido llevar a cabo no sólo este proyecto sino todo lo que he hecho en mi vida, tanto a nivel académico, como profesional y personal.

A mis amigos, a los de Elda y a los de Murcia, por estar siempre conmigo y apoyarme en los buenos y malos momentos.

A Sergio, por cruzarse en mi camino, por quererme y por cuidarme tanto.

Muchas gracias a todos.

A mis padres y mis hermanas.

ABREVIATURAS

AINE.....	Antiinflamatorio no esteroideo
EAACI.....	European Academy of Allergy and Clinical Immunology
ESA.....	Error Estándar Asintótico
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FEIA	Fluoroenzimoinmunoensayo
IC95%.....	Intervalo de Confianza 95%
IgE	Inmunoglobulina E
IUIS	International Union of Immunological Societies
LTP.....	Lipid Transfer Proteins (Proteínas de Transferencia de Lípidos)
ns-LTP	LTP no específica
OMS	Organización Mundial de la Salud
PODCCP.....	Provocación oral a doble ciego controlada con placebo
PR-P.....	Pathogenesis-related Proteins (Proteínas Relacionadas con la Patogenia)
Q1/Q3	Primer / Tercer Cuartil
SAO	Síndrome de alergia oral
SEAIC.....	Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica
TMV	Virus del mosaico del tabaco
WAO.....	World Allergy Organization
WHO.....	World Health Organization
κ.....	Coficiente Kappa

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	13
1.1 – Región de Murcia	13
1.2 – Alergia Alimentaria	15
1.3 – Alérgenos de origen vegetal	18
1.4 – Proteínas Relacionadas con la Patogenia (PR-P)	19
1.4.1 – Proteínas PR-1.....	21
1.4.2 – Proteínas PR-2 (β -1,3-glucanasas).....	22
1.4.3 – Proteínas PR-3 (Quitinasas).....	23
1.4.4 – Proteínas PR-4 (Quitinasas).....	23
1.4.5 – Proteínas PR-5 (Taumatinas)	23
1.4.6 – Proteínas PR-8 (Quitinasas).....	24
1.4.7 – Proteínas PR-10 (Homólogos de la Bet v 1).....	24
1.4.8 – Proteínas PR-14 (Proteínas de Transferencia de Lípidos).....	25
1.5 – Síndrome LTP	32
2. OBJETIVOS.....	35
2.1 – Objetivo primario	35
2.2 – Objetivos secundarios.....	35

3. METODOLOGÍA.....	37
3.1 – Población a estudio.....	37
3.1.1 – Ámbito del estudio y periodo de reclutamiento.....	37
3.1.2 – Muestreo y tamaño muestral.....	37
3.1.3 – Criterios de inclusión.....	38
3.1.4 – Criterios de exclusión.....	38
3.2 – Material y métodos.....	38
3.2.1 – Tipo y diseño de estudio.....	38
3.2.2 – Variables del estudio.....	39
3.2.3 – Método.....	40
3.2.4 – Análisis estadístico.....	45
3.3 – Aspectos éticos y legales.....	46
4. RESULTADOS.....	49
4.1 – Descripción de la muestra.....	49
4.2 – Perfiles de sensibilización molecular de los pacientes diagnosticados de alergia alimentaria por sensibilización a Pru p 3 LTP de melocotón.....	61
4.3 – Factores de riesgo asociados a la alergia alimentaria por sensibilización a Pru p 3 LTP de melocotón.....	72
4.4 – Concordancia entre las técnicas diagnósticas empleadas: prueba cutánea y determinación de IgE específica.....	74

5. DISCUSIÓN.....	77
5.1 – Características sociodemográficas, perfil de sensibilización molecular y patrones clínicos de los pacientes sensibilizados a Pru p 3.....	77
5.2 – Factores de riesgo asociados a la alergia alimentaria por sensibilización a Pru p 3 LTP de melocotón	82
5.3 – Concordancia entre las técnicas diagnósticas empleadas: prueba cutánea y determinación de IgE específica.....	87
6. CONCLUSIONES.....	89
7. BIBLIOGRAFÍA	93

1. INTRODUCCIÓN

1.1 – Región de Murcia

La Región de Murcia está situada en el sudeste de la Península Ibérica, en el litoral del mar Mediterráneo. Su población total es de aproximadamente 1.500.000 habitantes, de los cuales casi un tercio vive en el municipio de Murcia.

La Comunidad se extiende sobre la mayor parte de la cuenca hidrográfica del río Segura, contando así con una unidad geográfica definida, salvo las comarcas de la Sierra de Segura y los Campos de Hellín que quedaron en la provincia de Albacete, Los Vélez en Almería y la Vega Baja en la provincia de Alicante, todas pertenecientes a la misma cuenca. Aproximadamente el 27% del territorio murciano corresponde a relieves montañosos, el 38% a depresiones intramontanas y valles corredores, y el 35% restante a llanuras y altiplanicies.

La Región de Murcia se sitúa en el extremo oriental de las Cordilleras Béticas, viéndose influida climatológicamente por una orografía que la aísla de la influencia atlántica. Disfruta en general de un clima mediterráneo seco de tipo semiárido, si bien, la topografía variable de su territorio y la distancia al mar, origina una diversidad de matices y genera importantes diferencias térmicas y pluviométricas entre la costa y el interior. Los inviernos son suaves y los veranos calurosos, siendo la temperatura anual media en las zonas más bajas entorno a los 18°C, y va descendiendo según se gana altura. Las precipitaciones son escasas, de unos 300 a 350 mm por año, principalmente en otoño, pudiendo ser torrenciales en situaciones de gota fría.

La región es la mayor productora de frutas, verduras y flores de Europa, siendo su agricultura tradicionalmente de regadío. A lo largo del eje del río Segura, se extienden la mayor parte de las huertas tradicionales de la Región de Murcia, ampliadas progresivamente fuera del valle fluvial con caudales subterráneos o trasvasados desde el río Tajo. Los frutales de hueso, la uva de mesa y los cítricos son en la actualidad los cultivos predominantes.

Se divide en seis comarcas agrarias según sus características orográficas y climáticas (Figura 1).



FIGURA 1: Mapa de las zonas agrarias de la Región de Murcia.

En la entrada del Río Segura a la Región se ubica un pequeño pero interesante sector de arrozal. En la Depresión del Guadalentín regadíos con aguas procedentes del Tajo, que se dedican a hortalizas, cultivos industriales y frutales, en particular cítricos. Por último, en el litoral se localizan amplios sectores regables del Trasvase en el Campo de Cartagena y los más reducidos de las llanuras litorales de Mazarrón y Águilas, dedicados a hortalizas y, en menor medida, a frutales y cítricos.

En la región encontramos una gran abundancia de especies de plantas alergénicas y, además, las condiciones climáticas hacen que algunos de los pólenes que producen patología en la población alérgica tengan periodos muy largos de polinización. Esto hace que muchos pacientes sufran síntomas prácticamente durante todo el año, a diferencia de otras zonas de España, en las que la enfermedad se circunscribe a la estación de la primavera.

Los principales pólenes causantes de enfermedades alérgicas son los de olivo (*Olea Europaea*), quenopodiáceas (*Chenopodium album* y *Salsola kali*) y gramíneas (*Poaceae*), seguido de los pólenes de cupresáceas, plátano acerifolia, parietaria y artemisia. El clima semiárido de Murcia y la escasez de lluvias explicarían la

importancia de las quenopodiáceas como causa de polinosis en la región. Además, la sensibilización a polen de *Parietaria judaica* es más prevalente en el valle del Segura.

1.2 – Alergia Alimentaria

Los estudios epidemiológicos recientes demuestran el importante incremento experimentado en los últimos años por las enfermedades de etiología alérgica, siendo este aumento más notable en los países desarrollados (Asher y cols., 2006). Este incremento ha supuesto un aumento de la demanda asistencial y, a su vez, ha puesto de manifiesto la inadecuación de los actuales medios asistenciales para atender correctamente a los pacientes.

La alergia a los alimentos es una de las áreas de la alergología en la que más novedades se han aportado en los últimos años. Se define como reacción adversa a alimentos, cualquier reacción anómala producida por la ingestión de un alimento (Figura 2). Tales reacciones pueden ser tóxicas que se definen como aquellas que pueden afectar a cualquier individuo al administrarlas en una dosis suficiente, y no tóxicas, que dependen de una susceptibilidad individual. Las reacciones no tóxicas se clasifican como mediadas por mecanismos inmunológicos (o alergia) y no mediadas por mecanismos inmunológicos (o intolerancia). A su vez, las reacciones alérgicas se dividen en reacciones mediadas por la inmunoglobulina IgE y reacciones mediadas por otros mecanismos inmunológicos en los que no participa la IgE. Dentro de las reacciones de intolerancia se hallan reacciones debidas a mecanismos enzimáticos (por ejemplo, déficit de lactasa); debidas a mecanismos farmacológicos por sustancias añadidas a los alimentos o presentes en ellos de forma natural (por ejemplo, aminas vasoactivas); y, reacciones de intolerancia por mecanismo indeterminados.

La alergia a los alimentos mediada por IgE se caracteriza por la aparición de síntomas, generalmente durante las dos horas siguientes tras la ingestión o exposición al alimento desencadenante. Las reacciones afectan típicamente a la piel, al aparato gastrointestinal o al aparato respiratorio. La sensibilización *in vivo* o *in vitro* (producción de IgE específica) frente a alérgenos alimentarios sin síntomas de reacción alérgica durante la exposición, no es suficiente para definir la existencia de una alergia alimentaria. Por

tanto, ésta requiere la presencia de sensibilización *in vivo* y/o *in vitro* y el desarrollo de síntomas y signos tras la exposición al alimento.

La alergia a los alimentos no mediada por IgE, por ejemplo, la mediada por células, incluye la enterocolitis inducida por proteínas de alimentos, proctocolitis y síndromes enteropáticos. Estas enfermedades suelen aparecer más frecuentemente en niños y jóvenes. Ejemplo de enfermedades que combinan reacciones mediadas y no mediadas por IgE con alimentos son la esofagitis eosinofílica y la dermatitis atópica (Antón y cols., 2015).

En octubre de 2003 (Johansson y cols., 2003) esta última nomenclatura fue revisada y refrendada por el comité de revisión de la Organización Mundial de Alergia (World Allergy Organization o WAO).

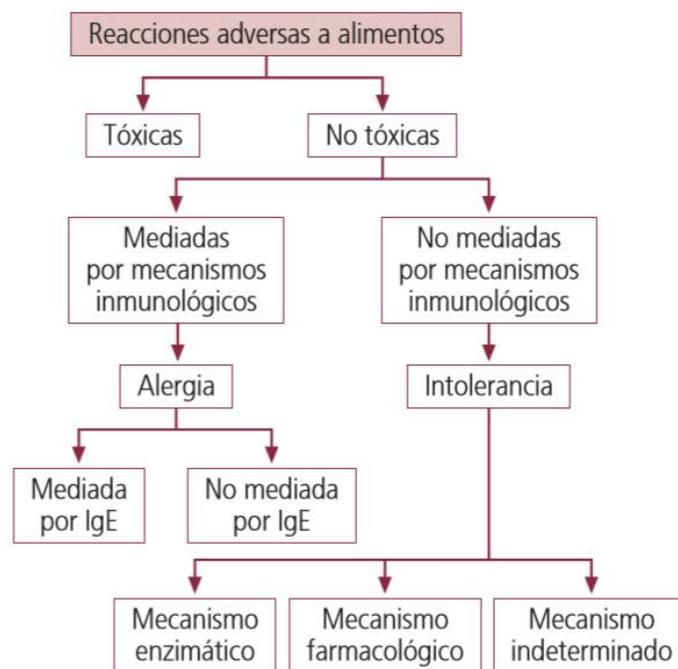


FIGURA 2: Clasificación de las reacciones adversas a alimentos de la Comisión de Nomenclatura de la EAACI refrendada por la WAO (Tratado Alergología, Ergon, Madrid 2007).

El término de alergia alimentaria se refiere pues, a una respuesta inmunológica específica que se reproduce tras la exposición a un alimento (Schneider y cols., 2010; Boyce y cols., 2010).

La alergia alimentaria suele afectar al 1-3% de la población general. De acuerdo a una encuesta realizada en España sobre una muestra de cerca de 3.000 pacientes que acudían a consulta de alergia, la clínica por alergia alimentaria supuso el 11,4% de las consultas (IC 95%: 10,3 – 12,6%), siendo la quinta enfermedad por orden de prevalencia (Alergológica 2015). Es importante destacar el aumento sufrido por esta patología, ya que en una encuesta similar realizada en el año 2005 la prevalencia fue de 7,4%, y de 3,6% en 1992 (Figura 3).

A2015 IC (95%)	A2005 IC (95%)	A1992 IC (95%)
11,4% (10,3-12,6%)	7,4% (6,7-8,1%)	4,0% (3,4-4,6%)

FIGURA 3: Cambios en la prevalencia de enfermedades por alergia a alimentos atendidas en las consultas de alergología en 1992, 2005 y 2015 (Alergológica 2015).

Dentro de la alergia alimentaria, los alimentos vegetales suponen la principal fuente de sensibilización en España, ya que representan el 76,6%. En un estudio epidemiológico realizado con el fin de determinar el mapa de sensibilización a diferentes alérgenos en España, mediante técnicas de diagnóstico molecular se ha podido confirmar que la alergia alimentaria se asocia claramente con la sensibilización a las proteínas transportadoras de lípidos (LTPs) (Barber y cols., 2008).

Esta incidencia se ha disparado en los últimos 20 años en el área mediterránea, y se ha convertido en un problema clínico de difícil manejo. Las razones de esta situación son, sobre todo, la potencial gravedad de las manifestaciones clínicas (anafilaxia) y el deterioro de la calidad de vida de los pacientes afectados. Se trata del llamado síndrome LTP, en el que los alimentos más frecuentemente implicados son las frutas rosáceas (predominando el melocotón), frutos secos, hortalizas, y una larga lista de alimentos vegetales (Pascal y cols., 2012; Asero y cols., 2009).

1.3 – Alérgenos de origen vegetal

Las proteínas alergénicas de las plantas presentes en alimentos se pueden clasificar en tres grandes grupos (Figura 4):

- Proteínas estructurales, catalíticas y reguladoras, que se sintetizan en la planta en pequeñas o grandes cantidades, de forma constitutiva o en respuesta a factores ambientales. Es un grupo muy amplio en el que se incluyen las profilinas, las oleosinas y algunos alérgenos como la β -fructofuranosidasa del tomate y la glioxalasa I del arroz. Las profilinas constituyen una familia de panalérgenos altamente conservadas (más del 70% de identidad de secuencia entre la mayoría de sus miembros) que se ha localizado en casi todas las fuentes alergénicas de origen vegetal analizadas (alimentos, pólenes y latex). Parecen en parte resistentes a los tratamientos térmicos, pero son rápidamente degradadas por las proteasas digestivas, lo que explica su asociación con síntomas locales y leves (síndrome de alergia oral –SAO–) (Lopez-Torrejon y cols., 2005; Asero y cols., 2003). Las oleosinas son proteínas vegetales hidrófobas que se encuentran en cuerpos lipídicos en el interior de células de reserva de semillas. Fueron identificadas por primera vez en sésamo, frutos secos, legumbres y semillas, y han sido asociadas a clínica grave en alérgicos a avellana (Willerroider y cols., 2003; Capuano y cols., 2007; Zuidmeer-Jongejan y cols., 2014).

- Proteínas de reserva. Se acumulan sobre todo en las semillas de las plantas superiores y algunas en los órganos vegetativos. Su función principal es el suministro de nutrientes durante la germinación. Se clasifican en dos grandes superfamilias, las prolaminas y las cupinas (Shewry y cols., 2002). Las prolaminas comprenden a las prolaminas propiamente dichas (proteínas mayoritarias de las harinas de cereales) y las albúminas S2 (alérgenos mayoritarios de las leguminosas, frutos secos y especias). Las cupinas incluyen tres tipos de proteínas, las globulinas 11S o leguminas, globulinas 7/8S o vicilinas y las germinas.

- Proteínas de defensa, implicadas en los sistemas de protección frente a las invasiones de patógenos y plagas (virus, bacterias, hongos, insectos, nematodos y ácaros). Incluyen un amplio número de familias, y son denominadas proteínas PR (Pathogenesis-related Proteins –PR-P–), que explicaremos a continuación.

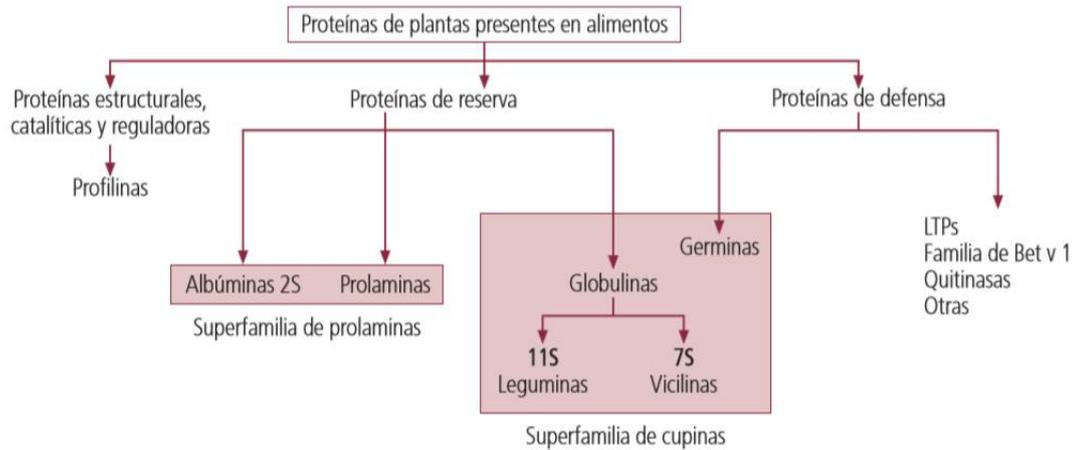


FIGURA 4: Grupos de proteínas alergénicas de plantas presentes en alimentos (Tratado Alergología, Ergon, Madrid 2007).

1.4 – Proteínas Relacionadas con la Patogenia (PR-P)

Las Proteínas Relacionadas con la Patogenia (Pathogenesis-related Proteins –PR-P–) forman parte de las denominadas Proteínas de Defensa de las plantas superiores. Se producen en respuesta a agentes infecciosos (virus, bacterias, hongos), plagas (insectos, nematodos, ácaros) y también pueden aparecer en situaciones de estrés biótico y abiótico, como por ejemplo sequía, inundaciones, temperatura ambiental extremadamente baja, ozono, luz ultravioleta B o agresiones mecánicas, interviniendo por tanto en la homeostasis y la adaptación de las plantas al entorno. Poseen varias propiedades químicas comunes, tales como bajo peso molecular, estabilidad a pH bajo y resistencia a las proteasas, presentando además, en general, capacidad bactericida, fungicida o insecticida *in vitro* (Van Loon y Van Strein., 1999).

La alergenicidad de las proteínas PR también está influida por el uso de productos químicos en la agricultura actual, las condiciones de cultivo y almacenamiento, la introducción de plantas transgénicas y los contaminantes ambientales.

La amplia distribución de estas proteínas en el reino vegetal, junto a la estrecha relación estructural de los miembros de una misma familia, constituyen la base molecular de las reacciones cruzadas que existen entre alimentos vegetales, y entre estos y pólenes (Hauser y cols., 2008; Sinha y cols., 2014).

Muchas de estas proteínas presentan una estructura compacta, estabilizada por un alto número de puentes disulfuro, que las hace altamente resistentes a los tratamientos térmicos y a la digestión por proteasas digestivas, lo que determina que se encuentren como alérgenos inmunológicamente activos en alimentos procesados (Breiteneder y Mills., 2005).

El primer miembro de este grupo fue descrito en 1970 por Van Loon y cols. Se trataba de una proteína presente en las áreas necróticas de las hojas de la planta del tabaco infectadas por el Virus Mosaico del Tabaco (VMT). Se piensa que la función de este componente es ligarse al VMT e inhibir la extensión de la infección a las partes sanas de la planta. Desde entonces se ha ampliado tanto el número como el conocimiento de las diferentes PR-P.

La última propuesta de clasificación de proteínas PR incluye a 17 familias diferenciadas por estructura primaria, masa molecular, características serológicas o actividad biológica. No obstante, más recientemente se ha descubierto un grupo de proteínas con actividad antimicrobiana en *Helianthus annuus* y *Amaranthus caudatus* a la que de modo eventual se ha designado como familia PR-18 (Tabla 1).

TABLA 1: DIFERENTES FAMILIAS DE PR-P Y ALÉRGENOS IDENTIFICADOS (SINHA Y COL., 2014).

Family	Proteins	Functions	Allergens identified with source and allergenic symptoms
PR-1	PR-1 a, PR-1 b, and PR-1 c	Antifungal	Cuc m 3 (muskmelon)—oral allergy syndrome Hev b 2 (latex)—contact dermatitis
PR-2	β -1,3-Glucanases	Cleaves β -1,3-glucans	Ole e 9 (olive)—respiratory allergy Mus a 5 (banana)—oral allergy syndrome
PR-3	Chitinase types I, II, IV, V, VI, and VII	Endochitinase	Pers a 1 (avocado)—itchy eyes or nose, asthma, swelling, and so forth. Mus a 2 (banana)—food allergy like swelling of lips, anaphylaxis, and so forth
PR-4	Chitinase types I and II	Antifungal and chitinase	Hev b 6.01, Hev b 6.02, and Hev b 6.03 (latex)—contact dermatitis Jun a 3 (mountain cedar), Cry j 1 (Japanese cedar), and Cup a 3 (Arizona cypress)—rhinitis, conjunctivitis, and asthma
PR-5	Thaumatococcus-like proteins	Antifungal	Pru av 2 (cherry), Mal d 2 (apple), Cap a 1 (bell pepper), Act d 2 (kiwi), and Mus a 4 (banana)—oral allergy syndrome
PR-6	Tomato proteinase inhibitor I	Proteinase inhibitor	—
PR-7	Tomato endoproteinase P	Endoproteinase	—
PR-8	Cucumber chitinase	Chitinase III	Hevamine (latex)—contact dermatitis. Ziz m 1 (Indian jujube)—oral allergy syndrome Cof a 1 (coffee)—eye and airway allergy
PR-9	Tobacco lignin-forming peroxidase	Peroxidase	—
PR-10	Parsley “PR-1” Bet v 1, Mal d 1, Api g 1, and Dau c 1	Ribonuclease-like	Bet v 1 (birch pollen)—allergic rhinoconjunctivitis and asthma Pru av 1 (cherry), Mal d 1 (apple), Api g 1 (celery), and Dau c 1 (carrot)—oral allergy syndrome Gly m 4 (soy), Vig r 1 (mung bean), Cor a 1 (hazelnut), and Cas s 1 (chestnut)—oral allergy syndrome
PR-11	Tobacco chitinase type V	Chitinase	—
PR-12	Radish Rs-AFP3	Defensin	—
PR-13	<i>Arabidopsis</i> THI2.1	Thionin	—
PR-14	Lipid transfer proteins	Shuttling of phospholipids and fatty acids	Par j 1 (weed)—rhinitis and asthma Pru p 3 (peach), Mal d 3 (apple), Pru av 3 (cherry), Pru ar 3 (apricot), Cor a 8 (hazelnut), Cas s 8 (chestnut), and Zea m 14 (maize)—oral allergy syndrome
PR-15	Barley OxOa	Oxalate oxidase	—
PR-16	Barley OxOLP	Oxalate-like oxidase	—
PR-17	Tobacco PRp27	Unknown	—

Las proteínas alergénicas se encuentran en los grupos 1, 2, 3, 4, 5, 8, 10 y 14 de la clasificación anteriormente expuesta. Conocer la estructura y la función de las diferentes familias de PR-P ayudará a entender la reactividad cruzada, la frecuencia de sensibilización y la gravedad de la alergenicidad (Sinha y cols., 2014):

1.4.1 – Proteínas PR-1

Estas proteínas están ampliamente distribuidas en el reino vegetal, tienen actividad antifúngica, con peso molecular de 14-17 kDa, pero su mecanismo de acción no se conoce. La primera proteína PR-1 que se encontró se expresaba en respuesta a la infección por el virus del mosaico del tabaco (TMV), más tarde se han identificado

homólogos en la cebada, el tomate, el maíz, el arroz, etc. Aunque la familia tiene una amplia distribución, sólo uno de sus miembros se ha asociado con alergia a alimentos, *Cuc m 3*, una proteína minoritaria del melón, con una alta reactividad *in vitro* pero baja *in vivo*, que produce SAO. *Cuc m 3* comparte más del 60% de identidad de secuencia con miembros PR-1 de uva, pepino, pimiento y tomate (Sankian y cols., 2014).

1.4.2 – Proteínas PR-2 (β -1,3-glucanasas)

Se trata de enzimas, β -1,3-glucanasas, presentes en las paredes celulares de las plantas, que funcionan en respuesta al ataque de patógenos y también están involucradas en varios procesos fisiológicos. Tienen un peso molecular de 33-36 kDa (una minoría 42-46 kDa por la presencia de un dominio adicional C-terminal). Se han descrito en alérgenos del latex (*Hev b 2*), en el plátano (*Mus a 5*) y en el polen de olivo (*Ole e 9*) (Palomares y cols., 2005).

Hev b 2 puede dar lugar a manifestaciones clínicas que abarcan desde síntomas leves como urticaria de contacto, hasta reacciones anafilácticas que ocurren frecuentemente durante procedimientos quirúrgicos o endoscópicos. Se ha encontrado que la alergia al látex del árbol *Hevea brasiliensis* está asociada con hipersensibilidad a ciertos alimentos, especialmente aguacate, plátano, castaña, higo, pimiento morrón y kiwi, y se denomina síndrome látex-frutas. La razón de esta reactividad cruzada es que las proteínas expresadas en estos frutos comparten una conformación general y una distribución de carga muy similares a las de *Hev b 2* (Wagner y Breiteneder., 2005).

Únicamente se ha identificado una β -1,3-glucanasa alimentaria, *Mus a 5* del plátano, pero datos recientes sugieren su presencia en el tomate, la patata y la pimienta. *Mus a 5* comparte aproximadamente un 60,8% de identidad de secuencia con *Hev b 2*, produce SAO y su expresión aumenta considerablemente durante la maduración del fruto (Aleksic y cols., 2005).

Otra proteína PR-2, *Ole e 9*, se ha caracterizado a partir del polen de olivo, responsable de alergia respiratoria (Huecas y cols., 2001).

1.4.3 – Proteínas PR-3 (Quitinasas)

Comprende a las quitinasas de las clases I, II, IV, V, VI y VII, proteínas monoméricas de pesos moleculares de 25-35 kDa, que hidrolizan los enlaces glucosídicos de la quitina, un componente de las paredes celulares de hongos y elementos exoesqueléticos de algunos animales. Los principales alérgenos se han identificado en la castaña (*Cas s 5*), aguacate (*Pers a 1*) y plátano (*Mus a 2*), responsables de alergia alimentaria, que pueden producir desde síntomas leves (SAO) a reacciones de anafilaxia. Presentan en su estructura dos dominios, uno heveína N-terminal y otro catalítico. El dominio heveína suele tener un alto nivel de identidad de secuencia (60-70%) con la heveína del latex, lo que parece esencial para explicar las reacciones cruzadas con el latex y la capacidad de ligar IgE (Bublin y cols., 2004; Blanco y cols., 1999).

1.4.4 – Proteínas PR-4 (Quitinasas)

Son quitinasas de clases I y II, con pesos moleculares alrededor de 13 a 14,5 kDa. Entre los más relevantes se encuentran la proheveína de *Hevea brasiliensis* (*Hev b 6.01*), una proteína rica en cisteína, que es uno de los principales alérgenos del látex de caucho natural, especialmente común en los trabajadores de la salud. La heveína es el mayor alérgeno de reactividad cruzada, lo que hace que pacientes con alergia al látex presenten hipersensibilidad a alimentos vegetales (síndrome latex-frutas). Contiene 14 residuos de cisteína que estabilizan su conformación terciaria al formar múltiples puentes disulfuro. Después del procesamiento postranscripcional, la proheveína genera heveína N-terminal de 4,7 kDa (*Hev b 6.02*) y heveína C-terminal de 14 kDa (*Hev b 6.03*), ambos alergénicos (Blanco, 2003).

1.4.5 – Proteínas PR-5 (Taumatinas)

Se trata de las Taumatinas, proteínas antifúngicas de unos 23 kDa, muchas de ellas inducidas en respuesta al ataque por patógenos. Tienen 16 cisteínas conservadas que forman 8 puentes disulfuro, lo que las dota de una estructura estable y resistente, en general, a proteasas y tratamientos térmicos. Los alérgenos alimentarios identificados en este grupo incluyen *Pru p 2* de melocotón, *Mal d 2* de manzana, *Mus a 4* de plátano,

Pru av 2 de cereza, *Cap a 1* de pimienta, *Act d 2* de kiwi, y una proteína homóloga de la uva, responsables de SAO. También se han identificado en varios pólenes, de ciprés de Arizona (*Cup a 3*), cedro de montaña (*Jun a 3*) y cedro rojo oriental (*Jun v 3*), y una proteína en el trigo (*Triticum aestivum*) causante de alergia respiratoria en panaderos (Palacin y cols., 2010; Palacin y cols., 2008; Breiteneder, 2004).

1.4.6 – Proteínas PR-8 (Quitinasas)

Comprende quitinasas de clase III, que tienen actividad lisozima. Una de las principales proteínas que representa este grupo es la hevamina (*Hev b 14*) del látex, de 30 kDa, que muestra tanto actividad de lisozima como de quitinasa y es causante de dermatitis de contacto. En el árbol frutal tropical *Ziziphus mauritiana* se ha identificado *Ziz m 1*, uno de sus alérgenos principales que produce SAO y tiene reactividad cruzada con el alérgeno del látex. Otra de las proteínas se ha identificado en el café (*Cof a 1*), que puede producir alergia respiratoria en trabajadores expuestos al polvo de los granos de café verdes (Manavski y cols., 2012).

1.4.7 – Proteínas PR-10 (Homólogos de la *Bet v 1*)

Incluye a los Homólogos de la *Bet v 1*, proteínas con función enzimática, de bajo peso molecular (alrededor de 15-16 kDa), sensibles a tratamientos térmicos y rápidamente degradables por las proteasas digestivas. En áreas ricas en Abedules y otras especies del orden Fagales (Aliso, Avellano, etc.), como son los países del centro y norte de Europa, un alto porcentaje de paciente polínicos tienen niveles significativos de IgE frente al alérgeno principal de polen de abedul *Bet v 1*. Entre éstos es muy frecuente encontrar sujetos que muestran síntomas frente a diferentes alimentos vegetales de la familia de las rosáceas, tales como la manzana, el melocotón y la cereza. Asimismo pueden presentar manifestaciones clínicas con la ingestión la avellana, el apio, la zanahoria, el cacahuete y la soja. Esta reactividad cruzada se produce cuando los anticuerpos IgE producidos originalmente en respuesta a la sensibilización de *Bet v 1*, reconocen epítomos similares presentes en la superficie de estas proteínas alergénicas de los alimentos.

Se han caracterizado varios homólogos de la *Bet v 1* en manzana (*Mal d 1*), melocotón (*Pru p 1*), cereza (*Pru av 1*), fresa (*Fra a 1*), albaricoque (*Pru ar 1*), pera (*Pyr c 1*), frambuesa (*Rub i 1*), kiwi (*Act d 8*), apio (*Api g 1*), zanahoria (*Dau c 1*), castaña (*Cas s 1*), avellana (*Cor a 1*) y tomate (*Sola l 4*). Se ha realizado una comparación de secuencias de algunos de estos alérgenos homólogos, mostrando una similitud con *Bet v 1* del 57% con *Pru av 1*, 56% con *Pyr c 1*, 55% con *Pru p 1*, 52% con *Mal d 1*, 39% con *Api g 1*, y 35% con *Dau c 1*. En general se asocian a síntomas locales y leves (SAO), aunque se han descrito casos de cuadros graves y anafilaxia, por ejemplo en leguminosas. Las proteínas PR-10 responsables de las reacciones alérgicas en leguminosas son también homólogas a *Bet v 1* y han sido descritas en soja (*Gly m 4*), cacahuete (*Ara h 8*) y judía mungo (*Vig r 1*) (Hauser y cols., 2011; Kleine-Tebbe y cols., 2002).

1.4.8 – Proteínas PR-14 (Proteínas de Transferencia de Lípidos)

El grupo PR 14 comprende a las Proteínas de Transferencia de Lípidos (Lipid Transfer Proteins –LTPs–). Constituyen una familia de alérgenos con capacidad de transportar fosfolípidos y otros grupos de ácidos grasos a través de las membranas celulares. Son proteínas pequeñas (9-10 kDa), altamente conservadas, presentes en grandes cantidades en las plantas superiores y pueden unirse también a grupos acilo. Se encuentran en cantidades significativas en el tejido vascular y en las capas externas de las plantas, lo que explicaría la mayor capacidad alérgica de la piel respecto a la pulpa en las frutas rosáceas. Están implicadas en la defensa contra patógenos bacterianos y fúngicos, así como frente a situaciones de estrés ambiental, tales como sequía, calor, frío o salinidad. Hay evidencias que sugieren su participación en la formación de cutina, donde actúan como transportadores de acil-monómeros en el proceso de extensión de la pared celular. Se dividen en 2 tipos, las específicas para ciertas clases de fosfolípidos, y las que son capaces de transportar diversas clases de lípidos, denominadas LTP no específicas. Las características alérgicas de las LTP no específicas (ns-LTP) se han descrito en las frutas, verduras, frutos secos, polen y látex (Salcedo y cols., 2007; Fernandez-Rivas y Cuevas., 1999; García-Olmedo y cols., 1995).

Debido a su extrema resistencia a los tratamientos térmicos y a ser degradadas por las proteasas digestivas, estos alérgenos pueden atravesar la barrera inmune gastrointestinal

e inducir la síntesis de IgE específica provocando así sintomatología clínica severa, esto hace que los alimentos y bebidas procesados mantengan su potencial alergénico. Estos síntomas sistémicos y graves, pueden producirse también en pacientes no polínicos, a diferencia de las profilinas y los homólogos de la *Bet v 1*. Por tanto, los pacientes alérgicos a las PR-14 de frutas tienden a tener unas tasas más altas de anafilaxia (36%) que aquellos que están sensibilizados a frutas vía proteínas PR-10 (18%) (Van Ree, 2002).

Su perfil geográfico de prevalencia es muy relevante en el área mediterránea, con una incidencia baja en países de otras áreas europeas. Así por ejemplo, la sensibilización a *Pru p 3* en España es del 50-80% y a *Bet v 1* menor del 20%, mientras que en países como Suiza, Austria o Alemania, las cifras para LTP son inferiores al 10% y las correspondientes a *Bet v 1* mayores del 80% (Fernandez-Rivas y cols., 2006).

Las LTPs constituyen los alérgenos más importantes de las frutas Rosáceas, tales como melocotón (*Pru p 3*), manzana (*Mal d 3*), albaricoque (*Pru ar 3*), Cereza (*Pru av 3*), ciruela (*Pru d 3*), pera (*Pyr c 3*), fresa (*Fra a 3*), frambuesa (*Rub i 3*) y mora (*Mor n 3*). Dada la significativa identidad en las secuencias (más del 81%) compartida por las ns-LTPs de las frutas Rosáceas junto al alto grado de reactividad cruzada, se ha sugerido que todas ellas se unen a epítomos IgE comparables (García Figueroa y cols., 2015) (Figura 5).

Peach	ITCGQVSS	SLAP	CIPYVRRGGG	AVPPA	CCNGIRNVN	VN	LARTTPDRQA	ACN	CLKQLSASVPG	60
Apple	ITCGQVTS	SLAP	CIGYVRSGG	AVPPA	CCNGIRT	IN	GLARTTADRQT	ACN	CLKNLAGSISG	60
Apricot	ITCGQVSS	SLAP	CIGYVRRGGG	AVPPA	CCNGIRN	VN	NLARTTPDRRT	ACN	CLKQLSGSISG	60
Cherry	LTCGQVSS	NLAP	CIAYVRRGGG	AVPPA	CCNGIRN	IN	NLAKTTADRQT	ACN	CLKQLSASVPG	60
Plum	ITCGQVSS	NLAP	CIN YVRRGGG	AVPPA	CCNGIRN	VN	NLARTTADRRA	ACN	CLKQLSGSIPG	60
Peach	VNPNNAA	ALPGK	CGVSI	PYKISASTN	CATVK	91				
Apple	VNPNNAA	GLPGK	CGVNV	PYKIS TSTN	CATVK	91				
Apricot	VNPNNAA	ALPGK	CGVNI	PYKIS ASTN	CATVK	91				
Cherry	VNANNA	ALPGK	CGVNV	PYKIS PSTN	CATVK	91				
Plum	VNPNNAA	ALPGK	CGVNV	PYKIS ASTN	CATVK	91				

FIGURA 5: Alineación de secuencias de alérgenos ns-LTP de melocotón, manzana, albaricoque, cereza y ciruela. Las secuencias idénticas se resaltan en gris. Ocho residuos de cisteína conservados se destacan en amarillo. Los tres epítomos específicos de unión a IgE de *Pru p 3* de melocotón están marcados en verde (Sinha y cols., 2014).

La estructura del alérgeno de *Pru p 3* de melocotón (Figura 6) se ha estudiado ampliamente, siendo el miembro modelo de la familia. La parte principal de la estructura es un dominio compacto α -helicoidal, en el que las 4 hélices están conectadas por bucles cortos. Los 4 puentes disulfuro formados por 8 residuos de cisteína conservados le confieren una gran resistencia a temperaturas extremas y cambios de pH. Se piensa que los posibles candidatos implicados en la formación de epítopos son 5 residuos con carga positiva, es decir Arg39, Thr40, Arg44, Lys80 y Lys91. Por otra parte, se han identificado 3 regiones de epítopos potencialmente capaces de ligar IgE utilizando una biblioteca 10-mer de péptidos sintéticos, con exploración de la secuencia proteica completa, que está conservada en las LTP de otras frutas Rosáceas.

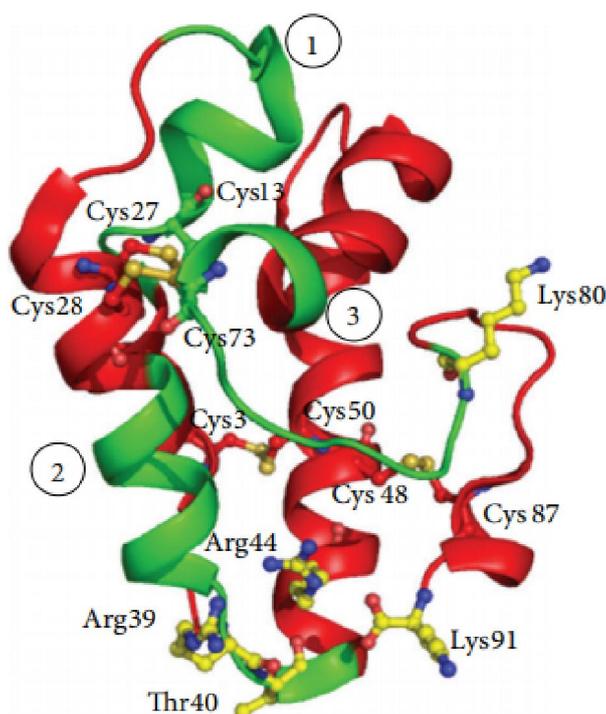


FIGURA 6: Estructura global de las ns-LTP, Pru p 3 es el miembro modelo. En verde, 3 regiones de epítopos potencialmente capaces de ligar IgE, marcadas de 1 a 3. En amarillo, los 5 residuos con carga positiva que tienen un posible papel en el reconocimiento de epítopos. Y los ocho residuos de cisteína formando los cuatro puentes disulfuro, que le confieren una gran resistencia a temperaturas extremas y cambios de pH (Sinha y cols., 2014).

Publicaciones recientes indican que las ns-LTP de otras especies vegetales diferentes de las Rosáceas pueden ser las responsables de la alergia alimentaria a las mismas. Se han descrito también en otras frutas como uva (*Vit v 1*), kiwi (*Act d 10*), plátano (*Mus a 3*) y granada (*Pun g 1*); en cítricos de naranja (*Cit s 3*), mandarina (*Cit r 3*) y limón (*Cit l 3*); en hortalizas como espárrago (*Aspa o 1*), lechuga (*Lac s 1*), col (*Bra o 3*), apio (*Api g 2 y 6*) y tomate (*Sola l 3*); leguminosas de lenteja (*Len c 3*), judía verde (*Pha v 3*), guisante (*Pis s 3*) y cacahuete (*Ara h 9*); frutos secos de castaña (*Cas s 8*), avellana (*Cor a 8*), nuez de nogal (*Jug r 3*), almendra (*Pru du 3*) y pipas de girasol (*Hel a 3*); cereales como trigo (*Tri a 19*) y maíz (*Zea m 14*); especias como mostaza (*Sin a 3*), así como en latex (*Hev b 12*), cannabis sativa (*Can s 3*) y en pólenes de artemisia vulgaris (*Art v 3*), olivo (*Ole e 7*), parietaria judaica (*Par j 1 y 2*), parietaria officinalis (*Par o 1*), plátano de sombra (*Pla a 3*), ambrosia (*Amb a 6*) y ciprés (Cuesta Herranz y cols., 2015; Palacín y cols., 2012).

A continuación en la Tabla 2 mostramos las LTPs registradas hasta la actualidad (listado de alérgenos WHO/IUIS, www.allergen.org, consulta Agosto de 2017).

TABLA 2: LISTADO DE PROTEÍNAS LTPs REGISTRADAS

LTPs REGISTRADAS EN FRUTAS			
Espece	Alérgeno	Identificación Bioquímica	Peso Molecular (kDa)
Albaricoque (<i>Prunus armeniaca</i>)	Pru ar 3	Non-specific LTP type 1	9 kDa
Cereza (<i>Prunus avium</i>)	Pru av 3	Non-specific LTP type 1	10 kDa
Ciruela (<i>Prunus domestica</i>)	Pru d 3	Non-specific LTP type 1	9 kDa
Frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>)	Rub i 3	Non-specific LTP type 1	11 kDa
Fresa (<i>Fragaria ananassa</i>)	Fra a 3	Non-specific LTP type 1	9 kDa
Granada (<i>Punica granatum</i>)	Pun g 1	Non-specific LTP type 1	9 kDa

LTPs REGISTRADAS EN FRUTAS

Especie	Alérgeno	Identificación Bioquímica	Peso Molecular (kDa)
Kiwi amarillo (<i>Actinidia chinensis</i>)	Act c 10	Non-specific LTP type 1	10 kDa
Kiwi verde (<i>Actinidia deliciosa</i>)	Act d 10	Non-specific LTP type 1	10 kDa
Limón (<i>Citrus limon</i>)	Cit l 3	Non-specific LTP type 1	9.6 kDa
Mandarina (<i>Citrus reticulata</i>)	Cit r 3	Non-specific LTP type 1	9 kDa
Manzana (<i>Malus domestica</i>)	Mal d 3	Non-specific LTP type 1	9 kDa
Melocotón (<i>Prunus pérsica</i>)	Pru p 3	Non-specific LTP type 1	10 kDa
Mora (<i>Morus nigra</i>)	Mor n 3	Non-specific LTP type 1	10 kDa
Naranja (<i>Citrus sinensis</i>)	Cit s 3	Non-specific LTP type 1	9.46 kDa
Pera (<i>Pyrus communis</i>)	Pyr c 3	Non-specific LTP type 1	N.A.
Plátano (<i>Musa acuminata</i>)	Mus a 3	Non-specific LTP type 1	9 kDa
Uva (<i>Vitis vinifera</i>)	Vit v 1	Non-specific LTP type 1	9 kDa

LTPs REGISTRADAS EN FRUTOS SECOS

Especie	Alérgeno	Identificación Bioquímica	Peso Molecular (kDa)
Almendra (<i>Prunus dulcis</i>)	Pru du 3	Non-specific LTP type 1	9 kDa
Avellana (<i>Corylus avellana</i>)	Cor a 8	Non-specific LTP type 1	9 kDa
Cacahuete (<i>Arachis hypogaea</i>)	Ara h 9	Non-specific LTP type 1	9.8 kDa
Castaña (<i>Castanea sativa</i>)	Cas s 8	Non-specific LTP type 1	12-13 kDa
Nuez de nogal (<i>Juglans regia</i>)	Jug r 3	Non-specific LTP type 1	9 kDa
Pipa de girasol (<i>Helianthus annuus</i>)	Hel a 3	Non-specific LTP type 1	9 kDa

LTPs REGISTRADAS EN LEGUMBRES

Especie	Alérgeno	Identificación Bioquímica	Peso Molecular (kDa)
Cacahuete (<i>Arachis hypogaea</i>)	Ara h 9	Non-specific LTP type 1	9.8 kDa
Guisante (<i>Pisum sativum</i>)	Pis s 3	Non-specific LTP type 1	9.5 kDa
Judía verde (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	Pha v 3	Non-specific LTP type 1	8.8-9.0 kDa
Lentejas (<i>Lens culinaris</i>)	Len c 3	Non-specific LTP type 1	9 kDa

LTPs REGISTRADAS EN HORTALIZAS

Especie	Alérgeno	Identificación Bioquímica	Peso Molecular (kDa)
Apio (<i>Apium graveolens</i>)	Api g 2	Non-specific LTP type 1	9 kDa
	Api g 6	Non-specific LTP type 2	7 kDa
Col (<i>Brassica oleracea</i>)	Bra o 3	Non-specific LTP type 1	9 kDa
Espárrago (<i>Asparagus officinalis</i>)	Aspa o 1	Non-specific LTP type 1	9 kDa
Lechuga (<i>Lactuca sativa</i>)	Lac s 1	Non-specific LTP type 1	9 kDa
Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	Sola l 3	Non-specific LTP type 1	9 kDa
	Sola l 6	Non-specific LTP type 2	7 kDa
	Sola l 7	Non-specific LTP type 1	12.5 kDa

LTPs REGISTRADAS EN CEREALES Y SEMILLAS

Especie	Alérgeno	Identificación Bioquímica	Peso Molecular (kDa)
Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	Tri a 14	Non-specific LTP type 1	9 kDa
Maíz (<i>Zea mays</i>)	Zea m 14	Non-specific LTP type 1	9.0 kDa
Mostaza blanca (<i>Sinapis alba</i>)	Sin a 3	Non-specific LTP type 1	12.3 kDa

LTPs REGISTRADAS EN PÓLENES

Especie	Alérgeno	Identificación Bioquímica	Peso Molecular (kDa)
Ambrosia (<i>Ambrosia artemisiifolia</i>)	Amb a 6	Non-specific LTP type 1	10 kDa
Artemisia (<i>Artemisia vulgaris</i>)	Art v 3	Non-specific LTP type 1	12 kDa
Cynodon (<i>Cynodon dactylon</i>)	Cyn d 24	Non-specific LTP type 1	21 kDa
Olivo (<i>Olea europea</i>)	Ole e 7	Non-specific LTP type 1	9-10 kDa
Parietaria judaica (<i>Parietaria judaica</i>)	Par j 1	Non-specific LTP type 1	15 kDa
	Par j 2	Non-specific LTP type 1	10-14 kDa
Parietaria officinalis (<i>Parietaria officinalis</i>)	Par o 1	Non-specific LTP type 1	15 kDa
Plátano de sombra (<i>Platanus acerifolia</i>)	Pla a 3	Non-specific LTP type 1	10 kDa
Plátano oriental (<i>Platanus orientalis</i>)	Pla or 3	Non-specific LTP type 1	11 kDa

LISTADO DE LTPs REGISTRADAS EN LATEX Y CANNABIS

Especie	Alérgeno	Identificación Bioquímica	Peso Molecular (kDa)
Latex (<i>Hevea brasiliensis</i>)	Hev b 12	Non-specific LTP type 1	9 kDa
Cannabis (<i>Cannabis sativa</i>)	Can s 3	Non-specific LTP type 1	9 kDa

Resultados recientes indican que, además de sensibilizar como agentes primarios por vía digestiva, también pueden hacerlo por vía inhalada (Palacin y cols., 2007; Enrique y cols., 2005). También se ha demostrado que pacientes sensibilizados a *Pru p 3* pueden sufrir síntomas respiratorios o por contacto cutáneo (Sánchez-López y cols., 2014; García y cols., 2004).

1.5 – Síndrome LTP

Los pacientes alérgicos a LTP de melocotón (*Pru p 3*) con frecuencia también refieren síntomas con otros alimentos vegetales no incluidos en la familia Rosaceae, y muchos de ellos, además, están sensibilizados a neumoalérgenos y padecen enfermedades respiratorias, tales como rinoconjuntivitis y asma bronquial. Este conjunto de síntomas heterogéneos que presentan los pacientes alérgicos a LTP es lo que actualmente se denomina “Síndrome LTP”. La mayoría están sensibilizados a *Pru p 3* de melocotón, que suele ser el primer alimento que les produce síntomas y, rara vez, se tolera. Además, los niveles de IgE suelen ser más elevados frente a *Pru p 3* que frente a otras LTPs. Existen diferentes perfiles, desde los pacientes sensibilizados únicamente a LTP de rosáceas, hasta aquellos sensibilizados a un gran número de LTPs de distintos alimentos. Estos últimos suelen presentar reacciones que con frecuencia son severas, y habitualmente el número de alimentos implicados va aumentando con el tiempo (Asero, 2014).

La sintomatología es variable, oscilando desde síntomas leves como prurito cutáneo al contacto o exposición con la piel de melocotón, hasta shock anafiláctico tras la ingestión

de alimentos vegetales, pasando por síndromes de alergia oro-faríngea. Como ya hemos explicado, la gravedad de los cuadros clínicos se ve potenciada por la termoestabilidad y la resistencia a la digestión de este tipo de proteínas. En general, podemos encontrar:

- Urticaria de contacto: Prurito, eritema o urticaria en las zonas de contacto con el alimento, más frecuentemente en manos.

- SAO: Prurito, eritema, edema de labios o de mucosa oral que, en ocasiones, se extiende a faringe y laringe. Si aparece compromiso respiratorio hablaríamos de un cuadro sistémico.

- Cuadro sistémico: Cuando aparece sintomatología en 2 o más órganos o sistemas, por definición puede ser un cuadro grave, y cuando asumimos dicha gravedad lo denominamos anafilaxia.

- Anafilaxia dependiente de alimentos inducida por cofactores: En el momento actual y cada vez con mayor frecuencia, estamos viendo pacientes sensibilizados a una proteína alimentaria (a menudo LTP) que sólo tienen reacción sistémica cuando además de comer el alimento en cuestión, concurre una circunstancia potenciadora. Esta última suele ser la toma de un antiinflamatorio no esteroideo (AINE) o la realización de ejercicio físico. Las manifestaciones clínicas suelen ser intensas, requiriendo asistencia en urgencias y la administración de adrenalina. La razón por la que ocurre la potenciación no es bien conocida, pero se piensa que podría deberse a una aceleración de la absorción y paso a sangre de la proteína. Aunque lo vemos asociado a LTP no es un fenómeno exclusivo de este antígeno alimentario. Los cofactores más frecuentemente implicados y mejor estudiados son el alcohol, la toma de AINEs y el ejercicio físico, aunque se ha visto que podrían actuar como cofactores el consumo de marihuana o hachís, el estrés, el cansancio y la menstruación. De todos estos síndromes, el mejor caracterizado es la anafilaxia inducida por ejercicio dependiente de la sensibilización a trigo, pero se conoce muy poco acerca de los cofactores amplificadores de las reacciones alérgicas a otros alimentos (Cardona y cols., 2012).

2. OBJETIVOS

2.1 – Objetivo primario

El objetivo primario ha sido determinar cuáles son los perfiles de sensibilización molecular de los pacientes diagnosticados de alergia alimentaria por sensibilización a *Pru p 3* (LTP de melocotón), en el área VII de Murcia (Murcia Este).

2.2 – Objetivos secundarios

- Establecer diferencias en los perfiles de sensibilización entre los tres grupos de pacientes seleccionados según la reacción alérgica que presentaban. Los mencionados grupos son: anafilaxia, clínica leve (urticaria, angioedema, SAO o síntomas digestivos) y pacientes sensibilizados a *Pru p 3* LTP de melocotón sin síntomas relacionados con la ingestión o contacto con alimentos.
- Determinar los principales factores de riesgo asociados a la alergia alimentaria por sensibilización a *Pru p 3* LTP de melocotón, mediante las técnicas de análisis bivariante y multivariante.
- Comparar las técnicas diagnósticas empleadas: prueba cutánea y determinación de IgE específica frente a los alérgenos principales.

3. METODOLOGÍA

3.1 – Población a estudio

3.1.1 – Ámbito del estudio y periodo de reclutamiento

El estudio se realizó en la Región de Murcia, en el departamento de salud del Área VII (Murcia Este), cuyo hospital de referencia es el Hospital Universitario Reina Sofía de Murcia, que da cobertura asistencial a una población global de 198.400 habitantes (Figura 7). El reclutamiento de pacientes para el estudio se hizo en la unidad de Alergología durante el periodo comprendido entre noviembre de 2014 y septiembre de 2015, incluyendo tanto primeras visitas como revisiones.

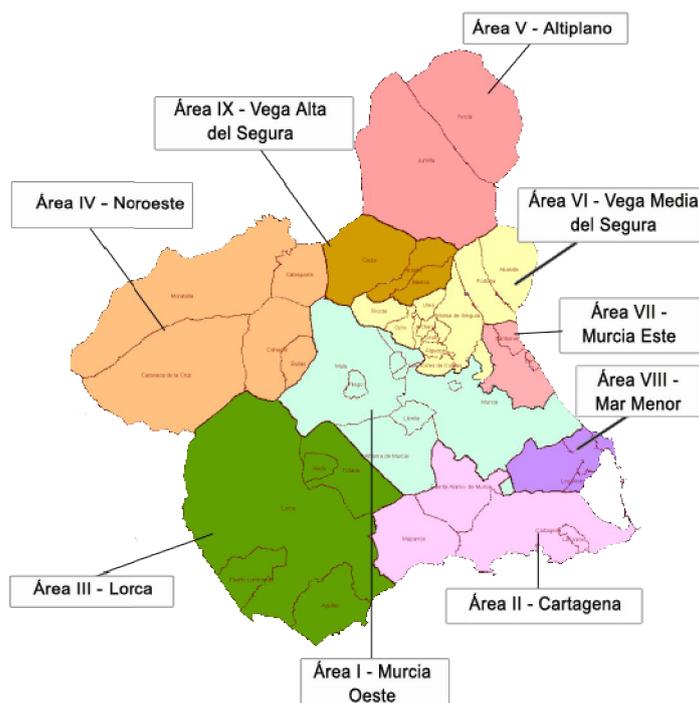


FIGURA 7: Mapa de las áreas de salud de la Región de Murcia.

3.1.2 – Muestreo y tamaño muestral

Se incluyeron en el estudio los primeros 60 casos consecutivos que cumplían con los requisitos especificados a continuación, a partir de la fecha de inicio del estudio, siendo esta cifra la “n” necesaria para una potencia del 80% y un error tipo I del 0,05.

3.1.3 – Criterios de inclusión

Los Criterios de Inclusión fueron:

- Edad comprendida entre 18 y 55 años.
- Prueba cutánea positiva (diámetro medio mayor de 3mm) y/o IgE específica positiva ($\geq 0,36$ kU/l) a *Pru p 3* (LTP melocotón).
- No haber llevado inmunoterapia en los 5 años previos a su inclusión en el estudio.
- Estar 5 años residiendo en la misma zona.

3.1.4 – Criterios de exclusión

Los Criterios de Exclusión eran:

- Pacientes con imposibilidad de realizar las pruebas diagnósticas.
- Incumplimiento de cualquiera de los criterios de inclusión antes mencionados.

3.2 – Material y métodos

3.2.1 – Tipo de estudio

Se trata de un estudio epidemiológico observacional de casos y controles, ambispectivo.

Toda la información relativa a los pacientes se obtuvo a partir de la realización de una historia clínica detallada y de las pruebas de diagnóstico alergológico, que se llevaron a cabo en los pacientes en una única visita. Ésta podía ser una primera visita o, en caso de tratarse de pacientes previamente diagnosticados y que cumplían con los criterios de inclusión, en una segunda visita al acudir a revisión.

Se crearon tres grupos de pacientes:

- Grupo 1: 30 pacientes que habían sufrido una reacción anafiláctica por alergia alimentaria, y estaban sensibilizados a *Pru p 3* (LTP de melocotón).
- Grupo 2: 15 pacientes que presentaban alergia alimentaria, estaban sensibilizados a *Pru p 3* (LTP de melocotón), pero con unos síntomas de

menor intensidad que la anafilaxia (urticaria, angioedema, SAO o síntomas digestivos).

- Grupo 3: 15 pacientes con patología respiratoria, que no tenían antecedentes de alergia alimentaria, pero a los que se les detecta que están sensibilizados a *Pru p 3* (LTP de melocotón). Estos dos últimos grupos actuarán como grupos controles.

3.2.2 – Variables del estudio

De cada paciente se recogieron los siguientes datos:

- Edad.
- Sexo.
- Antecedentes familiares de alergia.
- Lugar de residencia.
- Motivo de consulta: rinitis, conjuntivitis, asma, urticaria, angioedema, anafilaxia, síntomas digestivos (SAO, náuseas, dolor abdominal, etc), otros (dermatitis atópica, dermatitis de contacto, alergia a fármacos, etc).
- Tiempo de evolución de los síntomas desde el punto de vista alimentario y desde el punto de vista respiratorio, expresado en años.
- Alimentos con los que tienen síntomas y tipo de síntomas consecuencia de su alergia alimentaria.
- Cofactores implicados (ejercicio, AINEs y alcohol).

Se realizó a todos ellos:

- Pruebas cutáneas a pólenes: gramíneas, phleum, olivo, ciprés, plátano de jardín, chenopodium, salsola, artemisia y parietaria.
- Pruebas cutáneas a panalérgenos: LTP de melocotón, polcalcina y profilina.
- Pruebas cutáneas a alimentos estándar: frutas (melocotón, manzana, pera, kiwi, plátano, melón, fresa, piña), frutos secos (avellana, cacahuete, almendra, pipa, pistacho, nuez), verduras (tomate, apio), pimentón y cereales (trigo, gluten y maíz).

- Determinación de IgE específica a los diferentes componentes, usando para ello la plataforma de diagnóstico ImmunoCAP® ISAC® (Thermo Fisher Scientific Inc.).

3.2.3 – Método

Todas las pruebas que se realizaron entran dentro de la rutina diagnóstica habitual en estos pacientes.

- Pruebas Intraepidérmicas o Prick test:

Fue descrita por primera vez por Lewis y Grant en 1924 aunque fue definitivamente introducida como método diagnóstico en los años setenta (1975), tras las modificaciones realizadas por Pepys, quién empleaba agujas hipodérmicas para su ejecución (Pepys, 1975).

Permiten demostrar la existencia de reacciones de hipersensibilidad de tipo I, mediadas por IgE, aunque una prueba cutánea positiva no siempre indica alergia sino sensibilización al alérgeno.

Consisten en la colocación del extracto antigénico sobre la piel previamente limpia con alcohol, para la posterior introducción en la epidermis del paciente de una pequeña proporción del producto, por medio de una punción con una lanceta. Es una técnica sencilla, segura, rápida y de bajo coste, pero requiere de un entrenamiento tanto para su realización como para la interpretación de los resultados (Bousquet y cols., 2012). Si el personal que las realiza está bien entrenado, son bastantes reproducibles (Demoly y cols., 1991).

Los extractos alérgicos deben estar estandarizados, almacenados adecuadamente (2° - 8°) y seguir las normas de caducidad. Deben estar preparados en solución glicerizada al 50% o albúmina al 0,3%. La glicerina, además de dar mayor estabilidad y viscosidad a la solución, permite que las gotas depositadas en la piel del paciente se mantengan sin esparcirse. Las pruebas deben acompañarse siempre

de controles positivos y negativos. Como control positivo utilizamos clorhidrato de histamina (10 mg/ml), y como control negativo disolvente empleado en la preparación de los alérgenos o solución salina al 0,9%.

La estandarización de los extractos, tiene por objeto reducir las variaciones de la actividad alérgica inherentes a la materia prima y su extracto. Se realiza empleando métodos de laboratorio y biológicos, determinándose la potencia total, la actividad biológica del alérgeno y se cuantifica el/los alérgenos mayoritarios del extracto. Esto hará que sean reproducibles de un lote a otro (Aas y Belin., 1973).

En este estudio, los extractos alérgicos utilizados pertenecen al los laboratorios Bial-Aristegui y LETI (Tabla 3).

TABLA 3: EXTRACTOS ALERGÉNICOS UTILIZADOS EN EL ESTUDIO

Extractos Alergénicos		Laboratorio	Referencia
Pólenes	Gramíneas	Bial-Aristegui	177P0700
	Phleum	Bial-Aristegui	177P0711
	Olivo	Bial-Aristegui	177P4439
	Ciprés	Bial-Aristegui	177P1118
	Plátano de jardín	Bial-Aristegui	177P1111
	Chenopodium	Bial-Aristegui	177P0803
	Salsola	Bial-Aristegui	177P1409
	Artemisia	Bial-Aristegui	177P0901
	Parietaria	Bial-Aristegui	177P4452
Panalérgenos	LTP de melocotón	Bial-Aristegui	177P9301
	Polcalcina	Bial-Aristegui	177P1110
	Profilina	Bial-Aristegui	177P9300
Alimentos	Melocotón	LETI	63105
	Manzana	LETI	63101
	Pera	LETI	63114
	Kiwi	LETI	63441
	Plátano	LETI	63121
	Melón	LETI	63106

Extractos Alergénicos	Laboratorio	Referencia
Fresa	LETI	63078
Piña	LETI	63038
Avellana	LETI	63042
Cacahuete	LETI	63048
Almendra	LETI	63037
Pipa	LETI	63118
Pistacho	LETI	63120
Nuez	LETI	63111
Tomate	LETI	63129
Apio	LETI	63039
Pimentón	LETI	63437
Trigo	LETI	63130
Gluten	Bial-Aristegui	177P9020
Maíz	LETI	63099

Contraindicaciones para la realización de estas pruebas:

1. Pacientes en tratamiento con fármacos que interfieren con el resultado de las pruebas: antihistamínicos, antidepresivos tricíclicos, fenotiazinas, ranitidina, hidroxicina, ketotifeno y corticoides tópicos.
2. Pacientes que presentan lesiones cutáneas que imposibilitan su realización: eccema en la piel, dermatitis atópica (Uehara, 1982).
3. Pacientes que presentan dermografismo positivo: si bien no invalida las pruebas cutáneas, exige una comparación más cautelosa con los controles (Volonakis y cols., 1991).
4. En pacientes que han sufrido un episodio de anafilaxia, puede existir un periodo refractario inmediatamente posterior donde se pueden obtener pruebas falsamente negativas (Muraro y cols., 2014).
5. Síntomas agudos de asma.
6. Enfermedades sistémicas que atenúan la respuesta de la piel: neoplasias, insuficiencia renal crónica, hemodiálisis crónica, neuropatías periféricas o

alteraciones medulares (Bousquet y cols., 1991; Goldberg y cols., 1991; Bousquet y cols., 1988; Aronin y cols., 1987).

7. Evidencias de pacientes con reacciones graves en pruebas intraepidérmicas previas, aunque no se han descrito reacciones mortales con este tipo de pruebas (Liccardi y cols., 2003).

- ImmunoCAP® ISAC® (Thermo Fisher Scientific Inc.):

Se trata de una prueba diagnóstica *in vitro* para la medición simultánea de anticuerpos IgE específicos a 112 componentes, de 51 fuentes de alérgenos distintas.

Se utiliza para ello 30 µL de suero o plasma del paciente. Los sueros se incuban en un biochip con 4 cámaras de reacción, cada una para una muestra distinta. En primer lugar, se produce la interacción de la IgE del paciente con el alérgeno problema, fijado por triplicado en la matriz. Posteriormente, los anticuerpos IgE unidos a los alérgenos se detectan por enzimoimmunoensayo con un anticuerpo anti-IgE marcado con un fluorocromo. La intensidad de fluorescencia se mide usando un escáner de micromatrices, los resultados se evalúan mediante el software Phadia Microarray Image Analysis (MIA) y se genera un informe específico. Los resultados se presenta de forma semicuantitativas (unidades estandarizadas ISAC / ISU), que indican niveles de anticuerpos IgE específicos con un alcance de medición de 0,3 a 100 ISU-E. El procedimiento de la prueba (incluidos los pasos de lavado e incubación) dura, en total, menos de 4 horas (Figuras 8 y 9).

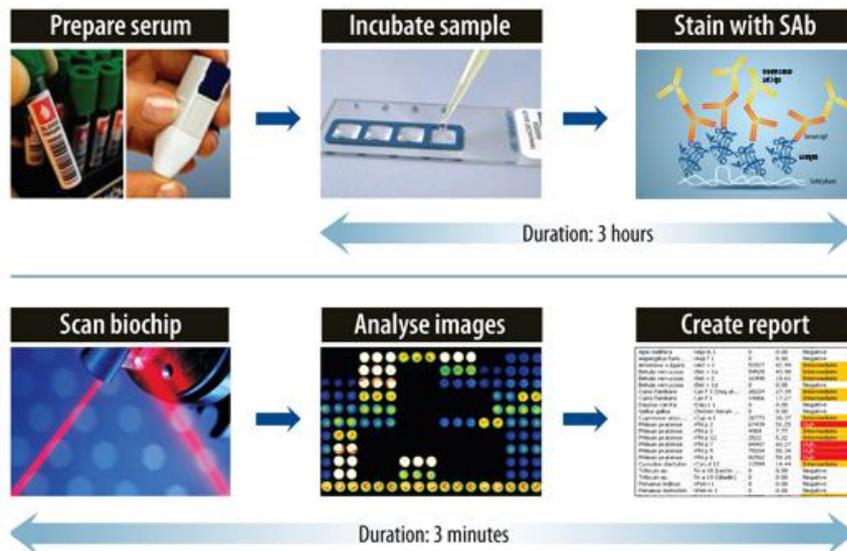


FIGURA 8: Técnica de InmunoCAP ISAC.

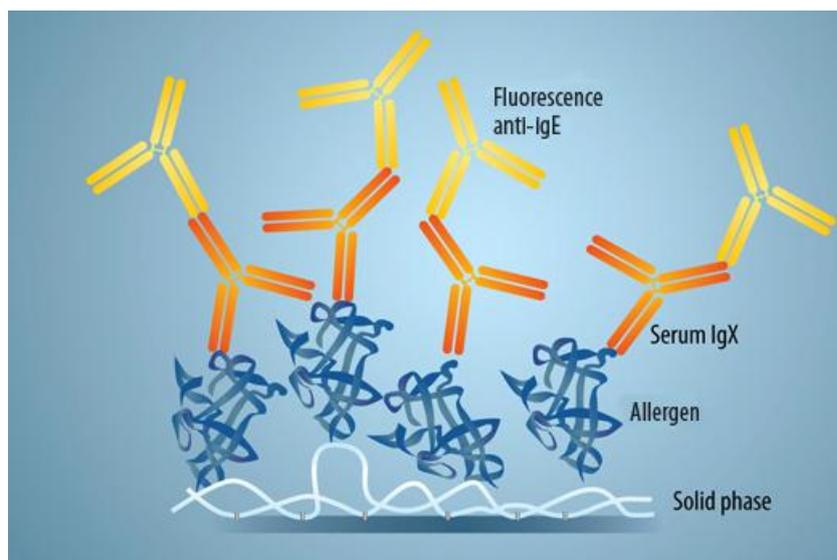


FIGURA 9: Detalle de los anticuerpos IgE del suero del paciente unidos a los alérgenos problemas fijados a la matriz, que se detectarán por enzimoimmunoensayo con un anticuerpo anti-IgE marcado con un fluorocromo.

Las ventajas de utilizar los sistemas de detección múltiple de alérgenos, frente al estudio de los componentes por separado, son varias (Sanz y cols., 2011; Asero, 2012; Sastre, 2013; Douladiris y cols 2013; Incorvaia y cols., 2014):

- En pacientes polisensibilizados, identifica la existencia de co-sensibilización (sensibilización genuina a diferentes proteínas específicas) o, por el contrario, de sensibilización a alérgenos de reactividad cruzada (proteínas homologas presentes en diferentes fuentes alérgicas).
- Permite identificar marcadores con un mayor riesgo de reacciones graves (por ejemplo proteínas de transferencia de lípidos –LTPs- y proteínas de almacenamiento) o, en otras ocasiones, marcadores de menor riesgo de reacciones graves (por ejemplo profilinas y PR-10).
- En pacientes polisensibilizados puede suponer un ahorro de tiempo y dinero, ya que la información acerca de los principales alérgenos se obtienen con una sola prueba.
- Permite optimizar la indicación de inmunoterapia, así como incrementar su seguridad.
- Ofrece la posibilidad de detectar la reactividad de IgE frente a fuentes de alérgenos insospechados o alérgenos ocultos.
- Nos permite identificar los perfiles individuales de sensibilización IgE, y poder establecer determinados patrones específicos para diferentes áreas geográficas.

No obstante, es necesaria una formación específica previa para interpretar correctamente toda la información que se obtiene, determinar su relevancia clínica e identificar patrones de sensibilización.

3.2.4 – Análisis estadístico

Análisis descriptivos

Se realizaron los análisis descriptivos de todas las variables recogidas. Dependiendo del carácter de la variable:

- Las variables categóricas se resumen mediante frecuencias y porcentajes.
- Las variables continuas se resumen mediante las medidas de tendencia central y dispersión: media, desviación estándar, mediana, los percentiles del 25% y el 75% (Q1 y Q3) y valores extremos (mínimo y máximo).

Análisis bivariante

Para responder a los objetivos del estudio, se evaluó la relación entre variables:

- Para valorar la relación entre una variable categórica y el grupo de pacientes, se presentan tablas de contingencia con la frecuencia en cada categoría y el porcentaje por columnas. La posible asociación se evaluó mediante las pruebas de Chi cuadrado o test exacto de Fisher y se presenta el p-valor resultante.
- Para valorar la relación entre una variable numérica y el grupo de pacientes, se presentan los estadísticos descriptivos por grupos. La posible asociación se determinó mediante la realización de una ANOVA o la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

Cálculo de variables derivadas

Pruebas cutáneas positivas: valor del diámetro de la pápula > 3mm.

Prueba IgE positiva: valor de la prueba > 0.35 KU/L.

3.3 – Aspectos éticos y legales

El estudio fue aprobado por la Comisión de Investigación del Hospital General Universitario Reina Sofía de Murcia.

No supuso ningún riesgo para los pacientes, ya que todas las pruebas que se hicieron entran dentro de la rutina diagnóstica habitual en estos pacientes. Asimismo se aplicaron los principios éticos de la investigación en humanos que se recogen tanto en la declaración de Helsinki como en el informe Belmont y que se concretan en los principios básicos de respeto por las personas, beneficencia y justicia.

Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los pacientes incluidos en el estudio. Para preservar la confidencialidad, según establece la Ley Orgánica de 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, cada paciente se identificó por un código.

Además, las hojas de recogida de información se archivaron de forma apropiada para asegurar la confidencialidad, junto con el resto del material del estudio.

4. RESULTADOS

Antes de analizar los objetivos señalados, describiremos cuál ha sido la muestra de pacientes incluidos en nuestro estudio.

4.1 – Descripción de la muestra

Se incluyeron un total de 60 pacientes, 30 pacientes en lo que llamaremos Grupo Anafilaxia (Grupo 1: pacientes con alergia alimentaria que habían sufrido una reacción anafiláctica y estaban sensibilizados a *Prup 3*) y 15 pacientes en cada uno de los grupos que actúan como controles. El Grupo Urticaria (Grupo 2: pacientes con alergia alimentaria sensibilizados a *Prup 3* pero con unos síntomas de menor intensidad que la anafilaxia, como urticaria, angioedema, SAO y/o síntomas digestivos) y en el Grupo Sin Reacción (Grupo 3: pacientes con patología respiratoria, que no tenían antecedentes de alergia alimentaria, pero a los que se les detecta que están sensibilizados a *Prup 3*).

En la Tabla 4 se describen las características demográficas de nuestros pacientes (sexo, edad y hábitat), no registrándose diferencias estadísticamente significativas entre los 3 grupos, por lo tanto podemos decir que demográficamente son similares. A pesar de ello, mencionar que en el Grupo 3 el porcentaje de varones es superior al de mujeres, justo lo contrario de lo que ocurre en los Grupos 1 y 2. Respecto a la edad, mencionar que el grupo con mediana de edad inferior al resto era el Grupo 2.

TABLA 4: DESCRIPCIÓN DE LOS DATOS SOCIODEMOGRÁFICOS POR GRUPOS

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	Total (n=60)
Sexo					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Hombre	n (%)	11 (36.7%)	5 (33.3%)	10 (66.7%)	26 (43.3%)
Mujer	n (%)	19 (63.3%)	10 (66.7%)	5 (33.3%)	34 (56.7%)
	p-valor				0.1065
Edad (años)					
	n	30	15	15	60

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	Total (n=60)
	Media (Desv. estándar)	32.3 (10.3)	29.3 (10.2)	33.8 (10.7)	32.0 (10.3)
	Mediana (Q1, Q3)	32.0 (23.0, 40.0)	25.0 (23.0, 37.0)	34.0 (28.0, 41.0)	32.0 (23.0, 40.0)
	Min, Max	18, 57	18, 53	18, 53	18, 57
	p-valor				0.4847
Origen					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Urbana	n (%)	16 (53.3%)	8 (53.3%)	6 (40.0%)	30 (50.0%)
Huerta	n (%)	12 (40.0%)	6 (40.0%)	6 (40.0%)	24 (40.0%)
Campo	n (%)	2 (6.7%)	1 (6.7%)	3 (20.0%)	6 (10.0%)
	p-valor				0.6626

Respecto a los datos clínicos, sí encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en la variable "antecedentes familiares de alergia", siendo más frecuentes en el Grupo 3 ($p=0.0187$), estando el resto de variables (urticaria, angioedema, anafilaxia y síntomas digestivos) lógicamente influidas por la definición clínica de los grupos, aunque nos permiten establecer la adecuada selección de los pacientes y su inclusión en cada uno de los 3 grupos de estudio. La manifestación clínica de "conjuntivitis" se registró de forma más frecuente en el Grupo 3 ($p=0.0224$). Todo ello se puede ver en la Tabla 5.

TABLA 5: DESCRIPCIÓN DE LOS DATOS CLÍNICOS POR GRUPOS

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	Total (n=60)
Antecedentes familiares					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Sí	n (%)	27 (90.0%)	12 (80.0%)	8 (53.3%)	47 (78.3%)
No o desconocido	n (%)	3 (10.0%)	3 (20.0%)	7 (46.7%)	13 (21.7%)
	p-valor				0.0187
Rinitis					
Total no-missing	n	30	15	15	60

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	Total (n=60)
No	n (%)	9 (30.0%)	2 (13.3%)	2 (13.3%)	13 (21.7%)
Sí	n (%)	21 (0.0%)	13 (86.7%)	13 (86.7%)	47 (78.3%)
	p-valor				0.2930
Conjuntivitis					
Total no-missing	n	30	15	15	60
No	n (%)	19 (63.3%)	8 (53.3%)	3 (20.0%)	30 (50.0%)
Sí	n (%)	11 (36.7%)	7 (46.7%)	12 (80.0%)	30 (50.0%)
	p-valor				0.0224
Asma					
Total no-missing	n	30	15	15	60
No	n (%)	17 (56.7%)	8 (53.3%)	6 (40.0%)	31 (51.7%)
Sí	n (%)	13 (43.3%)	7 (46.7%)	9 (60.0%)	29 (48.3%)
	p-valor				0.5671
Urticaria					
Total no-missing	n	30	15	15	60
No	n (%)	4 (13.3%)	12 (80.0%)	15 (100.0%)	31 (51.7%)
Sí	n (%)	26 (86.7%)	3 (20.0%)		29 (48.3%)
	p-valor				<.0001
Angioedema					
Total no-missing	n	30	15	15	60
No	n (%)	6 (20.0%)	11 (73.3%)	15 (100.0%)	32 (53.3%)
Sí	n (%)	24 (80.0%)	4 (26.7%)		28 (46.7%)
	p-valor				<.0001
Anafilaxia					
Total no-missing	n	30	15	15	60
No	n (%)		15 (100.0%)	15 (100.0%)	30 (50.0%)
Sí	n (%)	30 (100.0%)			30 (0.0%)
	p-valor				<.0001
Digestivos					
Total no-missing	n	30	15	15	60

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	Total (n=60)
No	n (%)	3 (10.0%)		15 (100.0%)	18 (30.0%)
Sí	n (%)	27 (90.0%)	15 (100.0%)		42 (70.0%)
	p-valor				<.0001
Otros					
Total no-missing	n	30	15	15	60
No	n (%)	27 (90.0%)	14 (93.3%)	13 (86.7%)	54 (90.0%)
Sí	n (%)	3 (10.0%)	1 (6.7%)	2 (3.3%)	6 (10.0%)
	p-valor				0.8310

Resulta interesante conocer el tiempo transcurrido desde que se iniciaron los síntomas desde el punto de vista alimentario y/o respiratorio, hasta que el paciente acudió al alergólogo. En la Tabla 6 vemos como el tiempo era significativamente menor en el Grupo 1 respecto al Grupo 2 en cuanto a los síntomas alimentarios ($p < 0.001$), mientras que en los síntomas respiratorios dicho tiempo era menor en los Grupos 1 y 3 respecto al 2, aunque en este caso las diferencias no son estadísticamente significativas.

TABLA 6: TIEMPO TRANSCURRIDO HASTA EL DIAGNÓSTICO POR GRUPOS

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	Total (n=60)
Tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas alimentarios	n	30	15	15	60
	Media (Desv. estándar)	7.5 (6.2)	12.4 (11.3)	0.0 (0.0)	6.9 (8.3)
	Mediana (Q1, Q3)	5.0 (2.0, 11.0)	10.0 (1.0, 17.0)	0.0 (0.0, 0.0)	4.0 (0.5, 11.0)
	Min, Max	1, 21	1, 46	0, 0	0, 46
	p-valor				<.0001
Tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas respiratorios	n	30	15	15	60
	Media (Desv. estándar)	9.0 (9.8)	12.1 (10.5)	6.7 (7.6)	9.2 (9.5)
	Mediana (Q1, Q3)	5.0 (0.0, 16.0)	11.0 (1.0, 18.0)	4.0 (2.0, 10.0)	6.0 (1.0, 16.0)
	Min, Max	0, 30	0, 38	0, 30	0, 38
	p-valor				0.4217

Un aspecto relevante en estos pacientes es conocer a qué alimentos están sensibilizados, de acuerdo a los datos de la historia clínica. Así, vemos que la sensibilización a frutos secos y verduras es significativamente superior en el Grupo 1 respecto al Grupo 2, ocurriendo lo contrario con las frutas y cereales, tal y como se ve en la siguiente tabla:

TABLA 7: ALIMENTOS CON LOS QUE PRESENTAN CLÍNICA SEGÚN HISTORIA CLÍNICA POR GRUPOS

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)
Frutos secos			
Total no-missing	n	30	15
No	n (%)	2 (6.7%)	5 (33.3%)
Sí	n (%)	28 (93.3%)	10 (66.7%)
	p-valor		<0.05
Frutas			
Total no-missing	n	30	15
No	n (%)	3 (10.0%)	
Sí	n (%)	27 (90.0%)	15 (100.0%)
	p-valor		<0.05
Verduras			
Total no-missing	n	30	15
No	n (%)	8 (26.7%)	12 (80.0%)
Sí	n (%)	22 (73.3%)	3 (20.0%)
	p-valor		<0.05
Cereales			
Total no-missing	n	30	15
No	n (%)	23 (76.7%)	14 (93.3%)
Sí	n (%)	7 (3.3%)	1 (6.7%)
	p-valor		<0.05

A continuación se expone en la Tabla 8 los resultados obtenidos en las pruebas cutáneas realizadas, expresado en forma de porcentaje de pacientes sensibilizados para cada uno de los extractos por grupos. Los resultados fueron estadísticamente significativos para

olivo, cacahuete, nuez, melocotón, manzana y kiwi, cuya sensibilización fue más frecuente en los pacientes del Grupo 3.

TABLA 8: DESCRIPCIÓN DE LA POSITIVIDAD DE LAS PRUEBAS CUTÁNEAS POR GRUPOS

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	Total (n=60)
Gramineas					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	20 (66.7%)	12 (80.0%)	12 (80.0%)	44 (73.3%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	10 (33.3%)	3 (20.0%)	3 (20.0%)	16 (26.7%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.5057
Phleum					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	20 (66.7%)	12 (80.0%)	13 (86.7%)	45 (75.0%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	10 (33.3%)	3 (20.0%)	2 (13.3%)	15 (25.0%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.3012
Olivo					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	9 (30.0%)	5 (33.3%)	12 (80.0%)	26 (43.3%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	21 (70.0%)	10 (66.7%)	3 (20.0%)	34 (56.7%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.0041
Ciprés					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	28 (93.3%)	14 (93.3%)	15 (100.0%)	57 (95.0%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	2 (6.7%)	1 (6.7%)		3 (5.0%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.5908
Plátano de jardín					
Total no-missing	n	30	15	15	60

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	Total (n=60)
Negativo (<3mm)	n (%)	24 (80.0%)	15 (100.0%)	14 (93.3%)	53 (88.3%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	6 (20.0%)		1 (6.7%)	7 (11.7%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.1127
Chenopodium					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	26 (86.7%)	15 (100.0%)	12 (80.0%)	53 (88.3%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	4 (13.3%)		3 (20.0%)	7 (11.7%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.2152
Salsola					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	23 (76.7%)	13 (86.7%)	11 (73.3%)	47 (78.3%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	7 (23.3%)	2 (13.3%)	4 (26.7%)	13 (21.7%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.6428
Artemisia					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	13 (43.3%)	8 (53.3%)	10 (66.7%)	31 (51.7%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	17 (56.7%)	7 (46.7%)	5 (33.3%)	29 (48.3%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.3325
Parietaria					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	21 (70.0%)	13 (86.7%)	12 (80.0%)	46 (76.7%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	9 (30.0%)	2 (13.3%)	3 (20.0%)	14 (23.3%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.4324
Polcalcina					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	29 (96.7%)	13 (86.7%)	15 (100.0%)	57 (95.0%)

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	Total (n=60)
Positivo (>=3mm)	n (%)	1 (3.3%)	2 (13.3%)		3 (5.0%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.2062
Profilina					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	29 (96.7%)	14 (93.3%)	13 (86.7%)	56 (93.3%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	1 (3.3%)	1 (6.7%)	2 (13.3%)	4 (6.7%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.4477
LTP					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Positivo (>=3mm)	n (%)	30 (100.0%)	15 (100.0%)	15 (100.0%)	60 (100.0%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				—
Avellana					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	11 (36.7%)	8 (53.3%)	10 (66.7%)	29 (48.3%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	19 (63.3%)	7 (46.7%)	5 (33.3%)	31 (51.7%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.1493
Cacahuete					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	5 (16.7%)	9 (60.0%)	9 (60.0%)	23 (38.3%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	25 (83.3%)	6 (40.0%)	6 (40.0%)	37 (61.7%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.0026
Almendra					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	21 (70.0%)	14 (93.3%)	12 (80.0%)	47 (78.3%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	9 (30.0%)	1 (6.7%)	3 (20.0%)	13 (21.7%)
Missing	n	0	0	0	0

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	Total (n=60)
	p-valor				0.1978
Pipas					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	15 (50.0%)	12 (80.0%)	12 (80.0%)	39 (65.0%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	15 (50.0%)	3 (20.0%)	3 (20.0%)	21 (35.0%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.0515
Pistacho					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	20 (66.7%)	9 (60.0%)	12 (80.0%)	41 (68.3%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	10 (33.3%)	6 (40.0%)	3 (20.0%)	19 (31.7%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.4811
Nuez					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	10 (33.3%)	12 (80.0%)	14 (93.3%)	36 (60.0%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	20 (66.7%)	3 (20.0%)	1 (6.7%)	24 (40.0%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.0001
Melocoton					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	19 (63.3%)	14 (93.3%)	14 (93.3%)	47 (78.3%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	11 (36.7%)	1 (6.7%)	1 (6.7%)	13 (21.7%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.0187
Manzana					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	15 (50.0%)	13 (86.7%)	11 (73.3%)	39 (65.0%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	15 (50.0%)	2 (13.3%)	4 (26.7%)	21 (35.0%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.0384

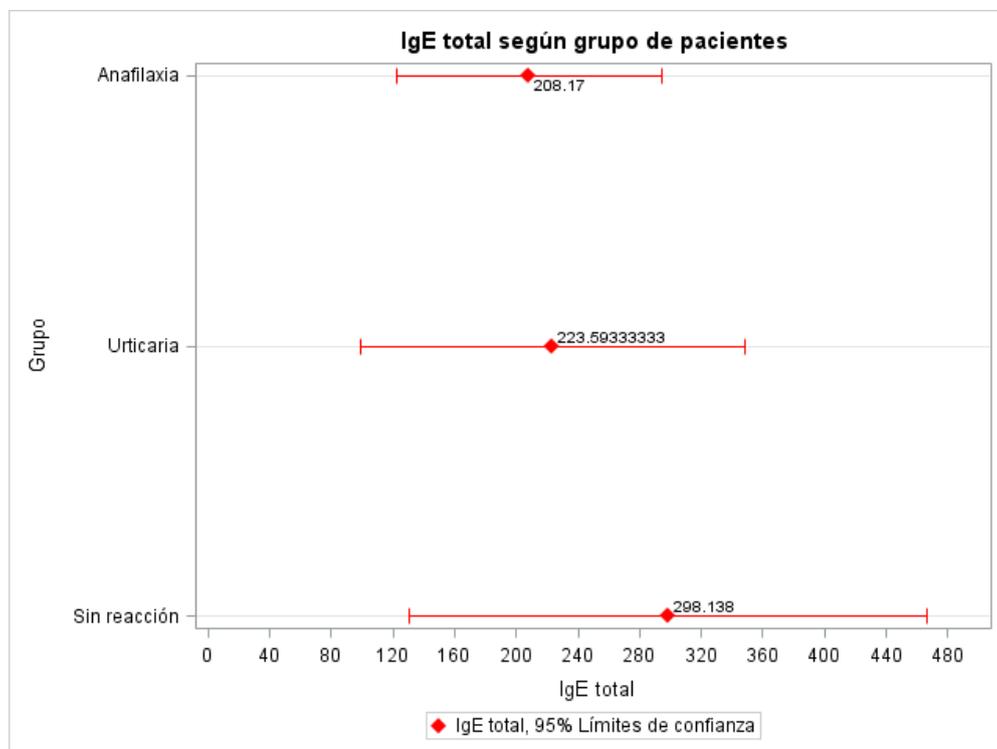
		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	Total (n=60)
Pera					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	30 (100.0%)	15 (100.0%)	15 (100.0%)	60 (100.0%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				--
Kiwi					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	15 (50.0%)	13 (86.7%)	12 (80.0%)	40 (66.7%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	15 (50.0%)	2 (13.3%)	3 (20.0%)	20 (33.3%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.0218
Plátano					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	26 (86.7%)	15 (100.0%)	14 (93.3%)	55 (91.7%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	4 (13.3%)		1 (6.7%)	5 (8.3%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.3012
Melon					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	27 (90.0%)	13 (86.7%)	13 (86.7%)	53 (88.3%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	3 (10.0%)	2 (13.3%)	2 (13.3%)	7 (11.7%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.9223
Fresa					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	24 (80.0%)	15 (100.0%)	14 (93.3%)	53 (88.3%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	6 (20.0%)		1 (6.7%)	7 (11.7%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.1127
Piña					
Total no-missing	n	30	15	15	60

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	Total (n=60)
Negativo (<3mm)	n (%)	28 (93.3%)	15 (100.0%)	14 (93.3%)	57 (95.0%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	2 (6.7%)		1 (6.7%)	3 (5.0%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.5908
Tomate					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	22 (73.3%)	12 (80.0%)	9 (60.0%)	43 (71.7%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	8 (26.7%)	3 (20.0%)	6 (40.0%)	17 (28.3%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.4585
Apio					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	25 (83.3%)	13 (86.7%)	14 (93.3%)	52 (86.7%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	5 (16.7%)	2 (13.3%)	1 (6.7%)	8 (13.3%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.6488
Pimentón					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	18 (60.0%)	13 (86.7%)	9 (60.0%)	40 (66.7%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	12 (40.0%)	2 (13.3%)	6 (40.0%)	20 (33.3%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.1653
Trigo					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	28 (93.3%)	15 (100.0%)	15 (100.0%)	58 (96.7%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	2 (6.7%)			2 (3.3%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.3554
Gluten					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	28 (93.3%)	15 (100.0%)	14 (93.3%)	57 (95.0%)

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	Total (n=60)
Positivo (>=3mm)	n (%)	2 (6.7%)		1 (6.7%)	3 (5.0%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.5908
Maíz					
Total no-missing	n	30	15	15	60
Negativo (<3mm)	n (%)	15 (50.0%)	8 (53.3%)	8 (53.3%)	31 (51.7%)
Positivo (>=3mm)	n (%)	15 (50.0%)	7 (46.7%)	7 (46.7%)	29 (48.3%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.9672

Los valores de IgE total no difieren significativamente entre los 3 grupos de pacientes seleccionados (Figura 10):

FIGURA 10: IGE TOTAL SEGÚN GRUPO DE PACIENTES



Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los 3 grupos cuando se analizó el papel de los considerados principales cofactores para una posible reacción alérgica, es decir AINEs, ejercicio y alcohol, aunque de estos el que se vio más frecuentemente implicado fueron los AINEs (Tabla 9).

TABLA 9: COFACTORES POR GRUPOS DE PACIENTES

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	Total (n=60)
AINEs					
Total no-missing	n	30	15	15	60
No	n (%)	23 (76.7%)	12 (80.0%)	15 (100.0%)	50 (83.3%)
Sí	n (%)	7 (23.3%)	3 (20.0%)		10 (16.7%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.1300
Ejercicio					
Total no-missing	n	30	15	15	60
No	n (%)	28 (93.3%)	13 (86.7%)	15 (100.0%)	56 (93.3%)
Sí	n (%)	2 (6.7%)	2 (13.3%)		4 (6.7%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.3425
Alcohol					
Total no-missing	n	30	15	15	60
No	n (%)	26 (86.7%)	15 (100.0%)	15 (100.0%)	56 (93.3%)
Sí	n (%)	4 (13.3%)			4 (6.7%)
Missing	n	0	0	0	0
	p-valor				0.1173

4.2 – Perfiles de sensibilización molecular de los pacientes diagnosticados de alergia alimentaria por sensibilización a Pru p 3 LTP de melocotón

Tal y como se ha descrito en el apartado de metodología, el análisis de sensibilización molecular de estos pacientes se determinó mediante la plataforma ImmunoCAP® ISAC® (Thermo Fisher Scientific Inc.). Dado que el objetivo principal y el objetivo

secundario primero son complementarios, se describen de forma conjunta en este apartado.

No se han detectado sensibilizaciones a los alérgenos alimentarios especie-específicos de clara de huevo (*Gal d 1, Gal d 2, Gal d 3, Gal d 5*), leche de vaca (*Bos d 4, Bos d 5, Bos d 8, Bos d lactoferrin*), bacalao (*Gad c 1*), langostino (*Pen m 2*), anacardo (*Ana o 2*), nuez de Brasil (*Ber e 1*), avellana (*Cor a 9*), nuez (*Jug r 1*), sésamo (*Ses i 1*), cacahuete (*Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 6*), soja (*Gly m 5*), trigo (*Tri a 19 0101, Tri a aA_T1*), y kiwi (*Act d 1, Act d 5*). Tampoco se detectaron sensibilizaciones a los alérgenos de pólenes especie-específicos de ambrosia *Amb a 1*, y plantago *Pla l 1*.

Por el contrario, aparecen pacientes sensibilizados a los alérgenos de pólenes especie-específicos de cynodon (*Cyn d 1*), phleum (*Phl p 1, Phl p 2, Phl p 4, Phl p 5, Phl p 6, Phl p 11*), cedro japonés (*Cry j 1*), ciprés (*Cup a 1*), olivo (*Ole e 1, Ole e 9*), plátano acerifolia (*Pla a 1, Pla a 2*), artemisia (*Art v 1*), chenopodium (*Che a 1*), parietaria (*Par j 2*), y salsola (*Sal k 1*), pero sin que se registraran diferencias significativas entre los grupos incluidos, salvo para *Ole e 1*, siendo más frecuente en el Grupo 2 ($p=0.0135$). En la Tabla 10 se ven los resultados obtenidos:

TABLA 10: DIFERENCIAS EN LOS PERFILES DE SENSIBILIZACIÓN MOLECULAR ENTRE LOS TRES GRUPOS: SENSIBILIZACIÓN A ALÉRGENOS ESPECIE-ESPECÍFICOS DE PÓLENES

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	p valor
Cyn d 1					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	20 (66.7%)	11 (73.3%)	10 (66.7%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	10 (33.3%)	4 (26.7%)	5 (33.3%)	
Missing	n	0	0	0	0.8909
	p-valor				
Phl p 1					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	20 (66.7%)	10 (66.7%)	11 (73.3%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	10 (33.3%)	5 (33.3%)	4 (26.7%)	
Missing	n	0	0	0	

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	p valor
	p-valor				0.8909
Phl p 2					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	27 (90.0%)	14 (93.3%)	13 (86.7%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	3 (10.0%)	1 (6.7%)	2 (13.3%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.8310
Phl p 4					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	25 (83.3%)	15 (100.0%)	11 (73.3%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	5 (16.7%)		4 (26.7%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.1157
Phl p 5					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	26 (86.7%)	14 (93.3%)	12 (80.0%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	4 (13.3%)	1 (6.7%)	3 (20.0%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.5616
Phl p 6					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	27 (90.0%)	15 (100.0%)	14 (93.3%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	3 (10.0%)		1 (6.7%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.4477
Phl p 11					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	28 (93.3%)	15 (100.0%)	13 (86.7%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	2 (6.7%)		2 (13.3%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.3425

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	p valor
Cry j 1					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	25 (83.3%)	12 (80.0%)	11 (73.3%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	5 (16.7%)	3 (20.0%)	4 (26.7%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.7316
Cup a 1					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	24 (80.0%)	11 (73.3%)	10 (66.7%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	6 (20.0%)	4 (26.7%)	5 (33.3%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.6133
Ole e 1					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	15 (50.0%)	4 (26.7%)	12 (80.0%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	15 (50.0%)	11 (73.3%)	3 (20.0%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.0135
Ole e 9					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	29 (96.7%)	15 (100.0%)	15 (100.0%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	1 (3.3%)			
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.6014
Pla a 1					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	28 (93.3%)	15 (100.0%)	14 (93.3%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	2 (6.7%)		1 (6.7%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.5908
Pla a 2					

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	p valor
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	26 (86.7%)	15 (100.0%)	11 (73.3%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	4 (13.3%)		4 (26.7%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.0995
Art v 1					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	25 (83.3%)	13 (86.7%)	13 (86.7%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	5 (16.7%)	2 (13.3%)	2 (13.3%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.9367
Che a 1					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	29 (96.7%)	15 (100.0%)	14 (93.3%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	1 (3.3%)		1 (6.7%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.5962
Par j 2					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	22 (73.3%)	13 (86.7%)	12 (80.0%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	8 (26.7%)	2 (13.3%)	3 (20.0%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.5827
Sal k 1					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	22 (73.3%)	12 (80.0%)	12 (80.0%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	8 (26.7%)	3 (20.0%)	3 (20.0%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.8300

En los 3 grupos se han encontrado porcentajes similares en lo que se refiere a sensibilización frente a LTPs de alimentos (*Ara h 9*, *Cor a 8*, *Jug r 3*, *Pru p 3* y *Tri a 14*), e igual ocurre con las LTPs de pólenes (*Art v 3*, *Ole e 7* y *Pla a 3*). De estas, sólo se ha registrado diferencias estadísticamente significativas para *Tri a 14*, siendo más frecuente en el Grupo 3 ($p=0.0498$). Esto es lo que se observa en la Tabla 11:

TABLA 11: DIFERENCIAS EN LOS PERFILES DE SENSIBILIZACIÓN MOLECULAR ENTRE LOS TRES GRUPOS: SENSIBILIZACIÓN A LTPS DE ALIMENTOS Y PÓLENES

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	p valor
Ara h 9					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (≤ 0.35)	n (%)	9 (30.0%)	7 (46.7%)	8 (53.3%)	
Positivo (> 0.35)	n (%)	21 (70.0%)	8 (53.3%)	7 (46.7%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.2673
Cor a 8					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (≤ 0.35)	n (%)	11 (36.7%)	10 (66.7%)	8 (53.3%)	
Positivo (> 0.35)	n (%)	19 (63.3%)	5 (33.3%)	7 (46.7%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.1493
Jug r 3					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (≤ 0.35)	n (%)	6 (20.0%)	4 (26.7%)	4 (26.7%)	
Positivo (> 0.35)	n (%)	24 (80.0%)	11 (73.3%)	11 (73.3%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.8300
Pru p 3					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (≤ 0.35)	n (%)	2 (6.7%)	3 (20.0%)	2 (13.3%)	
Positivo (> 0.35)	n (%)	28 (93.3%)	12 (80.0%)	13 (86.7%)	
Missing	n	0	0	0	

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	p valor
	p-valor				0.4109
Tri a 14					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	25 (83.3%)	15 (100.0%)	10 (66.7%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	5 (16.7%)		5 (33.3%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.0498
Art v 3					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	8 (26.7%)	7 (46.7%)	6 (40.0%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	22 (73.3%)	8 (53.3%)	9 (60.0%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.3719
Ole e 7					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	21 (70.0%)	11 (73.3%)	14 (93.3%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	9 (30.0%)	4 (26.7%)	1 (6.7%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.2052
Pla a 3					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	8 (26.7%)	9 (60.0%)	6 (40.0%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	22 (73.3%)	6 (40.0%)	9 (60.0%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.0942

A nivel global, se observa como la media de IgE específica para *Pru p 3* de melocotón presenta valores superiores a las medias de IgE específicas para las demás LTPs, aunque estas diferencias no son estadísticamente significativas. Por grupos, sólo el Grupo 3, pacientes con síntomas respiratorios pero sin alergia alimentaria, presentó IgE

específica para *Art v 3* ligeramente superior que para *Pru p 3* (3.915 frente a 3.254). Así mismo, vemos como los niveles medios de IgE específica para el resto de LTPs parecen estar correlacionados con el nivel de IgE específica de *Pru p 3*, y que incluso los pacientes del Grupo 3 presentaban IgE específicas para LTPs de alimentos positivas, a pesar de no presentar reacciones con ellos (Tabla 12).

TABLA 12: DIFERENCIAS EN LOS PERFILES DE SENSIBILIZACIÓN MOLECULAR ENTRE LOS TRES GRUPOS: VALORES MEDIOS DE IGE ESPECÍFICA PARA PROTEÍNAS LTPs POR GRUPOS

	n	Media (Desv. estándar)	Mediana (Q1,Q3)	Min,Max	Missing	p-valor
Ara h 9						0.5243
Anafilaxia	30	2.740 (4.630)	0.900 (0.300, 2.400)	0.00, 20.00	0	
Urticaria	15	1.293 (1.629)	0.770 (0.000, 2.620)	0.00, 4.90	0	
Sin reacción	15	1.551 (2.296)	0.000 (0.000, 2.360)	0.00, 8.37	0	
Cora8						0.1683
Anafilaxia	30	2.520 (4.527)	0.800 (0.000, 2.900)	0.00, 20.00	0	
Urticaria	15	1.081 (1.603)	0.000 (0.000, 3.080)	0.00, 3.81	0	
Sin reacción	15	0.999 (2.202)	0.000 (0.000, 1.040)	0.00, 8.58	0	
Jugr3						0.5652
Anafilaxia	30	3.883 (5.373)	2.000 (0.400, 5.000)	0.00, 22.00	0	
Urticaria	15	1.636 (1.536)	0.970 (0.000, 3.030)	0.00, 4.00	0	
Sin reacción	15	2.507 (2.527)	2.340 (0.000, 3.680)	0.00, 7.82	0	
Prup3						0.1367
Anafilaxia	30	6.397 (6.728)	4.700 (1.200, 8.500)	0.30, 28.00	0	
Urticaria	15	2.633 (1.911)	3.130 (0.650, 4.080)	0.00, 6.20	0	
Sin reacción	15	3.254 (3.157)	2.290 (0.790, 6.360)	0.00, 10.02	0	
Tria14						0.0662
Anafilaxia	30	0.543 (1.401)	0.000 (0.000, 0.000)	0.00, 5.20	0	
Urticaria	15	0.000 (0.000)	0.000 (0.000, 0.000)	0.00, 0.00	0	
Sin reacción	15	0.779 (2.213)	0.000 (0.000, 0.450)	0.00, 8.62	0	
Artv3						0.2730
Anafilaxia	30	2.533 (3.511)	1.000 (0.000, 3.500)	0.00, 15.00	0	
Urticaria	15	0.977 (1.449)	0.450 (0.000, 1.170)	0.00, 4.42	0	

	n	Media (Desv. estándar)	Mediana (Q1,Q3)	Min,Max	Missing	p-valor
Sin reacción	15	3.915 (11.075)	0.990 (0.000, 1.810)	0.00, 43.55	0	
Olee7						0.1643
Anafilaxia	30	4.690 (13.847)	0.000 (0.000, 0.400)	0.00, 58.00	0	
Urticaria	15	1.028 (2.628)	0.000 (0.000, 0.540)	0.00, 9.52	0	
Sin reacción	15	0.026 (0.101)	0.000 (0.000, 0.000)	0.00, 0.39	0	
Plaa3						0.0495
Anafilaxia	30	2.827 (3.666)	0.950 (0.300, 3.500)	0.00, 12.00	0	
Urticaria	15	0.525 (0.722)	0.330 (0.000, 0.850)	0.00, 2.62	0	
Sin reacción	15	1.103 (1.208)	1.290 (0.000, 1.440)	0.00, 4.01	0	

No se han visto diferencias estadísticamente significativas para las proteínas PR-10 de los alimentos *Cor a 1.0401* de avellana, *Mal d 1* de manzana, *Pru p 1* de melocotón, *Gly m 4* de soja, *Ara h 8* de cacahuete, *Act d 8* de kiwi, y *Api g 1* de apio; ni en las de los pólenes *Bet v 1* de abedul, y *Cor a 1.0101* de avellano. Tampoco se han encontrado diferencias en lo que se refiere a Taumatinas (*Act d 2*), ni a Profilinas (*Bet v 2*, *Hev b 8*, *Mer a 1*, *Phl p 12*). Todo ello se refleja en la Tabla 13.

TABLA 13: DIFERENCIAS EN LOS PERFILES DE SENSIBILIZACIÓN MOLECULAR ENTRE LOS TRES GRUPOS: SENSIBILIZACIÓN A PR-10, TAUMATINAS Y PROFILINAS

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	p valor
Cor a 1 0401					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	30 (100.0%)	14 (93.3%)	15 (100.0%)	
Positivo (>0.35)	n (%)		1 (6.7%)		
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.2175
Mal d 1					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	30 (100.0%)	14 (93.3%)	13 (86.7%)	

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	p valor
Positivo (>0.35)	n (%)		1 (6.7%)	2 (13.3%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.1452
Pru p 1					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	30 (100.0%)	14 (93.3%)	14 (93.3%)	
Positivo (>0.35)	n (%)		1 (6.7%)	1 (6.7%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.3554
Gly m 4					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	30 (100.0%)	15 (100.0%)	15 (100.0%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				--
Ara h 8					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	30 (100.0%)	14 (93.3%)	15 (100.0%)	
Positivo (>0.35)	n (%)		1 (6.7%)		
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.2175
Act d 8					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	30 (100.0%)	15 (100.0%)	15 (100.0%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				--
Api g 1					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	30 (100.0%)	15 (100.0%)	15 (100.0%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				--
Bet v 1					

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	p valor
Total no-missing					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	30 (100.0%)	14 (93.3%)	13 (86.7%)	
Positivo (>0.35)	n (%)		1 (6.7%)	2 (13.3%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.1452
Cor a 1 0101					
Total no-missing					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	30 (100.0%)	14 (93.3%)	15 (100.0%)	
Positivo (>0.35)	n (%)		1 (6.7%)		
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.2175
Act d 2					
Total no-missing					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	27 (90.0%)	13 (86.7%)	14 (93.3%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	3 (10.0%)	2 (13.3%)	1 (6.7%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.8310
Bet v 2					
Total no-missing					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	29 (96.7%)	14 (93.3%)	13 (86.7%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	1 (3.3%)	1 (6.7%)	2 (13.3%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.4477
Hev b 8					
Total no-missing					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	29 (96.7%)	14 (93.3%)	13 (86.7%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	1 (3.3%)	1 (6.7%)	2 (13.3%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.4477
Mer a 1					
Total no-missing					
Total no-missing	n	30	15	15	

		Anafilaxia (n=30)	Urticaria (n=15)	Sin reacción (n=15)	p valor
Negativo (<=0.35)	n (%)	29 (96.7%)	14 (93.3%)	13 (86.7%)	
Positivo (>0.35)	n (%)	1 (3.3%)	1 (6.7%)	2 (13.3%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.4477
Phl p 12					
Total no-missing	n	30	15	15	
Negativo (<=0.35)	n (%)	30 (100.0%)	14 (93.3%)	13 (86.7%)	
Positivo (>0.35)	n (%)		1 (6.7%)	2 (13.3%)	
Missing	n	0	0	0	
	p-valor				0.1452

4.3 – Factores de riesgo asociados a la alergia alimentaria por sensibilización a Pru p 3 LTP de melocotón

El siguiente objetivo secundario era estudiar un posible modelo de regresión logística binaria, para detectar posibles factores de riesgo asociados a la alergia alimentaria por sensibilización a Pru p 3 LTP de melocotón (pacientes del Grupo 1 y del Grupo 2). Para ello, las variables estudiadas fueron:

- Edad.
- Sexo.
- Hábitat.
- Antecedentes familiares de alergia.
- Motivo de consulta: rinitis, conjuntivitis, asma, urticaria, angioedema, anafilaxia, síntomas digestivos.
- Tiempo de evolución de los síntomas desde el punto de vista alimentario y desde el punto de vista respiratorio, expresado en años.
- Alimentos con los que los pacientes tenían síntomas y tipo de síntomas consecuencia de su alergia alimentaria.
- Cofactores implicados (ejercicio, AINEs y alcohol).
- IgE total.

- IgE específica para *Jug r 2, Gly m 6, Fag e 2, Tri a 14, Cyn d 1, Phl p 1, Phl p 2, Phl p 4, Phl p 5, Phl p 6, Phl p 11, Cry j 1, Cup a 1, Ole e 1, Ole e 9, Pla a 1, Pla a 2, Art v 1, Che a 1, Par j 2, Sal k 1, Fel d 1, Fel d 4, Can f 1, Can f 2, Can f 5, Equ c 1, Mus m 1, Alt a 1, Alt a 6, Asp f 3, Cla h 8, Blo t 5, Der f 1, Der f 2, Der p 1, Der p 2, Lep d 2, Bla g 2, Pol d 5, Ves v 5, Ani s 1, Hev b 5, Hev b 6 01, Ani s 3, Bla g 7, Der p 10, Pen m 1, Can f 3, Fel d 2, Ara h 8, Cor a 8, Jug r 3, Pru p 3, Art v 3, Ole e 7, Pla a 3, Bet v 1, Mal d 1, Pru p 1, Ara h 9, Act d 8, Act d 2, Bet v 2, Hev b 8, Mer a 1, Phl p 12.*

De todas las variables estudiadas, fueron estadísticamente significativas o estuvieron cerca de la significación estadística ($\alpha=0.05$) de manera bivalente las siguientes variables (Tabla 14):

TABLA 14: FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA ALERGIA ALIMENTARIA POR SENSIBILIZACIÓN A PRU P 3 LTP DE MELOCOTÓN

	Efecto	Odds ratio (IC 95%)	p-valor
Sexo	Mujer vs Hombre	3.62 (1.05, 12.5)	0.041
Antecedentes familiares	Sí vs No o desconocido	5.69 (1.50, 21.5)	0.010
Conjuntivitis	Sí vs No	0.17 (0.04, 0.67)	0.012
Respiratorio	Respiratorio	1.06 (1.00, 1.12)	0.061
Jug r 2	Positivo (>0.35) vs Negativo (<=0.35)	0.13 (0.02, 0.79)	0.027
Tri a 14	Positivo (>0.35) vs Negativo (<=0.35)	0.25 (0.06, 1.03)	0.056
Ole e 1	Positivo (>0.35) vs Negativo (<=0.35)	5.47 (1.35, 22.1)	0.017
Der f 2	Positivo (>0.35) vs Negativo (<=0.35)	0.23 (0.06, 0.88)	0.032
Der p 2	Positivo (>0.35) vs Negativo (<=0.35)	0.23 (0.06, 0.88)	0.032

Todas las variables significativas a nivel bivalente se incluyeron en un modelo, y mediante el procedimiento *stepwise* con un valor de entrada y de salida del efecto de la variable de 0.05, únicamente se ha seleccionado como factor de riesgo tener antecedentes familiares de alergia, con una OR=4.50 (IC 95% 1.094-18.503) (Tabla 15).

**TABLA 15: MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA: FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA ALERGI
ALIMENTARIA POR SENSIBILIZACIÓN A PRU P 3 LTP DE MELOCOTÓN**

	Efecto	Odds ratio (IC 95%)	p-valor
Antecedentes familiares	Sí vs No o desconocido	4.50 (1.094, 18.503)	0.0371

4.4 – Concordancia entre las técnicas diagnósticas empleadas: prueba cutánea y determinación de IgE específica

Nuestro último objetivo secundario era comparar las técnicas diagnósticas empleadas, es decir, la prueba cutánea (Prick test) y la determinación de IgE específica frente a los alérgenos principales (ImmunoCAP® ISAC®). Para todos ellos, observamos que existe concordancia entre las dos técnicas en grado variable, salvo para *Pru p 1* de melocotón, *Mal d 1* de manzana y *Jug r 2* de nuez, en los que hubo discordancia. De todos ellos, la fuerza de concordancia fue considerable en *Phl p 1*, *Ole e 1*, *Sal k 1* (Coeficiente Kappa 0,41 - 0,60), y casi perfecta en *Par j 2* y *Phl p 12* (Coeficiente Kappa 0,81 - 1,00). Todo esto queda reflejado en la Tabla 16.

TABLA 16: ÍNDICE DE CONCORDANCIA KAPPA ENTRE IGE ESPECÍFICA Y PRUEBA CUTÁNEA

	Coeficiente Kappa	ESA	IC 95%
Gramíneas			
Gramíneas - Phl p 1	0.638070	0.109094	0.42 - 0.85
Gramíneas - Phl p 2	0.468085	0.130026	0.21 - 0.72
Gramíneas - Phl p 4	0.059406	0.127934	-0.19 - 0.31
Gramíneas - Phl p 5	0.391892	0.135774	0.13 - 0.66
Gramíneas - Phl p 6	0.328358	0.128481	0.08 - 0.58
Gramíneas - Phl p 11	0.104478	0.114294	-0.12 - 0.33
Phleum			
Phleum - Phl p 1	0.591837	0.114392	0.37 - 0.82
Phleum - Phl p 5	0.421053	0.138847	0.15 - 0.69
Olivo			
Olivo - Ole e 1	0.767699	0.081383	0.61 - 0.93
Olivo - Ole e 9	0.025591	0.025577	-0.02 - 0.08
Olivo - Ole e 7	0.190871	0.096020	0.00 - 0.38

	Coefficiente Kappa	ESA	IC 95%
Ciprés			
Ciprés - Cup a 1	0.272727	0.128883	0.02 - 0.53
Plátano de sombra			
Plátano de sombra - Pla a 1	0.354839	0.199540	-0.04 - 0.75
Plátano de sombra - Pla a 2	0.162437	0.163814	-0.16 - 0.48
Plátano de sombra - Pla a 3	0.151744	0.057995	0.04 - 0.27
Chenopodium			
Chenopodium - Che a 1	0.179688	0.181908	-0.18 - 0.54
Salsola			
Salsola - Sal k 1	0.761146	0.101226	0.56 - 0.96
Artemisia			
Artemisia - Art v 1	0.317406	0.091075	0.14 - 0.50
Artemisia - Art v 3	0.537954	0.102144	0.34 - 0.74
Parietaria			
Parietaria - Par j 2	0.952229	0.047317	0.86 - 1.00
Profilina			
Profilina - Phl p 12	0.848485	0.148513	0.56 - 1.00
Melocotón			
Melocotón - Pru p 1	-0.061321	0.039062	-0.14 - 0.02
Melocotón - Pru p 3	0.070488	0.031293	0.01 - 0.13
Manzana			
Manzana - Mal d 1	-0.095890	0.051404	-0.20 - 0.00
Kiwi			
Kiwi - Act d 2	0.090909	0.108387	-0.12 - 0.30
Avellana			
Avellana - Cor a 1 0401	0.031216	0.031006	-0.03 - 0.09
Avellana - Cor a 8	0.532814	0.109310	0.32 - 0.75
Nuez			
Nuez - Jug r 2	-0.111111	0.080048	-0.27 - 0.05
Nuez - Jug r 3	0.156627	0.091305	-0.02 - 0.34
Cacahuete			

	Coefficiente Kappa	ESA	IC 95%
Cacahuete - Ara h 8	0.020852	0.020967	-0.02 - 0.06
Cacahuete - Ara h 9	0.545455	0.110825	0.33 - 0.76
Trigo			
Trigo - Tri a 14	0.294118	0.164569	-0.03 - 0.62

5. DISCUSIÓN

5.1 – Características sociodemográficas, perfil de sensibilización molecular y patrones clínicos de los pacientes sensibilizados a Pru p 3.

Con las limitaciones de que se trata de una patología emergente de la que aún nos falta mucha información y que, desde el punto de vista de las Proteínas Transportadoras de Lípidos, el ImmunoCAP® ISAC® mide solamente un número pequeño de éstas, en nuestro estudio queríamos evaluar cuales eran las características socio-demográficas y patrones clínicos de sensibilización molecular en pacientes con alergia alimentaria por sensibilización a Proteínas Transportadoras de Lípidos (LTP).

La alergia a los alimentos es una de las áreas de la alergología en la que más novedades se han aportado durante los últimos años. Se ha aumentado el conocimiento del diagnóstico y del tratamiento, tanto para las enfermedades mediadas por IgE específica, como para las mediadas por células (enterocolitis y enteropatías), y por mecanismos mixtos (esofagitis eosinofílica). Además, la academia Europea EAACI, propone en el programa Horizonte 2020 y en el tercer programa de salud pública de la Unión Europea, dar prioridad a la investigación sobre la alergia a alimentos y la anafilaxia.

Según estudios poblacionales recientes, se estima que la alergia alimentaria afecta del 1 al 3% de la población general, siendo más frecuente en niños menores de 3 años donde puede alcanzar hasta el 8%, estando esta prevalencia en aumento. Sin embargo, este porcentaje de alergia alimentaria es difícil de precisar, dadas las diferencias en los diseños de los estudios, los criterios diagnósticos, las variaciones geográficas, de la edad, las exposiciones ambientales y dietéticas, etc. Además, determinar la prevalencia real de la alergia alimentaria requeriría de pruebas de provocación oral a doble ciego controladas con placebo (PODCCP). No obstante, aunque es la prueba diagnóstica de referencia, su realización es muy complicada por los riesgos que conlleva, el tiempo que precisa y la dificultad para enmascarar algunos alimentos (Nwaru y cols., 2014; Murano y cols., 2014; Fiocchi y cols., 2010).

En España, la encuesta Alergológica 2015 estimó que la prevalencia de alergia alimentaria de pacientes que acudían por primera vez al alergólogo fue del 11,4% (IC 95% 10,3-12,6), siendo del 7,4% en el año 2005 y del 3,6% en 1992. A pesar de la

dificultad que hemos comentado para estimar la prevalencia real, el estudio Alergológica al estar realizado con la misma metodología en sus tres ediciones es muy útil para obtener tendencias de frecuencia de enfermedad, constatándose que en nuestro país la alergia alimentaria se ha duplicado en poco más de un decenio. En concreto, en la Región de Murcia la prevalencia fue del 8,5% en 2015, mientras que en 1992 era del 3,3%, por lo que en algo más de veinte años esta cifra se ha triplicado. Además, en estos años se ha observado un aumento progresivo de alergia a frutas y frutos secos, mientras que se ha producido una disminución de alergia a alimentos de origen animal (Alergológica 2015).

En el área Mediterránea destaca la sensibilización a LTP, que se ha convertido en un problema clínico de difícil manejo, dada la potencial gravedad de las manifestaciones clínicas y el deterioro de la calidad de vida de los pacientes afectados. Esta tendencia podría estar aumentando por el uso de productos químicos en la agricultura, el aumento de contaminantes ambientales, y por la introducción de la ingeniería genética en los cultivos, ya que todo ello aumenta la expresión de las denominadas proteínas de defensa de las plantas superiores.

Varios estudios han revelado que las plantas transgénicas que sobreexpresan genes de las familias PR-1, PR-2, PR-3 y PR-5 median la resistencia de la planta huésped a los hongos fitopatógenos, y que la coexpresión de múltiples genes de proteínas antifúngicas parece ser más eficaz que la expresión de genes únicos (Kiran Kumar y cols., 2013; Anand y cols., 2003). Por otra parte, se ha autorizado el uso de proteínas inductoras como el Harpin (obtenido por ingeniería genética del hongo *Erwinia amylovora*) para potenciar en las plantas tratadas la resistencia a la infección, a la agresión por insectos y a la sequía. El aumento de estas capacidades se debe a la mayor expresión de proteínas PR. Por ejemplo, la aplicación de Harpin en la especie *Arabidopsis Thaliana* (brasicáceas) induce las proteínas PR1, 2 y 5. Así pues, aunque esta medida implica la disminución del uso de pesticidas y otros tóxicos, podría dar lugar a un mayor riesgo de aparición de reacciones alérgicas no esperadas, debidas a la presencia de nuevas proteínas que pueden ser alergénicas. Esto plantea una cuestión seria para aceptar o no su comercialización, por lo que se han adoptando diferentes estrategias para vigilar los cultivos transgénicos. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Comisión del Codex Alimentarius (Código Alimentario), definen diversas directrices para determinar

si un nuevo cultivo genéticamente modificado puede ser comercializado. Entre otras cosas, se estudia el potencial alergénico de los nuevos alimentos en modelos animales, la reactividad de la nueva proteína con anticuerpos IgE de sueros de individuos alérgicos conocidos, se comparan las secuencias de aminoácidos para identificar posibles homologías con alérgenos ya conocidos mediante herramientas bioinformáticas estandarizadas, y se comprueba el nivel de expresión de la nueva proteína en el alimento y la expresión en la porción comestible (Young y cols., 2012; Taylor, 2012).

El objetivo de nuestro estudio era estudiar las características de los pacientes con alergia alimentaria por sensibilización a *Pru p 3* (LTP de melocotón), una patología muy frecuente en nuestra zona, y cuya incidencia está aumentando en los últimos años. Su perfil geográfico de prevalencia es muy relevante en el área mediterránea, con una incidencia baja en países de otras áreas europeas, como por ejemplo el centro y norte de Europa, donde predomina la sensibilización a *Bet v 1*. Así por ejemplo, se estima que la sensibilización a *Pru p 3* en España es del 50-80% y a *Bet v 1* menor del 20%, mientras que en países como Suiza, Austria o Alemania, las cifras para LTP son inferiores al 10% y las correspondientes a *Bet v 1* mayores del 80% (Fernandez-Rivas y cols., 2006). En nuestro estudio, sólo el 5% de los pacientes estaban sensibilizados al alérgeno *Bet v 1*, e incluso porcentajes inferiores para sus proteínas homólogas.

Es frecuente que estos pacientes presenten el llamado “Síndrome LTP”, lo que significa que están sensibilizados a neumoaérgenos y padecen enfermedades respiratorias, tales como rinoconjuntivitis y asma bronquial, y al mismo tiempo presentan síntomas con la ingestión y/o contacto con alimentos vegetales. Existen diferentes perfiles de alergia alimentaria, desde pacientes sensibilizados únicamente a LTP de rosáceas, hasta aquellos sensibilizados a un gran número de LTP de distintos alimentos. Estos últimos suelen presentar reacciones que con frecuencia son severas, y habitualmente el número de alimentos implicados va aumentando con el tiempo.

En el presente estudio se incluyó a pacientes que presentaban sensibilización a neumoaérgenos. En este sentido, la presencia en el perfil molecular de niveles significativamente altos de *Ole e 1* más frecuente en los pacientes del grupo 2 (sintomatología leve/moderada por sensibilización a *Pru p 3*) podría indicar bien una probable cosensibilización en la que la alergia a pólenes estaría más relacionada con la zona geográfica (en nuestro estudio sería predominante el polen de olivo), o que sería la

sensibilización a pólenes la que habría iniciado el proceso y este hecho habría influido en la menor severidad de las manifestaciones clínicas.

Por otra parte, hemos observado en nuestro estudio que globalmente la media de IgE específica para *Pru p 3* LTP de melocotón ha presentado valores superiores a las medias de IgE específicas para las demás LTP, aunque estas diferencias no han sido estadísticamente significativas entre los 3 grupos. Asimismo los niveles medios de IgE específica para el resto de LTP parecían estar correlacionados con el nivel de IgE específica para *Pru p 3*. En un estudio publicado por Asero (2014), se observó que en pacientes con Síndrome de LTP los niveles de IgE específica frente a *Pru p 3* estaban por encima del resto de IgE específicas frente a otras LTP, y que cuanto más alto era el nivel de *Pru p 3*, mayor era la probabilidad de que los pacientes estuvieran sensibilizados a otros alimentos vegetales. Además se vio como la sensibilización a otros alimentos vegetales seguía una jerarquía bastante precisa, tanto en términos de número de pruebas positivas in vitro como de niveles de IgE, estando por orden después del melocotón la manzana, seguida de la nuez, avellana, cacahuete, lenteja, maíz, soja, tomate, kiwi, sésamo, mostaza, melón y apio. Esta secuencia regular podría deberse al grado de homología con *Pru p 3*. Tal jerarquía no fue necesariamente paralela a la alergia clínica, ya que la lenteja, el maíz y la soja fueron positivos en la mayoría de los pacientes, pero sólo tres de ellos presentaban síntomas al ingerirlos. Por tanto, los niveles de IgE específica no estaban necesariamente correlacionados con la gravedad de la alergia clínica. Asimismo, en nuestro estudio vemos como los pacientes del Grupo 3 presentaban tanto pruebas cutáneas como IgE específicas para LTP de alimentos positivas, a pesar de no presentar síntomas con ellos.

Quedan por dilucidar las razones por las cuales algunos alimentos son tolerados por la mayoría de los pacientes a pesar de una elevada reactividad a las IgE específicas. Algunas hipótesis sugieren que esto podría deberse a que en estos alimentos la proteína es menos abundante que en el melocotón, que se absorbe más lentamente en el intestino, o que el procesamiento térmico reduce de alguna manera la alergenicidad de estas proteínas. Aunque sabemos que las LTP son extremadamente estables frente al calor, algunos datos parecen sugerir que los tratamientos térmicos prolongados a altas temperaturas pueden reducir significativamente su alergenicidad. Según un estudio de Sancho y cols. (2005), sólo el tratamiento térmico severo causó una disminución significativa en la alergenicidad de *Mal d 3*, pero por el contrario la glicación tuvo un

efecto protector, por tanto la presencia de azúcares en las frutas puede contribuir a la termoestabilidad de la actividad alergénica de la LTP en alimentos procesados térmicamente.

Lo que sí se ha comprobado es que las LTP se encuentran más en las capas externas de las frutas. En un estudio de Carnés y cols. (2002) se purificó *Pru p 3* a partir de diferentes extractos de melocotón, confirmándose que la piel de melocotón tiene un mayor contenido de proteína y LTP que la pulpa. En promedio, la piel contenía aproximadamente el doble de proteína que la pulpa y aproximadamente siete veces más LTP. Este hecho podría explicar por qué hay individuos que experimentan síntomas después del contacto con la piel y por qué muchos pacientes toleran comer la fruta pelada.

Como ya hemos comentado, la familia LTP ha sido propuesta como un modelo de alérgenos alimentarios verdaderos basados en tres propiedades estrechamente ligadas: la resistencia poco común a la digestión proteolítica, la capacidad de sensibilización primaria por vía oral y la asociación con síntomas clínicos sistémicos y severos. Así pues, provocan respuestas similares a las mostradas por los alérgenos alimentarios nativos. El grado de homología entre las LTP de alimentos vegetales pertenecientes a diferentes familias botánicas oscila entre el 43% y el 95%; por ejemplo, en la alineación de secuencias de aminoácidos *Pru p 3* comparte un 45% de identidad con *Tri a 14* de trigo, y llega hasta un 92% con *Pru ar 3* de albaricoque. Esta semejanza estructural proporciona la base molecular para la amplia reactividad cruzada encontrada entre la mayoría de los alérgenos de LTP de los alimentos vegetales. Sin embargo, esta reactividad cruzada entre distintas LTP parece que no estaría relacionada con su estructura primaria, sino que implicaría a otros factores como la estructura terciaria o algunos epítomos concretos, bien lineales o conformacionales, así la mayoría de los pacientes alérgicos a LTP de melocotón refieren síntomas, a veces severos, con una gran variedad de alimentos vegetales (Salcedo y cols., 2008).

Asimismo, se piensa que una sensibilización previa a LTP de melocotón (*Pru p 3*) induciría una sensibilización posterior a otras LTP, dominando la respuesta inmunológica a estas proteínas, como si *Pru p 3* contuviese todos los epítomos de la LTP capaces de ligar IgE, a diferencia de las LTP procedentes de otras fuentes. Sin embargo, aunque la LTP de melocotón (*Pru p 3*) es la que contiene un mayor número de epítomos,

otras LTP procedentes de otras fuentes tienen epítomos diferentes, por lo que la LTP de melocotón (*Pru p 3*) no podría considerarse como un marcador universal de sensibilización a LTP. Así, aunque la sensibilización a distintas LTP de frutas con frecuencia induce una sensibilización a la LTP de melocotón (*Pru p 3*), la mayoría de las LTP de las frutas no son inhibidas con *Pru p 3*. De modo que la utilización exclusiva de la LTP de melocotón (*Pru p 3*) no sería un método apropiado para el diagnóstico de la sensibilización a todas las LTP o para el del síndrome de la LTP (Morales y cols., 2014). De hecho, hay datos que sugieren que en algunos pacientes alérgicos a LTP de cacahuete (*Ara h 9*), ésta sería la sensibilización primaria (Lauer y cols., 2009).

Todo ello podría explicar por qué nuestros pacientes estaban sensibilizados a un gran número de LTP, independientemente de que presentaran síntomas con estos alimentos o no.

5.2 – Factores de riesgo asociados a la alergia alimentaria por sensibilización a Pru p 3 LTP de melocotón

En nuestro estudio analizamos también el papel de los considerados hasta ahora principales cofactores para una posible reacción alérgica, es decir los AINEs, ejercicio físico y alcohol. Nuestros hallazgos están de acuerdo con lo publicado hasta el momento, siendo el cofactor más frecuentemente implicado los AINE, a pesar de que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los 3 grupos. La razón por la que ocurre dicha potenciación no es bien conocida, pero se piensa que se debería a una aceleración de la absorción y paso a la sangre de la proteína.

Los cofactores como el alcohol, la toma de AINE y el ejercicio físico se han descrito frecuentemente como potenciadores de las reacciones alérgicas a alimentos. Sin embargo hasta 2012 solamente se habían publicado casos individuales o series pequeñas. De todos estos síndromes, el mejor caracterizado es la anafilaxia inducida por ejercicio dependiente de la sensibilización a trigo, pero se conoce muy poco acerca de los cofactores amplificadores de las reacciones alérgicas a otros alimentos. Así pues, Cardona y cols. (2012) publicaron un estudio retrospectivo de 74 casos compatibles con alergia a alimentos exacerbada por cofactores. De este modo se consideraba como cofactor amplificador a AINE, alcohol o ejercicio de 2-4 horas tras la ingestión del

alimento sensibilizante. En el 82.4% de los casos, los pacientes habían experimentado reacciones alérgicas a alimentos previas, sin cofactores implicados, cuya manifestación clínica más frecuente había sido urticaria, y sólo el 17.6% de los casos la reacción alérgica previa había sido la anafilaxia. En cambio en presencia de cofactores, la anafilaxia aparecía en el 85.1% de los casos sin relación significativa con el tipo de cofactor o el alimento implicado. En todos los casos excepto uno, los culpables fueron alimentos de origen vegetal, demostrándose sensibilización a *Pru p 3* en el 91.7% de los pacientes, siendo la sensibilización a otros alérgenos alimentarios anecdótica. Respecto a los cofactores, los AINE estaban presentes en 43 reacciones (58%), el ejercicio en 39 (52.7%), alcohol en 9 casos (12.2%) y combinación de varios en 15 episodios.

En general, de acuerdo con lo publicado debemos considerar la existencia de cofactores en los pacientes con alergia conocida a alimentos que presentan reacciones alérgicas graves (anafilaxia) y, de forma inversa, ante una reacción alérgica tras la toma de un AINE que ocurre después de una comida, debe descartarse una posible sensibilización a LTP y considerar la prueba de provocación con el AINE “culpable” si se confirma la alergia alimentaria. También debemos tener siempre presentes los otros cofactores, es decir: ejercicio físico, consumo de alcohol, estrés, cansancio, menstruación y otros emergentes, tales como Marihuana o Hachís. Asimismo los pacientes deben estar informados y ser conscientes de la existencia de estos posibles factores potenciadores.

Las primeras descripciones de reacciones alérgicas en consumidores de Marihuana y Hachís se remontan a 1964. Sin embargo han aumentado en los últimos años. Además, se han caracterizado los componentes alergénicos del cannabis, siendo *Can s 3* un alérgeno mayor y perteneciente al grupo de las LTP. Muy recientemente, Ebo y cols. (2013) publicaron un estudio con 21 pacientes alérgicos a alimentos vegetales, donde 12 de ellos eran alérgicos a cannabis. El estudio concluye que el consumo de cannabis predispone a la sensibilización a esta planta a través de las LTP no específicas (ns-LTP), que las reacciones alérgicas a alimentos son más severas en los pacientes sensibilizados a cannabis y que el espectro de alimentos capaces de provocar reacciones es más amplio en este grupo.

Resultados recientes indican que, además de sensibilizar como agentes primarios por vía digestiva, también pueden hacerlo por vía inhalada. En un estudio reciente, Pérez-Calderón y cols. (2017) han publicado la primera serie de casos de alergia ocupacional

en pacientes trabajadores en cultivos de melocotoneros. El estudio constaba de 37 pacientes que presentaban síntomas respiratorios relacionados con la exposición ocupacional. La mayoría de ellos sufrían síntomas cuando los melocotoneros tenían hojas, específicamente durante la cosecha (rinoconjuntivitis: 100% y asma: 67,5%). En el 86% de los casos se demostró sensibilización al extracto de las hojas, y no a las ramas. Los sueros del 42% de los pacientes revelaron proteínas de unión a IgE que coinciden con LTP, 34% con profilina y 42% con otras proteínas no identificadas. A los pacientes sensibilizados asmáticos se les realizó una prueba específica de provocación bronquial con extracto de hojas de melocotón que fue positiva. Por tanto, cuando se evalúa a pacientes con síntomas respiratorios que están expuestos a árboles frutales, debemos preguntarnos si esta exposición puede ser la causa de los síntomas. Cabe pensar que el melocotón actúa como fuente de alérgenos aerotransportados pero harían falta más estudios con muestras más grandes y estudios epidemiológicos para evaluar el impacto real de esta enfermedad.

Asimismo la LTP de trigo (Tri a 14) es un importante alérgeno inhalado asociado al asma ocupacional del panadero, causado por la sensibilización a la harina de este cereal (Palacin y cols., 2007). También se han descrito casos de pacientes con alergia respiratoria al arroz crudo por inhalación, estos pacientes mostraban síntomas agudos de rinoconjuntivitis o asma mientras arrojaban arroz en diferentes bodas, pero toleraban su ingestión (Enrique y cols., 2005).

Por otro lado, como ya hemos explicado muchos de los pacientes alérgicos a *Pru p 3* están sensibilizados a neumalérgenos y padecen enfermedades respiratorias. Nuestros resultados muestran como las LTP de pólenes podrían provocar síntomas de rinoconjuntivitis y asma bronquial en pacientes sensibilizados. En nuestro estudio, un 78.3% de los pacientes presentaban rinitis, un 50% conjuntivitis y un 48.3% asma, siendo la conjuntivitis más frecuente en el Grupo 3 de forma estadísticamente significativa. A nivel molecular los porcentajes de sensibilización para los alérgenos de pólenes especie-específicos fueron bajos, frente a porcentajes de sensibilización elevados para las LTP de pólenes.

Sánchez-López y cols. (2014) demostraron en una serie de pacientes que una proteína LTP de un polen, en este caso *Art v 3* de artemisia, podía provocar síntomas respiratorios. Realizaron provocación nasal con *Art v 3* purificada en pacientes

sensibilizados a esta proteína, revelando cambios significativos en la permeabilidad nasal, síntomas respiratorios (prurito, rinorrea, estornudos y obstrucción nasal) y liberación de cisteinil-leucotrienos (cysLT) en líquido de lavado nasal. Asimismo sugieren que una sensibilización primaria a *Pru p 3* puede conducir a una alergia respiratoria a través de reactividad cruzada.

Salcedo y cols. (2007) clasificaron las LTP de pólenes en dos grupos. Un grupo incluiría a *Pla a 3* de plátano de sombra y *Art v 3* de artemisa, que comparten el 40% de su secuencia con *Pru p 3*, y se ha visto que están claramente involucrados en la reactividad cruzada de pólenes con alimentos vegetales. Y por otro lado estaría *Amb a 6* de ambrosía y *Ole e 7* de olivo como alérgenos menores, y *Par j 1* y *Par j 2* de parietaria como alérgenos principales, con menos del 35% de identidad de secuencia con *Pru p 3*, y que parecen no estar implicados en dicha reactividad cruzada.

Se desconoce cuál es el papel que otras LTP diferentes a la de melocotón podrían desempeñar en el desarrollo de este síndrome, aunque se piensa que podrían existir diferentes patrones de reactividad cruzada entre LTP y que la sensibilización a *Pru p 3* podría preceder a la sensibilización a otras LTP. Un aspecto interesante, aún no bien dilucidado, es la contribución de las LTP de los pólenes al síndrome; es decir, si una sensibilización previa a ciertos pólenes podría inducir posteriormente una alergia alimentaria, lo que nos permitiría incluir el “síndrome de la LTP” dentro de los llamados “síndromes polen-alimentos”. En la Región de Murcia, con un clima mediterráneo, donde prácticamente durante todo el año se detecta la presencia de pólenes en la atmósfera, alcanzando en algunas épocas del año una alta concentración de polen de artemisia, se han encontrado pacientes sensibilizados a la LTP de este polen (*Art v 3*), que podrían determinar un patrón de reactividad cruzada entre distintas LTP. De hecho, en esta misma zona se describió hace años una asociación entre la sensibilización al polen de artemisia y la alergia a frutas y verduras. La sensibilización a la LTP del polen de artemisia (*Art v 3*) parece que, en algunos casos, podría ser la sensibilización primaria en pacientes alérgicos a LTP y podría, además, producir una polinosis en estos pacientes (García-Sellés y cols., 2002; Lombardero y cols., 2004).

En nuestro estudio, los casos del Grupo 3, pacientes con síntomas respiratorios pero sin alergia alimentaria, presentaron IgE específica para *Art v 3* ligeramente superior que para *Pru p 3*.

También, en pacientes residentes en el área de Barcelona, se ha encontrado una correlación entre la sensibilización al polen de plátano de sombra y la alergia a alimentos vegetales producida por una sensibilización a LTP de melocotón (*Pru p 3*). Datos que sugieren que este polen podría estar de alguna manera implicado en el síndrome LTP, jugando posiblemente un doble papel, bien actuando como una sensibilización primaria, o bien como una cosensibilización. Por otra parte, en la zona de Jaén, donde se alcanzan en los meses de primavera altas concentraciones de polen de olivo, se han descrito pacientes sensibilizados a la LTP del polen de olivo (*Ole e 7*) con síntomas respiratorios y anafilaxia al comer fruta. Ésta es una LTP que comparte un 19% de la secuencia de aminoácidos con *Pru p 3*, mucho menos que la LTP del polen de artemisia (*Art v 3*) cuya homología con *Pru p 3* es del 40%. Se sabe también que las LTP del polen de parietaria judaica, *Par j 1* y *Par j 2*, tienen una homología del 28% y 27%, respectivamente, con *Pru p 3*, aunque no se ha descrito hasta ahora una asociación clara entre la sensibilización a este polen y una alergia a alimentos de origen vegetal, pese a compartir una mayor secuencia de aminoácidos con *Pru p 3* que *Ole e 7*. En resumen, la relación entre las LTP de los pólenes y la de los alimentos aún no está completamente definida y hay autores que piensan que la sensibilización a LTP de los pólenes se comportaría más como un marcador que como un inductor del síndrome (Lauer y cols., 2007).

También se ha demostrado que pacientes sensibilizados a *Pru p 3* pueden sufrir síntomas por contacto cutáneo. La urticaria de contacto ya ha sido descrita como una presentación clínica típica de la alergia al melocotón, no encontrada con otras frutas Rosáceas, y que puede ocurrir en ausencia de cualquier síntoma por ingestión de la fruta. Un estudio de Asero (2011) muestra como la urticaria de contacto inducida por melocotón está asociada con la sensibilización a *Pru p 3*. Se estudiaron noventa y dos sujetos alérgicos al melocotón, donde la urticaria de contacto fue significativamente más frecuente en pacientes hipersensibles a la LTP de melocotón *Pru p 3* (63%) y rara vez ocurría en los pacientes alérgicos al melocotón sensibilizados a la proteína homóloga de *Bet v 1 Pru p 1* y/o a la profilina de melocotón *Pru p 4* (6%, $p < 0,001$). No se asoció con un nivel más alto de IgE específica de melocotón, y en varios casos la urticaria de contacto precedió al inicio de la alergia alimentaria en años.

Un objetivo secundario era estudiar posibles factores de riesgo asociados a la alergia alimentaria por sensibilización a *Pru p 3* LTP de melocotón. En este caso, quedó claro

que los antecedentes familiares de alergia juegan un papel importante y que el riesgo de padecer alergia a LTP se multiplica por 4 cuando existe este factor (OR=4.50 IC 95% 1.094-18.503).

5.3 – Concordancia entre las técnicas diagnósticas empleadas: prueba cutánea y determinación de IgE específica

El último objetivo secundario fue comparar las técnicas diagnósticas empleadas de forma rutinaria en la consulta, es decir, la prueba cutánea (Prick test) y la determinación de IgE específica en sangre (ImmunoCAP® ISAC®), resultando ambas técnicas equiparables. Para determinar el grado de concordancia se dispone del Coeficiente Kappa (κ) que toma valores entre -1 y +1; mientras más cercano a +1, mayor es el grado de concordancia; por el contrario, un valor de $\kappa = 0$ refleja que la concordancia observada es precisamente la que se espera a causa exclusivamente del azar. La interpretación del Coeficiente Kappa se realiza correlacionando su valor con una escala cualitativa que incluye seis niveles de fuerza de concordancia: leve $\kappa = 0.01-0.20$, aceptable $\kappa = 0.21 - 0.40$, moderada $\kappa = 0.41 - 0.60$, considerable $\kappa = 0.61 - 0.80$ y casi perfecta $\kappa = 0.81 - 1.00$, simplificando la comprensión del mismo. En nuestro estudio se obtuvo un nivel de concordancia casi perfecta para profilina *Phl p 12* ($\kappa = 0.848485$; IC 95% 0.56 - 1.00). El nivel de concordancia para las LTP varió desde leve para *Pru p 3* de melocotón ($\kappa = 0.070488$; IC 95% 0.01 - 0.13), *Jug r 3* de nuez ($\kappa = 0.156627$; IC 95% -0.02 - 0.34) y *Pla a 3* de plátano de sombra ($\kappa = 0.151744$; IC 95% 0.04 - 0.27); hasta casi perfecta para *Par j 2* de parietaria ($\kappa = 0.952229$; IC 95% 0.86 - 1.00). En cambio en el caso de las PR-10, se obtuvo discordancia para *Pru p 1* de melocotón ($\kappa = -0.061321$; IC 95% -0.14 - 0.02) y *Mal d 1* de manzana ($\kappa = -0.095890$; IC 95% -0.20 - 0.00), o concordancia leve para *Ara h 8* de cacahuete (0.020852; IC 95% -0.02 - 0.06) y *Cor a 1 0401* de avellana (0.031216; IC 95% -0.03 - 0.09).

Goikoetxea y cols. (2015) compararon las pruebas cutáneas con técnicas in vitro (fluoroenzimoinmunoensayo –FEIA- en detección única y múltiple) para detectar sensibilización a profilina y a LTP. Estudiaron retrospectivamente 181 pacientes con alergia a polen y a alimentos vegetales y 61 controles. Realizaron pruebas cutáneas en prick test frente a profilina de palmera (*Pho d 2*) y LTP de melocotón (*Pru p 3*) y se analizó la IgE específica a *Phl p 12* y *Pru p 3* por FEIA y por micromatriz de proteínas

alergénicas. Observaron un acuerdo moderado entre las tres técnicas estudiadas, por lo tanto la prueba cutánea frente a LTP y profilina es un método sensible detectando estas sensibilizaciones y muestra una concordancia aceptable con las técnicas in vitro, especialmente en los pacientes con negatividad de la prueba cutánea frente a LTP y a profilina.

6. CONCLUSIONES

Considerando todo lo expuesto hasta ahora podemos inferir:

CONCLUSIÓN 1

La sensibilización a LTP de melocotón o *Pru p 3* es una patología prevalente, con tendencia al aumento en nuestra área sanitaria y frecuentemente asociada con manifestaciones clínicas severas. Estos hallazgos concuerdan con las publicaciones que se han consultado, entre ellas el informe Alergológica 2015, en las que se describe a este alérgeno como relevante en los países del área mediterránea.

CONCLUSIÓN 2

Los perfiles moleculares de los pacientes de nuestro estudio mostraron niveles bajos de sensibilización a alérgenos mayoritarios de pólenes excepto para *Ole e 1*, siendo este hallazgo más frecuente en aquellos que presentaban clínica leve o moderada debida a sensibilización a *Pru p 3* (grupo 2). Este hecho podría indicar que en pacientes alérgicos a *Pru p 3* con manifestaciones clínicas leves o moderadas, la presencia de niveles significativos de sensibilización a alérgenos mayoritarios de pólenes podría implicar la existencia de una cosensibilización relacionada sobre todo con el área geográfica (área mediterránea/polen de olivo en nuestro estudio) o que la alergia a pólenes sería la iniciadora del proceso.

CONCLUSIÓN 3

En el presente trabajo los pacientes diagnosticados de sensibilización a *Pru p 3* o LTP de melocotón muestran, a nivel molecular, porcentajes de sensibilización elevados frente a LTP de otros alimentos y LTP de pólenes, siendo éstos similares para los tres grupos. Dicho hallazgo se ve refrendado por los niveles medios más elevados de IgE específica para *Pru p 3* que se correlaciona con los niveles del resto de las LTP. Tales

datos serían atribuibles al grado de homología, indicarían que la sensibilización a *Pru p 3* podría actuar como iniciador del proceso y nos servirían para valorar la posible aparición futura de manifestaciones clínicas tanto con la ingestión de alimentos como con la exposición a pólenes.

CONCLUSIÓN 4

Los valores de IgE total no difieren significativamente entre los 3 grupos de pacientes seleccionados. Este hallazgo indicaría que:

- La sensibilización a *Pru p 3* aun siendo clínicamente significativa en bastantes ocasiones no dispara la producción de IgE de forma inespecífica.

- La determinación de IgE total es escasamente útil en la práctica clínica para el estudio de la sensibilización a *Pru p 3*. No obstante habría que tenerla en cuenta en pacientes con cifras globales elevadas, como sucede con la Dermatitis Atópica.

CONCLUSIÓN 5

El cofactor más frecuentemente implicado fueron los AINEs aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los 3 grupos. Este hecho apoyaría la necesidad, al realizar la anamnesis, de considerar la posible implicación de un AINE en la aparición de reacciones alérgicas tras la ingestión de alimentos y obligaría a realizar el estudio para valorar la existencia o no de sensibilización a los alimentos implicados.

CONCLUSIÓN 6

El riesgo de padecer alergia alimentaria por sensibilización a *Pru p 3* LTP de melocotón se multiplica por 4 cuando los pacientes presentan antecedentes familiares de alergia positivos, lo que indica que los factores genéticos estarían implicados y facilitarían el desarrollo de esta patología.

CONCLUSIÓN 7

Las técnicas empleadas de forma rutinaria en la consulta, es decir, la prueba cutánea (Prick test) y la determinación de IgE específica en sangre (ImmunoCAP® ISAC®), han resultado equiparables en cuanto al rendimiento diagnóstico. No obstante no deberían ser excluyentes sino complementarias y teniendo presente siempre que todo procedimiento diagnóstico-terapéutico comienza por la obtención de una buena Historia Clínica.

CONCLUSIÓN 8

Considerando todo lo anterior se precisan más estudios epidemiológicos y diagnóstico/terapéuticos para poder determinar con exactitud la severidad real de este problema, tanto en nuestra área sanitaria como a nivel regional y nacional. Ello implicaría la elaboración de una base de datos o registro de pacientes sensibilizados a esta proteína y el establecimiento de una red informática. El contar con todos estos recursos nos permitiría analizar y confirmar la existencia o no de diferentes patrones de sensibilización con la subsiguiente repercusión en el pronóstico, tratamiento y bienestar de los pacientes.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Aas K, Belin L. Standardization of diagnostic work in allergy. *Int Arch Allergy Appl Immunol.* 1973; 45: 57-60.
2. Aleksic I, Popovic M, Dimitrijevic R, Andjelkovic U, Vassilopoulou E, Sinaniotis A, et al. Molecular and immunological characterization of Mus a 5 allergen from banana fruit. *Mol Nutr Food Res.* 2012; 56: 446-53.
3. Alergológica 2015. Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España en 2015. SEAIC, Schering-Plough. Madrid 2017.
4. Anand A, Zhou T, Trick HN, Gill BS, Bockus WW, Muthukrishnan S. Greenhouse and field testing of transgenic wheat plants stably expressing genes for thaumatin-like protein, chitinase and glucanase against *Fusarium graminearum*. *J Exp Bot.* 2003; 54: 1101-11.
5. Antón Gironés M, Andreu Balaguer CM, Cerecero Carballo I, García Nuñez I. Clasificación y etiopatogenia de la alergia a los alimentos. *Tratado de alergología.* Ergon: Madrid; 2015. 941-953.
6. Aronin N, Leeman SE, Clements RS Jr. Diminished flare response in neuropathic diabetic patients. Comparison of effects of substance P, histamine, and capsaicin. *Diabetes.* 1987; 36: 1139-43.
7. Asero R, Antonicelli L, Arena A, Bommarito L, Caruso B, Colombo G, et al. Causes of food-induced anaphylaxis in Italian adults: a multi-centre study. *Int Arch Allergy Immunol.* 2009; 150: 271-7.
8. Asero R, Antonicelli L, Arena A, Bommarito L, Caruso B, Crivellaro M, et al. EpidemAAITO: features of food allergy in Italian adults attending allergy clinics: a multi-centre study. *Clin Exp Allergy.* 2009; 39: 547-55.
9. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S, Zanoni D, Barocci F, et al. Detection of clinical markers of sensitization to profilin in patients allergic to plant-derived foods. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 112: 427-32.
10. Asero R. Component-resolved diagnosis-assisted prescription of allergen-specific immunotherapy: a practical guide. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2012; 44: 183-7.

11. Asero R. In patients with LTP síndrome food-specific IgE show a predictable hierarchical order. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2014; 46: 142-6.
12. Asero R. Peach-induced contact urticaria is associated with lipid transfer protein sensitization. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011; 154: 345-8.
13. Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CK, Strachan DP, Weiland SK, et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *The Lancet.* 2006; 368: 733-743.
14. 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: 1550-1558.
15. Blanco C, Diaz-Perales A, Collada C, Sánchez-Monge R, Aragoncillo C, Castillo R, et al. Class I chitinases as potential panallergens involved in the latex-fruit syndrome. *J Allergy Clin Immunol.* 1999; 103 (3 Pt 1): 507-13.
16. Blanco C. Latex-fruit syndrome. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2003; 3: 47-53.
17. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG et al. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy.* 2012; 67(1): 18-24.
18. Bousquet J, Maurice F, Rivory JP, Skassa-Brociek W, Florence P, Chouzenoux R et al. Allergy in long-term hemodialysis. II. Allergic and atopic patterns of a population of patients undergoing long-term hemodialysis. *J Allergy Clin Immunol.* 1988; 81: 605-10.
19. Bousquet J, Pujol JL, Barneon G, Hejjaoui A, Nardoux J, Ausseil M et al. Skin test reactivity in patients suffering from lung and breast cancer. *J Allergy Clin Immunol.* 1991; 87: 1066-72.
20. Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, Jones SM, Sampson HA, Wood RA, et al. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 126 (Suppl):S1-58.
21. Breiteneder H, Mills EN. Molecular properties of food allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2005; 115: 14-23; quiz 24.
22. Breiteneder H. Thaumatin-like proteins -- a new family of pollen and fruit allergens. *Allergy.* 2004; 59: 479-81.

23. Bublin M, Mari A, Ebner C, Knulst A, Scheiner O, Hoffmann-Sommergruber K, et al. IgE sensitization profiles toward green and gold kiwifruits differ among patients allergic to kiwifruit from 3 European countries. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; 114: 1169-75.
24. Capuano F, Beaudoin F, Napier JA, Shewry PR. Properties and exploitation of oleosins. *Biotechnol Adv.* 2007; 25: 203-6.
25. Cardona V, Luengo O, Garriga T, Labrador-Horrillo M, Sala-Cunill A, Izquierdo A, et al. Co-factor-enhanced food allergy. *Allergy.* 2012 Oct;67(10):1316-8.
26. Cardona V, Luengo O, Garriga T, Labrador-Horrillo M, Sala-Cunill A, Izquierdo A, et al. Co-factor-enhanced food allergy. *Allergy.* 2012; 67: 1316-8.
27. Carnés J, Fernández-Caldas E, Gallego MT, Ferrer A, Cuesta-Herranz J. Pru p 3 (LTP) content in peach extracts. *Allergy.* 2002; 57: 1071-5.
28. Cuesta Herranz J, Alonso Díaz de Durana MD, Alvarado Izquierdo MI, González Mancebo E. Peculiaridades clínicas de la alergia a los alimentos de origen vegetal. *Tratado de alergología.* Ergon: Madrid; 2015. 1003-1016.
29. Demoly P, Bousquet J, Manderscheid JC, Dreborg S, Dhivert H, Michel FB. Precision of skin prick and puncture tests with nine methods. *J Allergy Clin Immunol.* 1991; 88: 758-62.
30. Douladiris N, Savvatanos S, Roumpedaki I, Skevaki C, Mitsias D, Papadopoulos NG. A molecular diagnostic algorithm to guide pollen immunotherapy in southern Europe: towards component-resolved management of allergic diseases. *Int Arch Allergy Immunol.* 2013; 162: 163-72.
31. Ebo DG, Swerts S, Sabato V, Hagendorens MM, Bridts CH, Jorens PG, et al. New food allergies in a European non-Mediterranean region: is Cannabis sativa to blame? *Int Arch Allergy Immunol.* 2013; 161: 220-8.
32. Enrique E, Ahrazem O, Bartra J, Latorre MD, Castelló JV, de Mateo JA, et al. Lipid transfer protein is involved in rhinoconjunctivitis and asthma produced by rice inhalation. *J Allergy Clin Immunol.* 2005; 116: 926-8.
33. Fernández-Rivas M, Bolhaar S, González-Mancebo E, Asero R, van Leeuwen A, Bohle B, et al. Apple allergy across Europe: how allergen sensitization profiles determine the clinical expression of allergies to plant foods. *J Allergy Clin Immunol.* 2006; 118: 481-8.
34. Fernández-Rivas M, Cuevas M. Peels of Rosaceae fruits have a higher allergenicity than pulps. *Clin Exp Allergy.* 1999; 29: 1239-47.

35. Fiocchi A, Schünemann HJ, Brozek J, Restani P, Beyer K, Troncone R, et al. Diagnosis and Rationale for Action Against Cow's Milk Allergy (DRACMA): a summary report. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 126: 1119-28.
36. García BE, Lombardero M, Echechipía S, Olaguibel JM, Díaz-Perales A, Sánchez-Monge R, et al. Respiratory allergy to peach leaves and lipid-transfer proteins. *Clin Exp Allergy.* 2004; 34: 291-5.
37. García Figueroa BE, Díaz Perales A, Rodríguez García R, Garriga Baraut T, Fernández Rivas M. Alérgenos alimentarios. Tratado de alergología. Ergon: Madrid; 2015. 969-982.
38. García-Olmedo F, Molina A, Segura A, Moreno M. The defensive role of nonspecific lipid-transfer proteins in plants. *Trends Microbiol.* 1995; 3: 72-4.
39. García-Sellés FJ, Díaz-Perales A, Sánchez-Monge R, Alcántara M, Lombardero M, Barber D, et al. Patterns of reactivity to lipid transfer proteins of plant foods and *Artemisia* pollen: an in vivo study. *Int Arch Allergy Immunol.* 2002 Jun;128(2):115-22.
40. Goikoetxea MJ, Berroa F, Cabrera-Freitag P, Ferrer M, Núñez-Córdoba JM, Sanz ML, et al. Do Skin Prick Test and In Vitro Techniques Diagnose Sensitization to Peach Lipid Transfer Protein and Profilin Equally Well in Allergy to Plant Food and Pollen? *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2015; 25: 283-7.
41. Goldberg A, Korzets Z, Bernheim J, Mekori YA. Cutaneous responses to histamine, compound 48/80, and codeine in patients with chronic renal failure. *Ann Allergy.* 1991; 67: 525-8.
42. Hauser M, Asam C, Himly M, Palazzo P, Voltolini S, Montanari C, et al. Bet v 1-like pollen allergens of multiple Fagales species can sensitize atopic individuals. *Clin Exp Allergy.* 2011; 41: 1804-14.
43. Hauser M, Matthias E, Wallner M, Wopfner N, Schmidt G, Ferreira F. Molecular Properties of Plant Food Allergens: A Current Classification into Protein Families. *Open Immunol J.* 2008; 1: 1-12.
44. Huecas S, Villalba M, Rodríguez R. Ole e 9, a major olive pollen allergen is a 1,3-beta-glucanase. Isolation, characterization, amino acid sequence, and tissue specificity. *J Biol Chem.* 2001; 276: 27959-66.
45. Incorvaia C, Rapetti A, Aliani M, Castagneto C, Corso N, Landi M, et al. Food allergy as defined by component resolved diagnosis. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2014;8: 59-73.

46. Johansson SG, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; 113: 832-6.
47. Kiran Kumar, Mudnakudu N, Saluja Rohit. Impact of Genetically Modified Food on Allergenicity. *Res. J. Biotech.* 2013; 8.
48. Kleine-Tebbe J, Vogel L, Crowell DN, Haustein UF, Vieths S. Severe oral allergy syndrome and anaphylactic reactions caused by a Bet v 1- related PR-10 protein in soybean, SAM22. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 110: 797-804.
49. Lauer I, Dueringer N, Pokoj S, Rehm S, Zoccatelli G, Reese G, et al. The non-specific lipid transfer protein, Ara h 9, is an important allergen in peanut. *Clin Exp Allergy.* 2009; 39: 1427-37.
50. Lauer I, Miguel-Moncin MS, Abel T, Foetisch K, Hartz C, Fortunato D, et al. Identification of a plane pollen lipid transfer protein (Pla a 3) and its immunological relation to the peach lipid-transfer protein, Pru p 3. *Clin Exp Allergy.* 2007; 37: 261-9.
51. Liccardi G, Salzillo A, Spadaro G, Senna G, Canonica WG, D'amato G et al. Anaphylaxis caused by skin prick testing with aeroallergens: Case report and evaluation of the risk in Italian allergy services. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 111: 1410-2.
52. Lombardero M, García-Sellés FJ, Polo F, Jimeno L, Chamorro MJ, García-Casado G, Sánchez-Monge R, Díaz-Perales A, Salcedo G, Barber D. Prevalence of sensitization to *Artemisia* allergens Art v 1, Art v 3 and Art v 60 kDa. Cross-reactivity among Art v 3 and other relevant lipid-transfer protein allergens. *Clin Exp Allergy.* 2004; 34: 1415-21.
53. López-Torrejón G, Crespo JF, Sánchez-Monge R, Sánchez-Jiménez M, Alvarez J, Rodríguez J, et al. Allergenic reactivity of the melon profilin Cuc m 2 and its identification as major allergen. *Clin Exp Allergy.* 2005; 35: 1065-72.
54. Manavski N, Peters U, Brettschneider R, Oldenburg M, Baur X, Bittner C. Cof a 1: identification, expression and immunoreactivity of the first coffee allergen. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012; 159: 235-42.
55. Morales M, López-Matas MÁ, Moya R, Carnés J. Cross-reactivity among non-specific lipid-transfer proteins from food and pollen allergenic sources. *Food Chem.* 2014; 165: 397-402.

56. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Beyer K, Bindslev-Jensen C et al. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy*. 2014; 69: 1008-25.
57. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Beyer K, Bindslev-Jensen C, et al. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy*. 2014; 69: 1008-25.
58. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Muraro A, Werfel T, Cardona V, et al. The epidemiology of food allergy in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2014; 69: 62-75.
59. Palacín A, Gómez-Casado C, Rivas LA, Aguirre J, Tordesillas L, Bartra J, et al. Graph based study of allergen cross-reactivity of plant lipid transfer proteins (LTPs) using microarray in a multicenter study. *PLoS One*. 2012; 7: e50799.
60. Palacin A, Quirce S, Armentia A, Fernández-Nieto M, Pacios LF, Asensio T, et al. Wheat lipid transfer protein is a major allergen associated with baker's asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 120: 1132-8.
61. Palacin A, Rodriguez J, Blanco C, Lopez-Torrejon G, Sánchez-Monge R, Varela J, et al. Immunoglobulin E recognition patterns to purified Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) allergens in patients sensitized to Kiwi with different clinical symptoms. *Clin Exp Allergy*. 2008; 38: 1220-8.
62. Palacín A, Tordesillas L, Gamboa P, Sanchez-Monge R, Cuesta-Herranz J, Sanz ML, et al. Characterization of peach thaumatin-like proteins and their identification as major peach allergens. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40: 1422-30.
63. Palomares O, Villalba M, Quiralte J, Polo F, Rodríguez R. 1,3-beta-glucanases as candidates in latex-pollen-vegetable food cross-reactivity. *Clin Exp Allergy*. 2005; 35: 345-51.
64. Pascal M, Muñoz-Cano R, Reina Z, Palacín A, Vilella R, Picado C, et al. Lipid transfer protein syndrome: clinical pattern, cofactor effect and profile of molecular sensitization to plant-foods and pollens. *Clin Exp Allergy*. 2012; 42: 1529-39.
65. Pepys J. Skin testing. *Br J Hosp Med*. 1975: 412-17.
66. Pérez-Calderón R, Gonzalo-Garijo MÁ, Rodríguez-Velasco FJ, Sánchez-Vega S, Bartolomé-Zavala B. Occupational respiratory allergy in peach crop workers. *Allergy*. 2017 Mar 20. doi: 10.1111/all.13163.

67. Salcedo G, Sánchez-Monge R, Barber D, Díaz-Perales A. Plant non-specific lipid transfer proteins: an interface between plant defence and human allergy. *Biochim Biophys Acta*. 2007; 1771: 781-91.
68. Salcedo G, Sánchez-Monge R, Díaz-Perales A, Pacios L F. Review. Plant food allergens: peach non-specific lipid transfer protein Pru p 3 as a model. *Span J Agric Res* 2008; 6: 30-37.
69. Sánchez-López J, Tordesillas L, Pascal M, Muñoz-Cano R, Garrido M, Rueda M, et al. Role of Art v 3 in pollinosis of patients allergic to Pru p 3. *J Allergy Clin Immunol*. 2014; 133: 1018-25.
70. Sancho AI, Rigby NM, Zuidmeer L, Asero R, Mistrello G, Amato S, et al. The effect of thermal processing on the IgE reactivity of the non-specific lipid transfer protein from apple, Mal d 3. *Allergy*. 2005; 60: 1262-8.
71. Sankian M, Hajavi J, Moghadam M, Varasteh AR. Identification and molecular characterization of the cDNA encoding Cucumis melo allergen, Cucm 3, a plant pathogenesis-related protein. *Rep Biochem Mol Biol*. 2014; 2: 82-7.
72. Sanz ML, Blázquez AB, Garcia BE. Microarray of allergenic component-based diagnosis in food allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2011; 11: 204-9.
73. Sastre J. Molecular diagnosis and immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2013; 13: 646-650.
74. Schneider Chafen JJ, Newberry SJ, Riedl MA, Bravata DM, Maglione M, Suttorp MJ, et al. Diagnosing and managing common food allergies: a systematic review. *JAMA*. 2010; 303: 1848-56.
75. Shewry PR, Beaudoin F, Jenkins J, Griffiths-Jones S, Mills EN. Plant protein families and their relationships to food allergy. *Biochem Soc Trans*. 2002; 30: 906-10.
76. Sinha M, Singh RP, Kushwaha GS, Iqbal N, Singh A, Kaushik S, et al. Current overview of allergens of plant pathogenesis related protein families. *Scientific World Journal*. 2014; ID 543195.
77. Taylor SL. Protein allergenicity assessment of foods produced through agricultural biotechnology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2002; 42: 99-112.
78. Uehara M. Reduced histamine reaction in atopic dermatitis. *Arch Dermatol*. 1982; 118: 244-5.

79. Van Loon L, Van Strein E. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiol Mol Plant Pathol.* 1999; 85-97.
80. Van Ree R. Clinical importance of non-specific lipid transfer proteins as food allergens. *Biochem Soc Trans.* 2002; 30: 910-3.
81. Volonakis MK, Tsaptsinos NJ, Kontou-Fili K. The diagnostic value of skin-prick tests in dermographic individuals. *Allergy Proc.* 1991; 12: 103-6.
82. Wagner S, Breiteneder H. Hevea brasiliensis latex allergens: current panel and clinical relevance. *Int Arch Allergy Immunol.* 2005; 136: 90-7.
83. Willeroider M, Fuchs H, Ballmer-Weber BK, Focke M, Susani M, Thalhamer J, et al. Cloning and molecular and immunological characterisation of two new food allergens, Cap a 2 and Lyc e 1, profilins from bell pepper (*Capsicum annuum*) and Tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Int Arch Allergy Immunol.* 2003; 131: 245-55.
84. Young GJ, Zhang S, Mirsky HP, Cressman RF, Cong B, Ladics GS, et al. Assessment of possible allergenicity of hypothetical ORFs in common food crops using current bioinformatic guidelines and its implications for the safety assessment of GM crops. *Food Chem Toxicol.* 2012; 50: 3741-51.
85. Zuidmeer-Jongejan L, Fernández-Rivas M, Winter MG, Akkerdaas JH, Summers C, Lebens A, et al. Oil body-associated hazelnut allergens including oleosins are underrepresented in diagnostic extracts but associated with severe symptoms. *Clin Transl Allergy.* 2014; 4: 4.