

# ALERGIA A LOS ALIMENTOS

## *FOOD ALLERGY*

Alicia Armentia <sup>1ab</sup>, Sara Martín-Armentia <sup>c</sup>, Blanca Martín-Armentia <sup>d</sup>,  
Javier Santos <sup>e</sup>

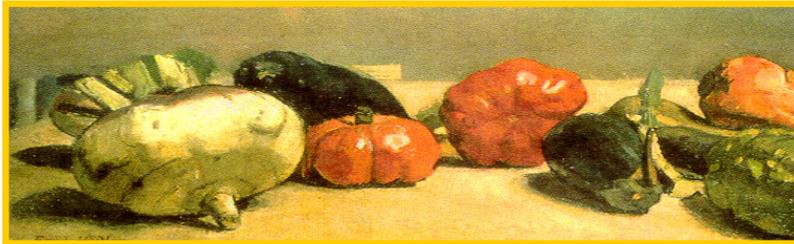
<sup>1</sup> Académico de número, <sup>a</sup> Profesora Titular, <sup>b</sup> Hospital Universitario Río Hortega,  
<sup>c</sup> Servicio de Pediatría, Hospital Universitario Río Hortega,  
<sup>d</sup> Unidad de Investigación, Hospital Universitario Río Hortega,  
<sup>e</sup> Servicio de Digestivo, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid

Correspondencia: Dra. Alicia Armentia, Sección de Alergia, Hospital Universitario Río Hortega, c/ Dulzaina 2, 47012 Valladolid. E-mail: [aliciaarmentia@gmail.com](mailto:aliciaarmentia@gmail.com)

Comunicación presentada el día 4 de Junio de 2015

An Real Acad Med Cir Vall 2015; 52: 143-188

---



### **RESUMEN**

En esta sesión se revisa la alergia alimentaria, su clínica y diagnóstico y exponemos los problemas que causa la reactividad cruzada entre las proteínas de diferentes alimentos. Así mismo, se estudia la prevención y tratamiento de la alergia alimentaria y las novedades terapéuticas futuras. Y las preguntas más usuales de los pacientes y sus posibles respuestas. Se completa con un taller práctico con pruebas diagnósticas a pacientes con sospecha de alergia a alimentos.

Al evaluar la clínica producida por la alergia a alimentos, se suele dividir en debida a anticuerpos IgE y no relacionada con estos anticuerpos. La anamnesis es fundamental pero la evaluación diagnóstica es diversa. En muchos casos es necesario una

dieta de eliminación y provocaciones con el alimentos sospechoso. En ocasiones se logra la tolerancia al alimento pero a veces el diagnóstico requiere nuevas provocaciones lo que conlleva a un importante riesgo para el paciente. Sin embargo, nuevas estrategias de laboratorio como el análisis molecular (diagnóstico por componentes), pueden definir un diagnóstico más definitivo y seguro para los pacientes en los próximos años

**Palabras clave:** Alergia, alimentos.

## **ABSTRACT**

In this session we review the food allergy, the clinical diagnosis and expose the problems caused by cross-reactivity between proteins of different foods. We have to studied the prevention and treatment of food allergy and future therapeutic developments. And the most common questions from patients and their possible responses. A workshop with diagnostics tests in patients will be done.

When evaluating possible food-induced allergic disorders, it is often useful to categorize disorders into IgE- and non-IgE-mediated syndromes. The initial history and physical examination are essentially identical for IgE- and non-IgE-mediated disorders, but the subsequent evaluation differs substantially. Proper diagnoses often require screening tests for evidence of food-specific IgE and proof of reactivity through elimination diets and oral food challenges. Clinical tolerance to food allergens will develop in many patients over time, and therefore follow-up risk food challenges are often indicated. However, a number of novel laboratory strategies like molecular analysis (component resolved diagnosis) are in the developmental stage and should provide more definitive treatment for some of these food-induced allergic disorders in the next several years

**Key words:** Allergy, Foods.

## **HIPERSENSIBILIDAD ALIMENTARIA**

Cualquier síntoma que haya afectado al ser humano ha sido atribuido, en uno u otro momento a los alimentos (1). La lista de alimentos incriminados en síndromes diversos es muy amplia. Sin embargo la mayoría de las reacciones alimentarias comprobadas provocaron únicamente síntomas gastrointestinales, cutáneos y respiratorios. El estudio de la hipersensibilidad alimentaria ha estado repleto de confusiones, restricciones dietéticas innecesarias y de errores diagnósticos. La última clasificación de la hipersensibilidad a alimentos respaldada por la WAO en 2003 es la de la comisión de Nomenclatura de la Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica. Se propone que cualquier reacción adversa a alimentos se defina como hipersensibilidad alimentaria; dentro de éstas, las reacciones mediadas por mecanismos inmunológicos se definen como alergia a alimentos (mediadas o no me-

diadas por IgE) y las reacciones no inmunológicas se definen como hipersensibilidad no alérgica a alimentos (previamente conocidas como intolerancia). Esta última puede deberse a:

1. Intolerancia por deficiencias enzimáticas, como la intolerancia a los hidratos de carbono, sobre todo por deficiencia de lactasa, casi con toda seguridad la causa más frecuente de reacciones adversas alimentarias.
2. Reacciones farmacológicas debidas a los constituyentes naturales de los alimentos (aminas vasoactivas, tiraminas de quesos) o a los compuestos añadidos durante su procesamiento o a los contaminantes adquiridos durante su almacenamiento
3. También es posible que existan reacciones de mediación bioquímica todavía no descubiertas.

## EPIDEMIOLOGÍA

En diversos estudios realizados con provocaciones confirman que la prevalencia de alergia a alimentos está sobreestimada por la población general, aunque ésta es importante. En Estados Unidos en la actualidad un 3,5 al 4% de la población general es alérgica a los alimentos y en Europa un 2,4%.

La prevalencia de la alergia a alimentos es más alta en la infancia (6-8%), que en la edad adulta que se estima en un 2% de la población (2). El motivo es que es durante los primeros años de vida cuando se introducen la mayoría de alimentos potencialmente alergénicos en la dieta y cuando se establecen los mecanismos de tolerancia inmunológica. Según los datos del estudio multicéntrico español Alergológica (2), los principales alérgenos alimentarios en niños son la leche (82%), el huevo (76%) y el pescado (50%). En los adultos los frutos secos (35%), frutas frescas (31%), pescados, mariscos y huevo (10%). Sin embargo estos porcentajes varían según las áreas geográficas determinadas y costumbres dietéticas. La alta prevalencia de alergia a pescado en España sólo es igualada por Japón, En Israel, el tercer alérgeno alimentario más importante es el sésamo que se incluye tempranamente en la dieta del lactante y en Italia los cereales. El cacahuete es el alérgeno más importante en EEUU aunque el consumo es igual que en China. Esto es debido a que en China se consume hervido o muy fritos y en EEUU tostados, lo que aumenta su alergenicidad. En España son muy importantes las frutas, y sus alérgenos tienen relación con alérgenos de los pólenes más predominantes en cada zona, como después describiremos.

## HISTORIA NATURAL DE LA ALERGIA A ALIMENTOS

La evolución natural de los niños alérgicos a los alimentos es a la tolerancia de los mismos. Aunque la alergia a los alimentos en la infancia tiende a desaparecer de la edad, esto no sucede de la misma manera ni con la misma rapidez con todos los

alimentos, aunque en la actualidad no se conocen datos para predecir pronósticos individuales (3). Cuanto más tiempo continúe produciéndose una reacción, o cuanta más edad tenga el niño en el momento de que la prueba de provocación confirme una hipersensibilidad, menos probable es que la reacción desaparezca. También dependerá del tipo de alimento implicado. Los niños con hipersensibilidad a cacahuets o pescado tienen pocas probabilidades de que sus reacciones desaparezcan, sobre todo si el problema persiste durante unos años. En el caso de la alergia a la leche, aumentará la persistencia si los padres son fumadores, si es un varón, si la madre no es de raza blanca y si existe sensibilización a caseína. Si la sensibilización a la leche es temprana aumentará la posibilidad de sensibilización a otros alérgenos (probabilidad de rinitis asma del 80% en la pubertad). Si la sensibilización es al huevo se suele alcanzar la tolerancia a los 3 años, pero una respuesta positiva al huevo a los 12 meses es un marcador altamente predictivo (VPP 78%) de sensibilización a aeroalérgenos a los 3 años. Si la hipersensibilidad a cacahuete persiste en la adolescencia se desaconsejan pruebas de tolerancia. Apenas existen datos de persistencia con el trigo a pesar que es un alimento tempranamente incluido en la dieta del lactante. El 92% de adultos con alergia alimentaria tiene sensibilización al menos a un aeroalérgeno y el 70% de adultos con alergia a alimentos tienen antecedentes de polinosis.

### **MECANISMOS FISIOLÓGICOS: BARRERA MUCOSA, MANEJO DE MACROMOLÉCULAS**

Una persona come a lo largo de su vida unas 3 toneladas de alimentos diferentes, lo que constituye una gran diversidad de macromoléculas biológicas. En condiciones normales el sistema inmune tolera los alimentos y reacciona frente a patógenos. Pero puede responder de una forma exagerada frente a antígenos alimentarios. El tracto gastrointestinal es el mayor órgano linfático del organismo. Hasta los dos años, en que se desarrolla totalmente la barrera intestinal, es posible la absorción de macromoléculas enteras y el sistema linfático puede reconocer epítomos conformacionales. Las barreras inespecíficas son el ácido gástrico, el moco, las enzimas digestivas y el peristaltismo. Las inmunológicas son la IgA e IgM secretoras. Los linfocitos T y B reconocen los antígenos, pero no son capaces de distinguir entre elementos nocivos y no. La clave está en las placas de Peyer. Tienen un centro germinal con células B productoras de IgA. Están rodeadas de células M que transportan los antígenos a las células dendríticas internas que lo procesan para presentarlo a las células B. Estas son inducidas a producir IgA por el influjo del TGF-beta producido por las células T y se produce un estado de tolerancia oral. Las células dendríticas son capaces de regular la producción de IgA secretora en el tracto gastrointestinal y suprimir a las células T, provocando la tolerancia. Las células epiteliales del intestino realizan la misma función y son capaces de hacer tolerantes a las células dendríticas anulando su capacidad inflamatoria y haciéndolas liberar IL-10 e

IL-6 pero no IL-12, provocando una respuesta Th2 de tolerancia. Estas células están muy unidas pero en caso de inflamación se abren estos espacios y permiten el paso de gran cantidad de antígenos.

La exposición transmucosa con el Ag da lugar a una respuesta IgE y riesgo de alergia, facilitada por la IL-4. Sin embargo, la IL6 es la crítica en la producción de IgA.

La tolerancia oral puede ser inducida por una sólo dosis alta de Ag (delección clonal o anergia) o con dosis bajas y repetidas. Las células T reguladoras Tr1 segrega IL10 capaz de suprimir la respuesta inmune a nivel intestinal.

Otros factores que también intervienen en la tolerancia son: la dosis, características y forma en que el Ag es administrado. Los antígenos solubles son más tolerogénicos que los particulados. Factores genéticos influyen en la respuesta a un determinado alimento. La flora intestinal también es importante y la administración de *Lactobacillus* mejora el eccema y la función barrera en niños alérgicos a la leche.

## **INMUNOPATOLOGÍA DE LA ALERGIA ALIMENTARIA**

El tracto gastrointestinal forma parte de un sistema inmunológico de musosas (MALT), del que forma parte también el tejido bronquial, nasofaríngeo, mamario, lagrimal, genitourinario, es decir, todas las vías por donde puede entrar un Ag. En el MALT hay zonas inductoras de facilitación de entrada y procesamiento del Ag y zonas efectoras donde residen los linfocitos B y T.

La entrada normal de macromoléculas está regulada por las células M que cubren las placas de Peller y muestran el Ag al tejido linfático subyacente. Esta absorción de macromoléculas permite en los recién nacidos un paso de proteínas maternas como las inmunoglobulinas y factores de crecimiento beneficiosos. Pero si en un adulto la barrera se deteriora, el paso de estas proteínas puede tener consecuencias clínicas. Se ha visto un aumento de permeabilidad del MALT en asmáticos, por ello se considera que en la alergia alimentaria unida a asma hay un fallo general del MALT. La mayoría de las macromoléculas son absorbidas en el intestino delgado y presentadas a los linfocitos T y B en ausencia de células dendríticas, siendo inhibida la activación del linfocito T y produciéndose una tolerancia. Pero si las proteínas escapan a la digestión y alcanzan el ileo terminal, son procesadas por las células dendríticas tras su paso a través de las células M, con lo que el linfocito T recibe señales de activación se activan en las placas de Peller y viajan a través de los folículos linfoides a la circulación general. De ahí, los linfocitos migran a los órganos diana del MALT donde reciben un trofismo específico determinado genéticamente por el que se van a asentar en los órganos efectores correspondientes a las zonas inductoras donde inicialmente respondieron al antígeno, dando lugar a las diferentes formas clínicas. Una vez allí, cada vez que se produzca la llegada del Ag, los linfocitos T y B asentados liberarán sus mediadores inflamatorios.

## **ALERGIA ALIMENTARIA**

Debido a causas genéticas y ambientales, tipo y forma de administración del alimento, edad y estado de inmadurez de la barrera gastrointestinal, se va a producir una respuesta inmunológica a antígenos alimentarios, en la que también puede intervenir un retraso en la producción de IgA. La alergia alimentaria puede ser:

### **A. ALERGIA ALIMENTARIA MEDIADA POR IgE:**

Esta consta de 3 fases:

1. Una de sensibilización en la que las células presentadoras de Ag (dendríticas, macrófagos y células B) presentan los péptidos antigénicos a los linfocitos T (CD4+ vírgenes), Bajo la influencia de IL.4 e IL-13 se transforman en linfocitos Th2, necesarios para la transformación de los B en células plasmáticas productoras de IgE. En esta fase todavía no hay clínica.
2. Fase efectora: la exposición recurrente del Ag induce la unión de IgE a los receptores de alta afinidad para IgE expresados en mastocitos y basófilos, lo que provoca su liberación de mediadores inflamatorios y desencadena la clínica. Es una respuesta inmediata que puede seguirse de una tardía a las 24 horas de la exposición caracterizada por infiltración de Th2.
3. Fase crónica: Resultado de la repetición de fases tardías, en la que se provoca dilatación arteriolar, aumento de la permeabilidad, estimulación de nervios sensitivos y alteración de la función gastrointestinal con infiltración de basófilos, eosinófilos cuya secreción origina fibrosis y disfunción orgánica.

### **B. ALERGIA ALIMENTARIA NO MEDIADA POR IgE**

Se ha observado una hiperplasia linfonodular en el ileon en varias enfermedades inflamatorias del intestino con un patrón de alteración inmunológica consistente en un aumento de células CD4+ y disminución de células Th1 en sangre periférica que provoca síntomas similares a la alergia alimentaria. En los celíacos se observa un aumento de CD8+ y células Th1 en sangre periférica y aumento de CD8+ en mucosa yeyunal.

## **ALERGENOS ALIMENTARIOS**

### **SENSIBILIZACIONES PRIMARIAS Y SECUNDARIAS**

Según diversos estudios, los alérgenos capaces de sensibilizar y además desencadenar la reacción alérgica se les denomina “alérgenos completos” y a los que son capaces de desencadenar una reacción alérgica pero no de sensibilizar se les denomina alérgenos incompletos. El alérgeno completo produce una inhibición total de alérgeno incompleto, mientras que el incompleto sólo produce una inhibición parcial del alérgeno completo. Aunque una de las características principales de los

anticuerpos es su especificidad, una determinada IgE puede reconocer antígenos diferentes, lo que da origen a la reactividad cruzada. Esto resulta comprensible para antígenos de especies relacionadas filogenéticamente (un paciente alérgico a gamba puede serlo a langostino), pero también se ve reactividad cruzada entre alérgenos alimentarios de especies no relacionadas. Por lo general los alérgenos responsables de las reacciones inmunológicas frente a alimentos/especies son de alto PM en el caso de reacciones inmediatas. Hay alimentos que pueden contener alérgenos de bajo PM como el diacilsulfuro del ajo, causa de hipersensibilidad retardada tipo IV. La exposición a contaminantes de alimentos como actinomicetos termófilos puede provocar alveolitis alérgica extrínseca. Es necesario saber que alérgeno fue el primer sensibilizante o sensibilizante primario. Breiteneder y Ebner en el año 2000 sugieren una clasificación de la alergia a alimentos dependiendo del patrón de alérgenos implicados:

#### 1. Alergia a los alimentos de clase 1:

Se produce por la sensibilización al alérgeno por vía gastrointestinal. Es producida por alérgenos de clase 1, que son glicoproteínas hidrosolubles de PM entre los 10 y 70 KDa, muy estables y resistentes al calor, los ácidos y las proteasas. Los alérgenos que la causan son resistentes a la digestión gástrica y son alérgenos completos, capaces de sensibilizar y dar clínica. Afecta a los niños y es rara en los adultos. Los más importantes son las proteínas de la leche de vaca, huevo, legumbres, parvalbúmina del pescado, tropomiosina de la gamba y proteínas transportadoras de lípidos presentes en frutas, causa de alergia en adultos.

#### 2. Alergia a alimentos de clase 2:

Consecuencia de una sensibilización primaria a aeroalérgenos. El alérgeno alimentario sería capaz de desencadenar una reacción alérgica pero no de inducir sensibilización. Los alérgenos son incompletos, proteínas termolábiles y susceptibles a la degradación enzimática y afectarían a adolescentes y adultos. Existen epítotos comunes entre alimentos y aeroalérgenos.

Según en el Comité Europeo sobre Seguridad Alimentaria, los principales alimentos alergénicos son la leche, el huevo, el pescado, los crustáceos, los cereales, el cacahuete, los frutos secos, la mostaza, el apio y el sésamo. Estos alérgenos se denominan de acuerdo a su nombre taxonómico, tomando las 3 primeras letras del género, la primera letra de la especie y un número árabe, siguiendo el orden de su identificación y se suele utilizar el mismo número para alérgenos homólogos de diferentes especies por ejemplo Betv1 de abedul y Nal d1 de la manzana que pertenecen al mismo grupo de proteínas de defensa (PR-10). Los alérgenos se clasifican en mayoritarios y minoritarios según la frecuencia con la que se detecta IgE específica frente a los mismos. Si es >50% será mayoritario, aunque no siempre coincida con su capacidad clínica. Los alimentos que más frecuentemente inducen reacciones alérgicas son los más consumidos.

## CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO DE LA ALERGIA A ALIMENTOS

Aunque han sido atribuidos multitud de síntomas a determinados alimentos, los síntomas reproducidos durante pruebas de provocación alimentaria, controladas con placebo y ocultación doble incluyen náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal entre los síntomas digestivos. Las reacciones cutáneas incluyen urticaria, angioedema, dermatitis atópica (sobre todo por huevo en lactantes) y erupciones eritematosas inespecíficas por ingesta o contacto con el alimento. Las manifestaciones respiratorias y oculares incluyen estornudos, rinorrea, prurito ocular y faringeo, sibilancias, tos y laringoespasma. No se ha demostrado que la ingesta de alimentos cause asma, pero sí que aparezca evolutivamente. Sí es posible el asma por inhalación de vapores de alimentos y se observa rinoconjuntivitis en un 70% de las provocaciones orales. La combinación devastadora de los síntomas mencionados se acompaña de hipotensión y origina una anafilaxia (1). Los pacientes que han superado la edad de la tolerancia para la leche y continúan siendo alérgicos sufren anafilaxia en el 90% de los casos. Los alimentos son causantes de un tercio de las anafilaxias. Es importante la anafilaxia inducida por el ejercicio y asociada con alimentos. El más habitual es el trigo y el alérgeno principal es la  $\omega$  5 gliadina. Los síntomas digestivos pueden ser vómitos y diarreas, reflujo gastroesofágico (sobre todo con leche), dolor abdominal, rechazo del alimento en niños. Hay que tener en cuenta circunstancias desencadenantes como el ejercicio, antiácidos, AINES, y enfermedades asociadas.

El síndrome de alergia oral (SAO) es una situación intermedia entre los síntomas cutáneos, digestivos y respiratorios. Se produce prurito orofaríngeo y palatino (a veces ótico) tras la ingesta con o sin lesiones peribucales y edema del labio de pocos minutos de duración.

Los alimentos son causa frecuente de dermatitis de contacto, sobre todo ocupacional en profesiones relacionadas con la restauración. El ajo, la cebolla, los cítricos y las patatas son frecuentes desencadenantes. También las especias y saborizantes. Puede haber dermatitis fototóxica tras contacto con alimentos con furocumarinas (bergamota), como el apio, la chirivía y la lima. Se producen vesículas y ampollas de forma lineal. La dermatitis de contacto proteínica es de tipo inmediato pero no se produce urticaria sino prurito y vesículas generalmente en palma de manos. Los prick son positivos y las pruebas de parche negativos. La provocan sobre todo pescados y mariscos. La urticaria de contacto suele producirse por pescados y mariscos, cebolla, frutas y verduras. También con huevo, carnes y productos lácteos. La reagudización de una dermatitis de contacto puede dar lugar a una dermatitis sistémica que implica áreas extensas de eritrodermia exfoliativa que afecta a las nalgas y flexuras (síndrome del babuino).

Aunque otros síntomas como hiperactividad, cefalea no migrañosa, otitis, Menière, artritis, enuresis, síndrome de fatiga por tensión trastornos del aprendizaje y

acné se han asociado a alimentos no se han podido confirmar mediante provocación objetiva.

El síndrome de diarrea persistente e hipersensibilidad alimentaria merece un comentario aparte: la diarrea crónica es un motivo frecuente de consulta al alergólogo para el que no existen pruebas de laboratorio adecuadas.

Las enteropatías por proteínas de soja y leche de vaca pueden ser transitorias y se resuelven a los 3 años de edad. Cursa con vómitos profusos los 60-90 minutos de tomar un alimento y se acompaña de decaimiento, hipotensión, mala perfusión periférica y quejido. El aspecto puede ser séptico pero transcurridas unas horas se encuentra normal.

La esofagitis, gastritis y gastroenteritis eosinofílica puede causar vómitos, náuseas, dolor abdominal, diarrea, dificultad para la deglución por estenosis esofágica. Tiene importancia la IL5 y la eotaxina. Las causas de eosinofilia gastrointestinal pueden verse en tabla 1. El diagnóstico diferencial del reflujo se establece por que en este último no hay historia previa de atopia, no hay eosinofilia periférica, la pHmetría es anormal, no hay infiltrado eosinófilo (>20/campo en esofagitis Eo.), mejora con inhibidores de la bomba de protones y la dieta de exclusión es ineficaz.

La colitis hemorrágica del lactante se manifiesta por deposiciones con sangre en un lactante con buen estado general y sin otra enfermedad. Puede hallarse IgE a alimentos.

El cólico del lactante aparece en el primer trimestre y consiste en crisis de llanto, agitación con flexión de extremidades inferiores y distensión abdominal que ceden tras expulsión de gases. Son patológicos se persisten más de 3 horas al día y más de 3 días por semana durante más de 3 semanas. Se deben sustituir la leche de vaca por hidrolizados y suprimir la leche de la ingesta materna.

La enfermedad celiaca puede prolongarse más y debe ser controlada hasta la edad adulta. En España se han descrito un aumento de enteropatías gastroalérgicas provocada por el parásito del pescado *Anisakis simplex*.

## **METODOLOGÍA DIAGNÓSTICA EN LA ALERGIA A ALIMENTOS**

En la alergia alimentaria los datos de la anamnesis, y que son tan fundamentales en otras enfermedades para establecer el diagnóstico se han de confirmar o refutar mediante prueba de provocación alimentaria (4). Deben registrarse los síntomas objetivados, el intervalo transcurrido entre la ingesta del alimento y el inicio de los síntomas, la cantidad de alimento necesaria para producir síntomas y la frecuencia con que esta reacción se ha presentado en el pasado (Tablas 2 y 3). Tras la eliminación de la dieta del alimento sospechoso, si los síntomas persisten, puede quedar descartado. Si al reinstaurar el alimento en la dieta se repiten los síntomas, es preciso efectuar una prueba de provocación. Las dietas de eliminación no son muy útiles para el diagnóstico si los síntomas son ocasionales o esporádicos. Es mejor que el

paciente anote diariamente los alimentos que consume y los relacione con los síntomas, aunque estos diarios suelen ser muy tediosos para el paciente.

En la exploración hay que poner especial cuidado en el estado de la piel y también explorar los aparatos respiratorio y digestivo.

Las pruebas cutáneas son seguras y específicas con alto valor predictivo negativo (VPN). Miden la activación de los mastocitos cutáneos. Una prueba cutánea negativa prácticamente excluye la sensibilización al alimento, pero una positiva debe supeditarse a los resultados de la provocación. Se pueden realizar en niños menores de 2 años, aunque su sensibilidad es menor, tienen una gran especificidad. La elaboración de los extractos diagnósticos con alimentos complica el diagnóstico. Los alérgenos purificados son mejores que los recombinantes, obtenidos por recombinación de ácidos nucleicos *in vitro*. Sin embargo estos últimos son reproducibles y fácilmente estandarizables. Además no existen todas las isoformas naturales. Con frutas y vegetales es mejor el prick by prick, teniendo en cuenta que la piel es más alérgica que la pulpa, y que hay diferente alergenidad entre variedades de la misma especie. También hay que tener en cuenta el procesado del alimento: La manzana, avellana y apio pierden su alergenidad tras calentamiento pero en el caso del cacahuete, la lenteja o la lapa la aumentan por la aparición de neoantígenos. Es preciso una correcta caracterización y cuantificación de la actividad biológica de los alérgenos principales. Si la reacción fue de anafilaxia, mejor es evitar las pruebas y medir la IgE específica. La triptasa se eleva a los 60-90 minutos del inicio de la anafilaxia y se mantiene 6 horas.

Otras pruebas cutáneas son las pruebas de parche con alérgenos. No tienen utilidad en la alergia a alimentos mediada por IgE, pero se han utilizado en el diagnóstico de dermatitis tópica por leche, huevo y trigo y en las reacciones tardías a alimentos, sobre todo a trigo y en esofagitis eosinofílicas. Se pueden encontrar respuestas irritantes.

#### -Determinación de IgE específica.

Existe correlación entre la gravedad de la clínica con la presencia de IgE frente a gran diversidad de epítomos. Es un test altamente sensible y muy rentable con alimentos como leche, huevo, cacahuete, pescado y más baja para frutas y otros vegetales. Se han establecido puntos de corte de valores de IgE que se correlacionarían con una positividad en la prueba de provocación y la obviarían. En cuanto a otras técnicas *in vitro*, no hay ningún análisis que haya logrado sustituir a las pruebas de provocación aunque la detección de IgE específica por CAP es altamente fiable. No sirve de nada la determinación de IgG, IgA o IgM específica. El tests citotóxico (ALCAT) no es reproducible ni avalado por la literatura científica. Otros tests como la kinesiología, neutralización, pulso, electrotérmico, no tienen valor.

-Pruebas de provocación controlada con alimentos.

Recientemente la EAACI ha publicado la guía de la provocación con alimentos, prueba altamente diagnóstica, pero con riesgo. No se debe hacer en caso de anafilaxia o reacción sistémica grave o si la historia es altamente sugestiva, repetida y reciente con estudio alergológico previo concordante. Tampoco se debe hacer en pacientes que no puedan recibir adrenalina, tratados con beta-bloqueantes, IECA, IMAOS, antidepresivos tricíclicos o inmunosupresores. Embarazadas y niños pues su evolución es a la tolerancia, pacientes con asma o dermatitis grave o con mastocitosis. Se precisa dieta de eliminación previa, ingreso y vía.

Para hacer una provocación el alimento debe enmascararse o introducirse desecado en cápsula y administrarse en concentración creciente comenzando con una dosis aproximada a la mitad de la cantidad que se espera que provoque síntomas y cruzando el placebo y el alimento activo (Tabla 4). El paciente y el observador debe mantener un registro de síntomas y cuando la prueba doble ciego es negativa después de 10 gr. de alimentos desecado o equivalente se debe introducir el alimento libremente en la dieta habitual, preparado como se consume habitualmente. Algunos pacientes tienen síntomas retardados que suelen no ser graves o peligrosos para sus vidas. Tras la provocación las historias se suelen confirmar en menos de 40% de los casos.

Las gastroenteropatías, sobre todo las debidas a leche de vaca, soja y gluten son reacciones inmunológicas no mediadas por IgE. Su diagnóstico no es por provocación y se suele realizar endoscopia y biopsia. Si se sospecha celiaca, se miden anticuerpos antitransglutaminasa.

-Prueba labial.

Se aplica una gota del alimento en la parte interna del labio y se observa lo que pasa a los 15 minutos.

-Diagnóstico desglosado por componentes: alérgenos purificados.

Son mas estables, estandarizables y pueden ser producidos en grandes cantidades. Se han sintetizado más de 40 alérgenos recombinantes. Al probar diferentes proteínas de un alimento, nos ayuda a investigar diferencias geográficas de sensibilización y las reactividades cruzadas, como la alergia tipo II a alimentos debida a un sensibilizante primario polínico. También descartan sensibilizaciones subclínicas por IgEs de baja afinidad debido a reactividades cruzadas.

-Diagnóstico desglosado por componentes: Epítomos de alérgenos.

Los pacientes que poseen anticuerpos IgE frente a epítomos secuenciales padecen con más frecuencia alergia persistente al alimento y es más grave, que el que responde a epítomos conformacionales que evolucionan a la tolerancia en menos tiempo. Por ejemplo, la presencia de IgE frente a epítomos AA 123-132 de la alfa1 caseína es marcador de persistencia de la hipersensibilidad a la leche.

-Paneles diagn3sticos de al3rgenos o ep3totos.

La aplicaci3n de los ensayos de hibridaci3n de 3cidos nucleicos a gran escala (micromatrices o microarrays) ha hecho posible que podamos disponer de chips o paneles de al3rgenos o ep3totos, pegados a una placa de s3lice, pudi3ndose utilizar miles en un solo ensayo. Esto nos permitir3a saber el mapa de sensibilizaci3n de un paciente, su relevancia cl3nica, las posibles reactividades cruzadas y el pron3stico de su enfermedad.

### **PROBLEMAS CLINICOS RELACIONADOS CON LA REACTIVIDAD CRUZADA**

Los alimentos est3n compuestos por prote3nas, hidratos de carbono y l3pidos. Para las exposiciones por v3a digestiva, la estabilidad de las prote3nas es importante, pero por v3a respiratoria, el tama1o y la solubilidad. En general, la mayor3a de los al3rgenos que se han identificado son glicoprote3nas solubles en agua, con un punto isoel3ctrico 3cido y un peso molecular entre 10 y 70 kDa. Suelen ser estables y resistentes al calor, 3cidos grasos, detergentes como las sales biliares y proteasas (resisten el procesamiento, cocinado y digesti3n); propiedades que favorecen la llegada de las mol3culas de forma intacta al intestino delgado. Los alergenos alimentarios se pueden desnaturalizar por el calentamiento por encima de 60°C, pero tambi3n se puede aumentar su alergenicidad. La hidr3lisis enzim3tica puede modificar a los alergenos y dar lugar a neoant3genos sensibilizantes o no. Para que el al3rgeno sea estable debe tener una estructura tridimensional compacta (puentes disulfuro), capacidad para unirse a ligandos y glucosilaci3n. Cada alimento contiene un n3mero de prote3nas potencialmente alerg3nicas, y existen entre ellas ant3genos mayores o principales (capaces de fijar IgE espec3fica en al menos el 50% de sueros de pacientes sensibilizados a un alimento) y menores o secundarios. Dentro de un mismo alimento, y dependiendo del grupo de poblaci3n estudiada y el tipo de sensibilizaci3n, el al3rgeno o al3rgenos mayores pueden ser diferentes. La reactividad cruzada es un fen3meno que aparece cuando un anticuerpo IgE dirigido contra un ep3toto de un ant3geno es capaz de reaccionar contra un ep3toto igual o similar de otro ant3geno diferente (5-8). Muchas veces en pacientes se encuentran respuestas IgE a una variedad de al3rgenos con los que aparentemente no han tenido relaci3n. La significaci3n cl3nica de estos anticuerpos no es siempre la misma, puede variar desde producir s3ntomas al primer contacto hasta ser simples testigos inocentes. Su aparici3n en la alergolog3a no es reciente (el prurito oral al comer manzana en pacientes con sensibilizaci3n a abedul o con melocot3n en al3rgico a gramineas se conoce desde hace m3s de 50 a1os) y desde hace a1os ya preocupaba la aparici3n de "falsos positivos" cuando en alergia a alimentos aparec3an tests cut3neos positivos hacia productos bien tolerados por los enfermos. Esta reactividad cruzada puede aparecer entre fuentes alerg3nicas muy cercanas filogen3ticamente (7-8). Sin embargo, glicoprote3nas con un alto nivel de homolog3a estructural o funcional, que se

encuentran en diferentes fuentes no relacionadas filogenéticamente, son considerados panalérgenos, y son los responsables de la reactividad cruzada entre alérgenos no relacionados. Para demostrar reactividad cruzada se realizan técnicas *in vitro*: CAP, ELISA o inmunoblotting de inhibición. Una vez aislados los alérgenos se aíslan o purifican aprovechando las propiedades fisicoquímicas de la proteína alérgica. Para identificar el epítopo responsable de la reactividad cruzada es necesario la utilización de alérgenos purificados, alérgenos recombinantes y anticuerpos monoclonales. El hecho de demostrar reactividad cruzada inmunológica "*in vitro*" no implica que vaya a tener una traducción clínica. Esto va a depender de muchos factores (presentación del antígeno, diferencias de IgE, ejercicio, infecciones, cambios hormonales, stress...). Es un perjuicio para el paciente suponer la existencia de una reactividad cruzada entre alimentos, aun cuando pertenezcan a la misma familia. De hecho existe mas reactividad cruzada entre polen de abedul y frutas o entre ambrosía y melón que entre otros pólenes entre sí. Los pacientes alérgicos a cacahuete, por ejemplo, pueden tolerar el aceite puro del cacahuete pero los alérgicos a pescado pueden tener síntomas si comen un alimento frito con aceite en el que previamente se ha frito pescado. En el norte de Europa, con muchos abedules la alergia a los alimentos de origen vegetal está mediada por proteínas hábiles y fácilmente degradables por enzimas digestivos, produciendo síntomas leves orofaríngeos. En el área mediterránea, las proteínas implicadas son sobre todo LTPs, alérgenos muy estables y gastroresistentes que pueden causar clínica sistémica (urticaria, anafilaxias) pues son alérgenos completos, capaces de sensibilizar por vía digestiva y producir sensibilización primaria. El polen de abedul y artemisia tiene reactividad con apio, zanahoria y especias en el centro de Europa, Los alérgicos a polen de ambrosia con melón sandía y plátano. El polen de plantago la tiene con el melón y el *Chenopodium album* con el plátano, melón y melocotón y en el centro de España es posible la asociación de alergia a rosáceas y melón con el polen de gramíneas, estando implicadas las profilinas. Se ha descrito reactividad cruzada entre el polen de *Platanus* y el maíz, entre el arroz, la soja y el cacahuete y entre el trigo sarraceno y el látex.

Es posible que aunque se demuestre IgE específica por prueba cutánea y RAST el paciente haya superado la clínica alérgica alimentaria aunque persista la sensibilización.

La aplicación de las técnicas de biología molecular durante las 2 últimas décadas ha facilitado la identificación y análisis de muchas moléculas alérgicas y han dado pie al desarrollo de chips "multialérgenos" capaces de analizar en un solo paso los complejos perfiles alérgicos de los pacientes y diseñar nuevos productos genéticamente modificados para reducir su alergenidad.

## **PANALERGENOS VEGETALES: APLICACIÓN CLINICA DE LA CARACTERIZACION Y PURIFICACION DE ALERGENOS VEGETALES ALÉRGENOS DE ORIGEN VEGETAL**

Las proteínas de plantas presentes en alimentos se pueden clasificar en 3 grupos:

1. Proteínas de reserva: se acumulan sobre todo en las semillas de plantas superiores.
2. Proteínas estructurales, catalíticas y reguladoras, que se sintetizan en pequeñas cantidades en respuesta a factores ambientales. En ellas se incluyen las profilinas, la beta fructofuranosidasa en tomate y la glixalasa I del arroz.
3. Proteínas de defensa: frente a invasiones de patógenos y plagas (virus, bacterias, hongos, insectos, nematodos).

### 1. Proteínas de reserva.

Su función es el suministro de nutrientes durante la germinación. Se clasifican en dos superfamilias: prolaminas y cupinas, con secuencias de aminoácidos muy diferentes pero que comparten dominios conformacionales. Alguna de estas proteínas se emplea en el procesado de productos alimenticios con el fin de conferirles propiedades de viscosidad, tensoactivas, etc. Por lo que pueden encontrarse en alimentos sin etiquetar. Las fuentes de proteínas de reserva son los cereales, legumbres, frutos secos y especias.

a) Superfamilia de las prolaminas: son proteínas de gran importancia en el procesado de alimentos. Incluye dos grupos: Las prolaminas propiamente dichas (en harinas y cereales) y las albúminas.

Prolaminas: Son proteínas insolubles en agua, ricas en aminoácidos prolina y glutamina. Pueden causar alergia por inhalación (por harina en asma del panadero) o por ingestión (con clínica de dermatitis atópica o anafilaxia inducida por el ejercicio). Aunque en el asma del panadero están involucradas esencialmente enzimas inhibitoras de alfa amilasa, acil-CoA oxidasa, peroxidasa y otras enzimas, también se ha demostrada la implicación de diferentes tipos de gliadinas. En anafilaxia inducida por el ejercicio y dependiente de la ingestión de trigo está demostrada su asociación a la gliadina (19), de 53 KDa, proteína recientemente clonada y secuenciada, con notable identidad con las alfa-secalinas de arroz y la hordeína de la cebada. Se ha demostrado reactividad cruzada entre estos alérgenos y la gliadina omega-5 que se activa en el intestino durante el ejercicio formando grandes complejos de alérgeno capaces de producir reacción anafiláctica. La gliadina omega-5 es un alérgeno mayoritario en niños con alergia inmediata tras la ingestión de trigo.

Albúminas 2S: Son proteínas solubles con coeficiente de sedimentación de 2. Son alérgenos mayoritarios de las leguminosas, frutos secos y especias y son el

grupo más conocido de la familia de las prolaminas, con PM de 10-14 KDa y 90 a 135 aminoácidos. Son ricas en aminoácidos nitrogenados (glutamina y arginina) y sulfurados (cistina) para suministrar nitrógeno, azufre y carbono durante la germinación. Contienen mucha metionina por lo que se utilizan en biotecnología para mejorar las propiedades nutricionales de otras semillas como la soja. Actúan en la defensa frente a bacterias gram positivos, hongos, inhibidores de serínproteasas y actividad antagonista de la calmodulina. Las albúminas 2S pueden acceder al organismo por ingesta de la semilla o por inhalación de la harina obtenida en su molturación. Son alérgenos relevantes en la alergia causada por la mostaza, cacahuete, nuez del brasil, nuez inglesa, pipas de girasol, sésamo, guisante, almendra, avellana, anacardo soja y col. También tienen albúminas 2S, colza y semillas de algodón causando alergia ocupacional. Las albúminas 2S son codificadas por familias multigénicas por eso tienen gran polimorfismo y en una misma semilla hay parecidas pero no idénticas. Se han descrito más de 15 albúminas 2S, en más de 10 especies vegetales. El alérgeno más conocido es el Sin a 1 de la mostaza amarilla (*Sinapsis alba*). Las mostazas tienen gran proximidad filogenética por que pertenecen ambas a la familia *Brassicaceae* (nabos, rábanos, coles, coliflor y brócoli) por lo que hay reactividad cruzada entre ellos. Otras albúminas 2S como las del ricino, cacahuete o girasol tienen baja reactividad cruzada por la gran diferencia entre las regiones hipervariables. El plegamiento conformacional de las albúminas 2S es similar a las LTP, inhibidores de alfa-amilasa/tripsina de cereales y la proteína hidrofóbica de soja. Las albúminas 2S son muy estables ante tratamientos térmicos y enzimas proteolíticos, pues son compactas y con muchos puentes disulfuro por lo que alcanzan el epitelio gastrointestinal de forma intacta e interacciona con los lípidos que facilitan su absorción.

b) Familia de las cupinas: Presentan dominios característicos de “barril beta” tipo cupina. Se encuentran en numerosas mono y dicotiledoneas. Tienen 3 tipos de proteínas: globulinas 11S o leguminas, 7S o vicilinas y germinas. Se han encontrado en la soja, cacahuete, nuez, almendra, trigo, lenteja, guisante, pimienta, mostaza y naranja.

Las germinas tienen gran solubilidad, carácter glicoproteico y estabilidad frente a agentes desnaturizantes como tratamientos térmicos y enzimas proteolíticas. Se sintetizan en paredes celulares de embriones de cereales y se expresan en etapas tempranas de su germinación. Aparecen en plantas adultas tras la agresión por agentes biológicos o ambientales (ayuno, calor, deshidratación). La GPL de pimienta es el primer miembro de una nueva familia de defensa de plantas: la PR-16.

Las cupinas pueden producir radicales peróxido, con actividad catalítica. La GLP del trigo y de la *Arabidopsis* son alérgicas, como la de la naranja.

Leguminas (globulinas 11S) y vicilinas (globulinas 7S):

Tienen un PM de 300-450 KDa, por ensamblaje de dos dímeros. Los monómeros de 30-40 KDa contienen una estructura en barril beta. Sólo se ha encontrado un

miembro glicosilado en el lupino. Las vicilinas tienen poca similitud con las leguminas pero su estructura tridimensional es similar. Se han descrito leguminas en la soja (glicinas g1 y g2), en los frutos secos, como el cacahuete (Ara h 3), nuez del Brasil (Ver e 2), avellana (Cor a 9), anacardo y mostaza y podrían ser importantes en la nuez, coco sésamos y almendra. Se ha encontrado reactividad cruzada entre leguminas de la soja y cacahuete.

Tanto las leguminas como las supinas tienen labilidad térmica pero el tostado aumenta la alergenicidad del cacahuete.

## 2. Profilinas.

Son proteínas citosólicas de 14 KDa que son básicas para la formación del citoesqueleto de las plantas. Constituyen una familia de panalérgenos altamente conservada (más del 70% de homología de secuencia entre sus miembros), responsable de la co-sensibilización entre pólenes y plantas. Resisten la temperatura pero son fácilmente atacadas por proteasas digestivas, y por ello producen síntomas locales y leves (SAO). La prevalencia de IgE frente a profilinas suele ser de un 20-30% pero son mayoritarios en soja, naranja y melón.

## 3. Proteínas de defensa.

Las plantas representan el grupo más importante de organismos autofrónicos y durante toda su vida son base alimentaria de organismos heterotróficos, que incluyen animales, insectos y microorganismos (hongos, bacterias y virus). Para contrarrestar su ataque, han desarrollado mecanismos químicos, estructurales y metabólicos. Cuando una planta es atacada hay un mecanismo de localización rápida de las células dañadas (equivalente a una respuesta de hipersensibilidad), se acumulan sustancias antimicrobianas y se producen proteínas relacionadas con la patogénesis cuya síntesis está regulada por genes de defensa. Desde hace años se intuyó que la manipulación de estos genes podría determinar la siembra de vegetales más resistentes a plagas. Estos estudios comenzaron tras las epidemias de hambre causadas por la parasitación de vegetales de importante consumo, como la causada por la parasitación de las patatas en Europa en 1896 por el hongo *Phytophthora infestans*. Por ello, además de la selección natural de las especies, el hombre ha ido modificando sus cultivos, seleccionando los más resistentes e intentando manipularlos, hasta llegar actualmente a la complejidad del cultivo de especies transgénicas.

Un número creciente de familias de proteínas relacionadas con la patogénesis (proteínas PR: patogénesis-related proteins) ha sido implicado en los mecanismos de defensa (inducidos o constitutivos) que poseen las plantas frente al ataque de plagas y patógenos por su poder antifúngico, antiparasitario o antibacteriano (5,6). Tienen dos características con relevancia clínica 1) Su inducción por distintos tipos de estrés puede condicionar los niveles de un alérgeno determinado en productos

comerciales, en función de las condiciones de cultivo, almacenamiento, etc. 2) muchas de estas proteínas (LTPs, inhibidores..) presentan una estructura compacta, estabilizada por muchos puentes disulfuro, que las hace resistentes a tratamientos térmicos y a la digestión por proteasas digestivas, lo que determina que se encuentren como alérgenos inmunológicamente activos en alimentos procesados y al interactuar con el sistema inmunitario intestinal.

En la última década, un muy reducido grupo de estas proteínas han sido identificadas como alérgenos principales de alimentos o pólenes. Los dos casos mejor ilustrados corresponden posiblemente a la familia de proteínas relacionada con la patogénesis (PR10P), presente en pólenes de Fagales, en frutas (manzana) y en hortalizas (apio, zanahoria) (7,8), y a la familia de inhibidores de  $\alpha$ -amilasas de cereales (9,10). La amplia distribución de estas familias de proteínas de defensa y el alto nivel de similitud de secuencias entre sus miembros, han sido esenciales para explicar las reacciones cruzadas entre pólenes y frutas en el primer caso, y la implicación de diferentes harinas en la alergia ocupacional conocida como "asma del panadero" en el segundo. Se ha visto que la identidad estructural de los alérgenos que tienen reactividad cruzada no ha de ser esencialmente absoluta, sino que será suficiente la existencia de cierta similitud molecular, en algunos casos mínima. Sin embargo, ha sido en el último año cuando empieza a sospecharse una estrecha relación entre proteínas de defensa y alérgenos vegetales como una posible característica general, que de confirmarse, puede tener consecuencias futuras muy importantes tanto en el campo de la alergia como en las estrategias a utilizar en protección vegetal.

Datos iniciales, especialmente en frutas, han involucrado a tres nuevas familias de proteínas de defensa, ubicuas y bien caracterizadas (5) en reacciones alérgicas: Quitinasas de clase I con un dominio heveína N-terminal son los alérgenos principales de plátano, aguacate o castaña, tres de los principales alimentos asociados al síndrome "latex-frutas" (11,12) (figura 1), LTPs (lipid transfer proteins) han sido caracterizadas como las proteínas con mayor capacidad de ligar IgE en frutas de la familia Rosaceae (manzana, melocotón, albaricoque...) (Figura 2) en el área mediterránea (13,14) y las Taumatinas (osmotinas) que han sido también detectadas como alérgenos de cereza y otros frutos (13,15). Además, varias enzimas como peroxidasa, cistein-proteasas, glucanasas o esterasa, potencialmente implicadas en protección vegetal, también han sido identificadas como alérgenos en harinas y frutas (15,16,17). Vamos a comentar los datos de las más estudiadas:

- 1) Homólogos de Bet v1 (proteínas PR-10): En áreas de abedules y árboles del orden Fagales (centro y norte de Europa) un alto nº de pacientes polénicos tienen IgE contra el alérgeno principal del polen de abedul (Bet v 1). Entre ellos, más del 50% tiene síntomas al comer manzana y otros frutos de las Rosaceas, el apio, la zanahoria y las especias, por la presencia de homólogos de Bet v 1 en los mismos. Estos homólogos son proteínas

lábiles, sensibles a tratamientos médicos y altamente degradables por las proteasas digestivas, por eso sólo suelen dar síndrome oral. A veces, en la soja, han causado anafilaxia. Se pueden manipular manzanas de forma transgénica con niveles de homólogos disminuidos.

- 2) Proteínas de transferencia de lípidos (LTP, proteínas PR-14): En áreas mediterráneas, sin fagales, la alergia a frutas rosáceas no está relacionada con la familia Bet v 1. Un 20% de pacientes presentan sensibilización a estos frutos sin polinosis asociada. Los alérgenos principales son LTPs, polipéptidos básicos de 9 KDa con alta similitud entre ellos (30-95% de identidad) y 4 puentes disulfuro. Su conformación es compacta y se acumulan fundamentalmente en los tejidos epidérmicos de hojas y frutos. lo que explica mayor alergenidad de la piel. Esto sirve como mecanismo de defensa y síntesis de polímeros lipofílicos (cutina, suberina). Además del PRu p 3 del melocotón y la Mal d 3 de la manzana, se han descrito LTPs en una (Vit v 1), naranja (Cit s 3, 126), en hortalizas (Asp o 1 en espárrago, Lac s 1 en lechua), frutos secos (Cor a 8 en la avellana, Cas s 8 en castaña), cereales (Zea m 14 en maíz y Tri a 14 en trigo.), látex (Hev b 12) y algunos pólenes: Art v 3 en la Artemisia vulgaris, Ole e 7 en el olivo, Par j 1 en la parietaria. Todas ellas son potentes alérgenos en alimentos por que tiene alta resistencia al calor y a ser degradadas por proteasas digestivas. por ello, mantienen su actividad en bebidas procesadas como zumos, vinos y cerveza. En 2º lugar se asocian con síntomas sistémicos graves provocando síntomas incluso en pacientes no polínicos, y en población mediterránea. Pueden sensibilizar por vía digestiva e inhalatoria. Mediante mutagénesis se podrían realizarse variantes hipoalérgicas.
- 3) Quitinasas y alérgenos con dominio heveína. Los alérgenos más importantes de látex son la proheveína (Heb b 6.02), una proteína antifúngica de 20 Kda. que se procesa generando la heveína (Heb b 6.02) que incluye la mayoría de epítomos de unión con la IgE. un 40-60% de alérgicos a látex presentan hipersensibilidad a aguacate, plátano, castaña y kiwi. Los alérgenos responsables de la reactividad cruzada son quitinasas de clase I. También se han descrito quitinasas de clase IV como alérgenos principales de la uva y algunos pólenes. Estas enzimas con PM de 32 KDa tiene alta identidad con la heveína del látex. Son las quitinasas completas, y no sólo los dominios heveína, los responsables de la alergenidad. La inactivación de algunas quitinasas de clase I por el calor explican por qué los frutos consumidos en fresco y no los cocinados son los más relacionados con el síndrome látex-frutas.
- 4) Taumatinas (proteínas PR-5): Son proteínas antifúngicas de 23 KDa con 8 puentes disulfuros, estructura estable y resistente a tratamientos térmicos. Se han identificado Mal d 2 en manzana, Pru av 2 en cereza, Act c 2

en kiwi, Cap a 1 en pimienta y en pólenes de arizónica y Juníperus. Se ha expresado Mal d 2 como recombinante en plantas transgénicas de *Nicotiana bentamiana*, usando vectores virales.

- 5) Proteasas y beta 1,3 glucanasas (proteínas PR-2): Están siendo estudiadas en la actualidad. La actinidina del Kiwi (At c 1) de 30 KDa, muy abundante en este fruto, la cucumisina del melón (Cuc c 1), serínproteasa de 66 KDa y sus alérgenos homólogos en calabaza y tomate. Son proteínas antifúngicas de 33-36 KDa y existen en el latex (Heb v 2) y en el polen de olivo (Ole e 9). También la ficina del trigo, papaína de la papaya y bromelina de la piña.
- 6) Otros alérgenos vegetales: Sólo se ha encontrado un miembro de la PR-1 asociadas a la alergia, el Cuc m 3 del melón, de 16 Kda, que tiene una secuencia similar al grupo 5 de venenos de insectos.
- 7) Inhibidores de cereales de alfa-amilasa heterólogas. Hemos dejado al final estas proteínas porque son las que más ha estudiado nuestro grupo y de las que tenemos mas información:

Desde 1989, en colaboración con la ETS de Ingenieros Agrónomos de Madrid, trabajamos en la identificación y purificación de alérgenos en harinas de cereales y productos derivados. Nuestros resultados, sugieren que las proteínas principales de los cereales son proteínas de defensa de los mismos y además panalérgenos. Dada su ubicuidad pueden tener una gran importancia en los cuadros alérgicos.

#### Caracterización y purificación de alérgenos de cereales:

Los trabajadores cerealistas (agricultores, molineros, empaquetadores de piensos) y los que trabajan en el ambiente panadero y confitero están sometidos a multitud de estímulos antigénicos (18-20). En nuestra zona de Castilla, en la mayoría de los casos trabajan en pequeñas factorías familiares o en silos y graneros con pésimas condiciones de aireación. Aunque conocen la utilidad de las medidas de protección personal, no las suelen usar por las molestias que provocan en un ambiente donde han de soportar grandes temperaturas y esfuerzos. En el caso de los mejorantes como la  $\alpha$ -amilasa se están utilizando cada vez más los preparados sólidos en vez de polvo, que provocan una menor dispersión de partículas. Pero en el caso de las harinas, esto no es posible. Debido a la gran prevalencia de este tipo de asma en nuestra región (el 25% de los pacientes expuestos padecen asma profesional), venimos intentando desde hace años aislar, purificar y evaluar la alergenidad de las diferentes proteínas de los cereales en la búsqueda de un posible control ambiental y terapéutico de esta enfermedad (21-34).

Debemos considerar que la harina es una mezcla compleja de alérgenos en la que entran a formar parte elementos vegetales: pólenes de cereales, proteínas del endospermo del grano, esporas y hongos, distintos aditivos como la  $\alpha$ -amilasa (18)

y alergenicos de artrópodos como parásitos del grano, cucarachas y ácaros (principalmente de almacenamiento) que son considerados a su vez potentes alergenicos (35,36). Recientemente, han sido descritos cuadros de asma por la ingesta de cereales contaminados por ácaros de almacenamiento (37) (figura 3). ¿Cómo identificar los alergenicos causantes de la clínica alérgica? ¿Qué alergenicos son importantes como inhalantes y cuales cómo trofoalergenicos?

Los granos de cereales incluyen el trigo, maiz, arroz, cebada, sorgo, avena, mijo y centeno. Todos estos granos, colectivamente, representan el 72% de las proteínas de la alimentación mundial.

El trigo, la cebada y el centeno son especies de gramíneas estrechamente relacionadas pertenecientes a la tribu Triticeae. En la composición de sus semillas intervienen diferentes clases de proteínas: las solubles en agua o albúminas, las globulinas, solubles en sal, las prolaminas, solubles en alcohol y agua y las insolubles gluteninas (17-20). Las proteínas solubles constituyen el 25% de las proteínas de las semillas y numerosos estudios han confirmado su importancia en las respuestas mediadas por IgE, tanto por su papel en la dermatitis atópica (19) como en la sensibilización inhalatoria (21-28). Esta última, conocida globalmente como enfermedad del panadero, además de su gravedad y difícil tratamiento cuando el paciente no puede evitar su inhalación, es una enfermedad que ocasiona importantes problemas legales y económicos (27).

Las técnicas electroforéticas para aislamiento de proteínas son superiores a otros métodos como la cromatografía porque tienen más resolución y son capaces de resolver la compleja composición proteica de la harina en orden a caracterizar sus posibles alergenicos (18). Posch y cols. (9) y Weiss y cols. (10), utilizando electroforesis bidimensional de alta resolución en combinación con análisis de proteínas detectaron alrededor de 700 proteínas solubles en trigo, de las cuales 70 detectaban IgE, sobre todo las localizadas en las áreas de 14-18, 27, 37, 55 y 70 Kda. Mediante secuenciación de aminoácidos encontraron homologías en proteasas inhibitorias de  $\alpha$ -amilasa (14-18 Kda), acil-CoA oxidasa (26 Kda) y fructosa-bifosfato aldolasa (37 Kda) de trigo, maiz y cebada. Sin embargo estos interesantes estudios no aclaran totalmente que proteínas pueden ser clínicamente relevantes. Por ello intentamos aislarlas para una vez purificadas y aisladas en extractos diagnósticos pudieramos comprobar su reactividad "in vivo" mediante técnicas de diagnóstico alergológico (prueba cutánea y provocación) (tabla 5). También pusimos especial atención a la potencial relación entre las proteínas de defensa presentes en las semillas los posibles alergenicos que pudieramos identificar. En este punto queremos aclarar que era la primera vez que se utilizaban alergenicos purificados "in vitro" de cereales para el diagnóstico alergológico "in vivo".

Para ello, comenzamos con la purificación "in vitro" de alergenicos. Primero utilizamos un pool de 35 sueros procedentes de pacientes con asma del panadero, con RAST clase 4 a harina de trigo y cebada, y aplicamos técnicas de cromatografía de

filtración molecular, afinidad, intercambio iónico (HPLC y FPLC), electroforesis preparativa, digestiones enzimáticas parciales y aislamiento de péptidos, inmunodetección e inmunoinhibición. Nuestros primeros resultados nos permitieron constatar que los alérgenos más reactivos eran proteínas solubles en sal, de 12-15Kda, pertenecientes a una única familia que incluye varios inhibidores de  $\alpha$ -amilasas heterólogos, con un alto grado de presencia en los cereales y con una potencial participación en los mecanismos de defensa de los mismos contra las plagas de almacén que los infestan (30). Así, el alérgeno mayor de la cebada era capaz de inhibir la  $\alpha$ -amilasa del *Tenebrio molitor*, parásito habitual de este cereal (22). Muchos miembros de esta familia inhibidora fueron reconocidos por la IgE específica de nuestros pacientes, sin embargo tenían muy diferente capacidad alérgica.

Recientemente hemos demostrado que los glicanos complejos de ciertos invertebrados y plantas tienen epitopos similares (25). De esta forma los anticuerpos IgE de nuestros panaderos eran capaces de reconocer glicoproteínas de coleópteros, leguminosas, y curiosamente de veneno de abeja (figura 4). Esto podría explicar el curioso hallazgo de casos de anafilaxia tras la primera picadura de estos himenópteros, sin periodo previo de latencia o sensibilización. En el mismo contexto, la  $\alpha$ -amilasa de *Aspergillus oryzae* Asp o 2, potente alérgeno de la harina, es también una glicoproteína. Otra glicoproteína del endospermo del grano, aislado, purificada y probada in vivo por nuestro grupo ha sido la peroxidasa (26), menos potente que la peroxidasa del rábano y capaz de reconocer IgE de asmáticos por sensibilización a polen de olivo, cuyo alérgeno principal Ole e 1 es también glicoproteico.

En resumen, estos resultados indican que ciertos azúcares unidos a proteínas de plantas e insectos pero no de mamíferos, son responsables de su alérgenicidad. Es importante también recordar que los granos de polen interactúan con las células alveolares a través de glicoproteínas de 7 Kda presentes en el surfactante. Así, los pólenes u otras partículas como microorganismos portadores de glicoproteínas pueden interactuar con las células vía c1q receptor en presencia de surfactante (38)

Sin embargo, no podemos generalizar pensando que todas las proteínas con poder alérgico por vía inhalatoria son glicoproteínas solubles (39). Recientes estudios de Sandiford y cols. (28) han mostrado que las personas sensibilizadas a proteínas solubles de trigo son capaces de producir IgE específica también a las proteínas insolubles. Sus experiencias, con western blotting, han llevado a la conclusión que las gliadinas y gluteninas con similar peso molecular que los inhibidores enzimáticos endógenos son también alérgenos importantes (al parecer, por compartir epitopos interreactivos con estas proteínas solubles), por lo que podrían también producir asma. Estos resultados sugieren que el número de alérgenos involucrados en el desarrollo de hipersensibilidad a cereales es mayor que el que previamente se pensaba. De todas formas, las albúminas y globulinas del grano de cereal parecen ser las proteínas más importantes cuando se desencadenan reacciones de hipersensibilidad inmediata (18,21).

Diferentes investigadores han confirmado la presencia de IgE específica a albúminas y globulinas en el suero de niños con alergia alimentaria a cereales y con asma del panadero, pero no en los pacientes con celiaca (40). Sin embargo, mientras que la sensibilización inhalatoria a harina de cereales es una de las formas de alergia ocupacional más estudiada, existen pocos estudios sobre los alérgenos específicos responsables de reacciones alérgicas tras la ingesta de estas proteínas (37).

Las reacciones después de la ingestión suelen estar asociadas al ejercicio o a una dermatitis atópica (193, 201, 202). Las prolaminas y un péptido generado durante el proceso digestivo (203) son los alérgenos más importantes. Los inhibidores han sido implicados en alergia alimentaria en menor medida, sobre todo la subunidad WTAI-CM3 (201, 204). La v-5-gliadina es la responsable de la anafilaxia por ejercicio. En niños con alergia a la leche y dermatitis atópica la prevalencia de alergia los cereales es del 73%. El más sensibilizante es la avena por vía tópica.

Se han identificado hasta 10 componentes agrupados en 4 subfamilias de inhibidores en el arroz. La prevalencia de alergia a la harina de arroz sólo es alta en orientales. Se ha descrito una LTP capaz de dar sintomatología por vía inhalada pero no parece ser responsable de alergia por ingesta. Las leguminas y globulinas "S" son importantes en la alergia a la harina de alforfón.

Hemos podido comprobar que pacientes con síntomas alérgicos tras la ingesta de Coca-Cola y Cola-Cao pueden estar sensibilizados a cereales, principalmente a proteínas de centeno en los casos de asma y a cebada en los de anafilaxia (41).

Tras la caracterización, aislamiento y purificación de los inhibidores de  $\alpha$ -amilasa del trigo que originan la enfermedad del panadero, nuestro análisis del papel alergénico de proteínas de determinados alimentos (Coca-Cola, Cola-Cao y ciertos cafés solubles malteados) en alérgicos a cereales por vía digestiva nos ha llevado a mostrar su utilidad en el diagnóstico de alergia encubierta a cereales. Experimentos recientes utilizando sueros de pacientes con alergia a cereal con diferentes edades y vías de sensibilización (digestiva o inhalatoria) han concluido en que una misma proteína puede ser reactiva por ambas vías de sensibilización (42). En resumen, creemos que el estudio de la alergenidad de las proteínas de cereales puede ser muy útil no sólo para los pacientes alérgicos a cereales. Es importante para los profesionales panaderos y pasteleros, ya que el uso de mejorantes dependerá de si la harina proviene de trigo "germinado", o recolectado tras tormentas de verano, o de trigo parasitado, cuyo almidón ha sido deteriorado por las  $\alpha$ -amilasas de los parásitos, para añadir  $\alpha$ -amilasas fúngicas u otro tipo de mejorantes. Otros potenciales beneficiarios de estos hallazgos, además de los alergólogos son los bioquímicos, inmunólogos, biotecnólogos de plantas y agricultores. Se estima que 70.000 especies de parásitos causan unas pérdidas mundiales de 500 billones de dólares al año (43-45). Las especies transgénicas han resultado útiles en aumentar la producción agrícola y reducir el uso de pesticidas y fertilizantes, con la consiguiente disminución de sus efectos nocivos sobre la salud (tóxicos y esterilizantes). Sin

embargo, ante esta manipulación genética las plantas están respondiendo con un aumento de proteínas de defensa cuyas repercusiones sanitarias están aún por descubrir. Así, la relación antes mencionada entre alérgenos vegetales y proteínas de defensa debe sustentarse con un extenso trabajo en los próximos años, pero los datos ya disponibles permiten vislumbrar sus aplicaciones:

1. La purificación y aislamiento óptimos de los panalérgenos principales de defensa para su utilización en tests *in vivo* e *in vitro* puede ser de gran importancia en el diagnóstico de las enfermedades alérgicas.
2. El conocimiento de estas proteínas y su actividad biológica en el ser humano podrían ser base de la manipulación genética de las plantas para cultivos de especies menos alérgicas y también más resistentes a plagas.
3. La sensibilización cruzada de pacientes alérgicos a diferentes alimentos y/o pólenes, puede explicar el aumento de incidencia de fenómenos alérgicos. Por otra parte se debe señalar en posible peligro clínico de plantas transgénicas que sobreexpresen proteínas de defensa alérgicas (p.e. para obtener resistencias a hongos o parásitos). Este riesgo sería mínimo utilizando proteínas de defensa no alérgicas (en el caso del síndrome latex-frutas, expresando quitinasas de clase II, no alérgicas y sí antifúngicas).
4. La disminución de la alergenicidad de las plantas mediante manipulación genética podría lograr la síntesis de fármacos menos sensibilizantes, lo cual constituye una seria limitación de la biotecnología con plantas en la actualidad.
5. Estudios de localización "*in situ*" pueden indicar en que partes de un alimento (piel, pulpa, cubierta o endospermo de semillas), se acumula preferentemente un alérgeno.
6. La disponibilidad de clones y estructuras terciarias de algunas de las proteínas de defensa mencionadas (LTPs, quitinasas) o en nuestro caso, inhibidores de  $\alpha$ -amilasas, puede facilitar tanto la obtención de alérgenos recombinantes, como su manipulación por mutagénesis dirigida para producir proteínas hipoalérgicas.
7. Por último, las propiedades alérgicas de las familias de proteínas de defensa deben considerarse en la obtención de plantas transgénicas utilizando los correspondientes genes encaminadas a obtener un aumento en la resistencia a determinadas plantas o patógenos. De no ser así podemos aumentar la prevalencia de esta importante patología.

## **PECULIARIDADES CLÍNICAS DE LA ALERGIA A ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL**

### **Alergia a las frutas**

Las frutas frescas están implicadas en el 30% de los casos de alergia alimentaria. Es la causa más frecuente de alergia a partir de los 5 años. Puede estar modulada por el área geográfica (en Canarias donde es muy prevalente es superada por la alergia a crustáceos) y por los pólenes presentes en un área dada. Los alérgenos implicados pertenecen a las proteínas de defensa y profilinas. Son muy ubicuas y presentes en diversos tejidos vegetales (polen, hojas, tallo, raíces, semillas y frutos).

El SAO se obsesa a menudo en pacientes polínicos con sensibilización a alérgenos hábiles de frutas como los homólogos de Bet v1 y profilinas. Si no son polínicos pueden responder a LTPs, aunque éstas suelen ocasionar reacciones sistémicas y se encuentran sobre todo en la piel.

### **Alergia a frutos secos:**

Es la primera causa de alergia en adultos y está aumentando. En los países anglosajones la primera causa es el cacahuete y en Europa la avellana. Se asocia a la sensibilización a frutas rosáceas. Puede aparecer tolerancia en un 9% de los afectos. Sus alérgenos son resistentes al calor y digestión. Son vicilinas, leguminas y albúminas. Se ha asociado la sensibilización polen de artemisa con avellana y parietaria con pistacho. Las semillas de calabaza utilizadas como cebo de pesca pueden causar asma por inhalación. El anacardo puede dar eccema de contacto. Es frecuente el SAO y la anafilaxia.

### **Alergia a semillas**

Se usan como alimento, condimento y fabricación de aceites y harinas. También en la industria cosmética y farmacéutica. Son frecuentes las reacciones a mostaza (más en franceses), sésamo (en Israel) y aumenta a lino., usado como laxante. Los alérgenos principales son albúminas que se denominan proteínas semejantes a la napina, albúmina del nabo. Pertenecen a la superfamilia de las prolaminas y son resistentes y estables. Los pacientes alérgicos a la mostaza lo están con frecuencia a otros alimentos de la familia brassicae. Hay relación entre la mostaza y los pólenes de artemisia y ambrosía. Pueden provocar SAO y anafilaxia.

### **Alergia a hortalizas**

Las hortalizas son toda planta comestible que se cultiva en las huertas. Las verduras son las hortalizas de hojas verdes. Se puede comer el tallo (espárragos, apio, acelga, palmito), la raíz (zanahoria, remolacha, nabo, chirivía, el rábano), las hojas como los berros, espinacas, bulbos, ajo, cebolla, puerro, chalota), tubérculos

(patata, batata, yuca), fruta (tomate, berenjena, pimiento) y flores como el brécol, la alcachofa y la coliflor.

Hay asociaciones apio-artemisia-zanahoría y al látex como es el caso de la patata y tomate. Se han implicado homólogos de la Bet v 1 (PR-10) en la alergia al apio y zanahoria, LTP en la alergia al espárrago, lechuga y tomate y profilinas en la alergia a zanahoria apio, pimiento y tomate. El Api 5, un alérgeno glucosilado del apio se ha utilizado para demostrar que los determinantes hidrocarbonatos son capaces de producir activación de células efectoras. Todas suelen dar sintomatología inmediata con SAO (apio y zanahoria en pacientes alérgicos a polen de abedul). Si la sensibilización es al polen de ambrosía, dan anafilaxias.

### Alergia a las legumbres

Pertenecen al orden botánico Fabales y las mas consumidas son la lenteja, garbanzo, judía, guisante, soja, cacahuete, almorta, haba y lupino. La sensibilización es mas frecuente en países anglosajones. En USA un 0.5% de la población general es alérgica al cacahuete. En niños con dermatitis atópica hay alergia a la soja en el 4,4% de los casos. En España las legumbres son la quinta causa de alergia alimentaria.

Hay reacciones no alérgicas a las legumbres crudas, porque contienen tóxicos como filatos, taninos, saponinas y lecitinas, que desaparecen tras la cocción. La almorta causa latirismo. En pacientes con déficit de 6 fosfato deshidrogenasa se produce anemia hemolítica tras tomar habas.

La alergia por ingesta suele causar síntomas cutáneos, SAO, angioedema. Pueden causar asma por sus proteínas y por sus parásitos. Pede producirse una enterocolitis hemorrágica en lactantes alimentados con leche de soja.

## ALÉRGENOS DE ORIGEN ANIMAL Y PECULIARIDADES CLÍNICAS

### Alergenos de la leche

La leche de vaca contiene 30-35 g de proteína por litro, que se pueden dividir en caseínas (80%) y proteínas del suero (20%) Los que mas frecuentemente inducen respuestas mediadas por IgE son la caseína (Bos d 8) y beta-lactoglobulina (BLG, Bos d5), no presente en la leche de mujer,seguidas de alfa-lactoalbúmina (ALA, Bos d4). El 75% de los pacientes sensibilizados a la leche lo están a más de un alérgeno.

La BLG (figura 1) pertenece a una familia de proteínas altamente alergénicas, las lipocalinas, y es ligadora de retinol. Es termolábil, resistente a la hidrólisis ácida y a la digestión por proteasas lo que permite su absorción y detección por el sistema inmune. Puede sensibilizar a través de la leche materna. La ALA es una proteína monomérica con 4 puentes disulfuro con unión de alta afinidad por el calcio, es un

regulador enzimático en la síntesis de lactosa. Las caseínas (4) son termoestables cuya sensibilización da lugar a persistencia de la respuesta alérgica. En estos niños es posible las reacciones al comer carne de ternera poco hecha, pues son sensibles a la seroalbúmina bovina (BSA, Bos d6), que es termolábil. Las leches de cabra, oveja y yegua tienen reactividad cruzada con la de vaca con similitud > 80%.

#### Peculiaridades clínicas de la alergia a leche de vaca

La leche de mujer es el alimento específico del lactante. La leche de vaca tiene una composición proteica diferente: 80% de caseína y 20% de proteínas séricas frente a un 40% de caseína y 60% de séricas en la leche de mujer. Además, la leche de vaca contiene betalactoglobulina (BLG) que está ausente en la de mujer y por eso es causa frecuente de reacciones alérgicas. Las fórmulas adaptadas aumentan las proteínas séricas al 60% y disminuyen las caseínas al 40%. Por ello, la BLG está sobrerrepresentada en las fórmulas infantiles y esto causa problemas de tolerancia inmunológica.

El 15% de los lactantes tienen síntomas sugestivos de alergia a la leche, pero la prevalencia real es del 2-3% de lactantes. Es excepcional en adultos. Los factores de riesgo son la atopia familiar y la administración intermitente de PLV durante la lactancia natural en las primeras semanas. En el calostro materno hay inmunomoduladores como el TGF- $\beta$ 1, que puede estar disminuido en madres de niños con alergia a PLV. Los síntomas de la alergia mediada por IgE pueden aparecer en la primera toma. Pueden ser leves, cutáneas hasta la anafilaxia. A veces sólo hay irritabilidad y rechazo de las tomas. Si la alergia persiste a los 4 años, los síntomas son más graves. La aparición de tolerancia se relaciona con un descenso de IgE específica a BLG y caseína. Ocurre en el 60% de los niños a los 2 años.

La alergia no mediada por IgE se basa en clínica compatible y se apoya en datos endoscópicos y anatomopatológicos.

La Colitis hemorrágica, proctocolitis, colitis alérgica o eosinófila o proctitis benigna: Aparece en el 1º año de vida, en el primer semestre. Son niños con buen estado general con heces mezcladas con sangre roja. No causa anemia. El cuadro remite espontáneamente a los 12 meses. No se asocia con IgE elevada.

La enterocolitis por leche de vaca causa vómitos a la hora de la toma, afectación del estado general, quejido, distensión abdominal, hipotensión y aspecto séptico. No hay IgE específica. La anatomía patológica es inespecífica con atrofia de vellosidades y descenso de TGFB1 en las biopsias de mucosa duodenal.

La esofagitis y gastroenteritis eosinofílica ocurre en cualquier edad, están aumentando mucho y afecta con un infiltrado eosinófilo al esófago, estómago e intestino delgado. Causa reflujo, vómitos, abdominalgia, atragantamiento. El diagnóstico lo da la mejoría tras dieta de exclusión.

El cólico del lactante aparece en el primer trimestre de vida y causa llanto inexplicable y meteorismo. Son patológicos si persisten mas de 3 h/día mas de 3 d/semana durante mas de 3 semanas, mejoran con hidrolizados de leche.

El síndrome de Heiner cursa con hemosiderosis pulmonar primaria, tos, infiltrados, anemia, pérdida ponderal y presencia en suero de precipitinas frente a PLV.

#### Alérgenos del huevo:

La clara de huevo es una solución proteica compuesta de un 9-11% de proteína y un 87-89% de agua. Su aspecto gelatinoso se debe a la ovomucina, una proteína con un 30% de carbohidratos. La yema tiene un 50% de agua, un 34% de lípidos y 16% de proteínas (lipovitelinas, fosvitina y lipoproteínas de baja densidad.) La clara es más alérgica que la yema. El alérgeno mas importante es el ovomucoide (Gal d1) seguido de la ovoalbúmina (OVA, Gal d 2) y la conalbúmina (Gal d 3). La Ova es la más abundante en la clara. El ovomucoide es un inhibidor de proteasas y es marcador de la persistencia clínica de alergia. El principal alérgeno de la yema es la alfa-livetina o albúmina (Gal d 5) implicada en el síndrome ave-huevo. Consiste en la asociación de alergia al huevo y la aparición de síntomas respiratorios tras inhalación de antígenos de aves. Este síndrome afecta principalmente aadultos, al contrario que la monosensibilización a huevo que afecta fundamentalmente a niños. El alérgeno responsable es la livetinade layema de huevo, homóloga de la albúmina sérica de pollo. Es preciso en personas con gran respuesta alérgica a proteínas de huevo, avisar de posibles fuentes ocultas: caramelos, sopas. Incluso hemos podido encontrar proteínas de huevo en edificios históricos y pinturas, que pueden ser aerosolizadas durante su restauración y limpieza (49).

#### Peculiaridades clínicas de la alergia al huevo:

Los síntomas típicos por ingesta o contacto con huevo son fundamentalmente cutáneos (98%). Hay síntomas digestivos en un 60% y respiratorios en un 40%. Un 36% de los pacientes que consultan por alergia a leche de vaca tienen sensibilización a huevo sin haber sufrido aún clínica y se debe hacer provocación. El tiempo de reacción suele ser inferior a una hora. La evolución natural es a la tolerancia a los 30 meses de la primera reacción. Existe reactividad cruzada entre todas las carnes de aves. Se ha descrito intoxicación por ingesta de carne de codorniz por que toman semillas de cicuta.

#### Reactividad cruzada entre pescados

El pescado que más se ha investigado es el bacalao cuyo alérgeno mayor es parvaalbúmina, que resiste a la cocción y digestión. La parvalbúmina es responsable de la reactividad cruzada entre diversas especies de peces y puede ser considerada un panalérgeno (47). De todas formas los pacientes no presentan síntomas con

todo tipo de pescado. Los más frecuentes causantes de hipersensibilidad son los gádidos (bacalao y afines), merlúcidos (merluza y pescadilla) y peces planos: lenguadina gallo y lenguado.

### Alérgenos del pescado

Los alérgenos mayoritarios del pescado son parvalbúminas, proteínas musculares. El Gad c1 del bacalao (*gadus callarias*) es termoestable y resistente a la proteólisis y puede ser vehiculizada en vapores produciendo síntomas digestivos y respiratorios. Aunque existe reactividad cruzada, la alergenicidad puede variar de unas especies a otras. El atún, la caballa y el emperador tienen menor alergenicidad. Existen parvalbúminas en anfibios. La proteína recombinante de la carpa (rCyp c 1) contienen la mayoría de los epítomos del bacalao, atún y salmón, y puede ser útil con fines diagnósticos. Se han descrito reacciones selectivas a una sola especie de pescado por lo que puede haber alérgenos específicos de especie.

### Peculiaridades clínicas de la alergia a pescados

La clínica puede aparecer en los dos primeros años de vida. Los antígenos pueden pasar por la leche materna. En adultos la favorece la exposición laboral. Lo más frecuente es el angioedema y urticaria seguido de síntomas digestivos y respiratorios. El ambiente con pescado puede causar asma. A veces se une a la ingesta de alcohol, AINES o ejercicio. Hay alérgicos a pescado que podrían tolerar atún de lata.

La enterocolitis por pescado cursa con vómitos e hipotensión, sin demostración de IgE. Es muy rara la enteropatía por proteínas. Y se diagnostica por biopsia yeyunal. Hay que diferenciar estos cuadros de las ictiosarcotoxemias por toxinas producidas por microbios o algas que contaminan el pescado (ciguatoxinas y clueto-xinas) o por toxinas endógenas del pescado como la tetrodotoxina y la ciclostomotoxinas. Las reacciones más frecuentes son la escombroidosis por pescado con alto contenido en histamina (atún y caballa) y la ciguatera por pescado contaminado por la toxina fotosintética del dinoflagelado *Gambierdiscus toxicus* que es neurotóxica y produce síntomas neurológicos, náuseas y diarreas a las 5 horas de la ingesta. El que más lo causa es la barracuda seguido del pargo, mero, corvina y pescados tropicales. El fugismo se debe a la neurotoxina del pez globo.

### Alérgenos de mariscos y moluscos

La alergia a mariscos es más frecuente entre los adultos que en la población infantil. La gamba es el mejor estudiado. Su alérgeno mayoritario es una tropomiosina muscular termoestable (Pen a 1), que constituye el 20% de las proteínas solubles de la gamba, muy abundante en el líquido de cocción de estos mariscos. Puede ser vehiculizada en los vapores de cocción y causar síntomas por inhalación.

Sólo son alergénicas las tropomiosinas de los invertebrados. Se han identificado en langosta, bogavante, cangrejo, en moluscos (ostra, caracol, mejillón, oreja de mar, calamares), ácaros y cucarachas (Per a 7, Bla g) y es un panalergeno.

Se ha identificado un alérgeno minoritario en la gamba de 40 KDa con actividad arginina (pen m2).

#### Particularidades clínicas de la alergia a mariscos

Suele comenzar la 1ª o 2ª década de la vida. En ocasiones es necesaria la suma de ejercicio, AINES o alcohol. Los síntomas cutáneos son los más frecuentes. La persistencia de la enfermedad es larga. Se deben de diferenciar las intoxicaciones por las dinoflagelados en moluscos recolectados durante mareas rojas y otros parásitos de los moluscos.

#### Alergia a ácaros y mariscos

Desde hace años se ha descrito la asociación clínica entre alergia a ácaros, mariscos (crustáceos y moluscos), cefalópodos y otros artrópodos como insectos (46). Una vez aislados u caracterizados los alergenos mayores de varias especies de gambas se observó que contenían como residuos aminoácidos predominantes glutamato/glutamina y aspartato/asparagina. Comparando estos alergenos con la tropomiosina de *Drosophila melanogaster* se observó un 86% de homología y se confirmó que los alergenos mayores de la gamba eran de hecho tropomiosina que tiene diferentes grados de homología con las tropomiosinas de cucaracha, ácaros crustáceos, moluscos y calamar (46). La tropomiosina de ácaros, Der p 10, tiene una homología del 75% con la de otros artrópodos, mas de 65% con la de oros invertebrados y sólo el 60% con la de mamíferos. Un 5.6% de los pacientes alérgicos a ácaros tienen IgE específica para Der p10 y tropomiosina de la gamba. La tropomiosina de los ácaros es un alérgeno menor, por lo que sólo los alérgicos a ácaros que tengan IgE específica para tropomiosina serían alérgicos a gamba. La tropomiosina es el alérgeno responsable de la reactividad cruzada entre ácaros, gamba, crustáceos (cangrejos de mar y de río), moluscos (ostras, vieiras...) e insectos (cucarachas, chironómidos y otros mosquitos) (47). En pacientes alérgicos a ácaros se han descrito cuadros de anafilaxia o asma tras la ingesta de caracoles, no causada por la tropomiosina. También se ha descrito reactividad cruzada con la larva de *Anisakis simplex*, la cucaracha y la gamba en poblaciones infantiles sin parasitación por el nematodo por lo que se ha especulado que podría ser debida a la tropomiosina. Pacientes muy sensibles a ácaros pueden tener síntomas si comen alimentos con alto grado de contaminación por los mismos. Hemos podido encontrar ácaros contaminantes del jamón, chorizo, queso ajos y pimentón (48).

### Anisakis y reactividad cruzada

El *Anisakis simplex*, Nematodo parásito de grandes peces y mamíferos marinos, posee un alérgeno de 45 Kda que se une a la IgE de todos los pacientes alérgicos a *Anisakis* y parece ser el alérgeno principal. Existe reactividad cruzada entre *Anisakis* y otros parásitos como *Ascaris lumbricoides*, *Toxocara canis* y *Echinococcus granulosus*. También se ha relacionado con cucaracha y quironómidos pero la reactividad cruzada es parcial. Recientemente hemos podido demostrar reactividad cruzada del *Anisakis* con parásitos del grano: *Ephestia* y *Eurygaster* (50). Por otro lado, hemos podido demostrar casos de asma debido a la inhalación de piensos de pescado contaminados con *Anisakis* y pacientes alérgico a *Anisakis* que sufrieron síntomas al comer pollo cebado con estos piensos (51).

### Alérgenos de las carnes

La alergia a las carnes es poco frecuente y la mejor estudiada es la alergia a la carne de ternera. Los principales son la BSA (Bos d 6) y la gammaglobulina bovina (es la IgG Bos d 7), presentes también en la leche de vaca. Son termolábiles, y los pacientes pueden tolerar la carne muy bien cocinada. El 13% de alérgicos a la leche tienen sensibilización a la ternera. Otros alérgenos son la actina, la mioglobina, termorresistentes e implicados en los casos de pacientes adultos que no toleran la carne muy hecha. Las tropomiosinas de la carne de aves y mamíferos no son alérgicas. Hay reactividad cruzada entre las albúminas séricas y las gammaglobulinas de diferentes especies animales. También es posible la sensibilización inhalatoria o cutánea al estar presentes en epitelios, descamaciones, saliva, orina y otros fluidos de animales, y aparecer reacciones tras tomar carne poco cocinada. Síndrome gato-cerdo, semen-perro.

Otros alérgenos de las carnes son las gelatinas que pueden dar anafilaxias por estar contenidas en vacunas víricas: la gelatina bovina se usa como estabilizador. Puede haber reacciones a la papaina utilizada como ablandador. También puede haber reacción a carnes de animales tratados con Penicilinas en personas sensibilizadas.

No hay que olvidar que existe alergia a las carnes no mediada por IgE que causan síntomas de vómitos, diarrea, retraso estatural acidosis y choque. Parece estar involucrado el factor de necrosis tumoral.

### Síndrome gato-carne de cerdo

El 35% de los pacientes sensibilizados a epitelio de gato están también sensibilizados a seroalbúmina del animal y reconocen las albúminas séricas de otros mamíferos como gato, pollo, ratón, cordero, conejo y rata.

Algunos pacientes sensibilizados a este alérgeno tienen síntomas al consumir carne de cerdo (46). Se han encontrado pacientes con gastroenteritis eosinofílica por

carne de cerdo, vaca y cordero. Pueden causar también dermatitis proteínica. La carne de cordero es la menos alergénica pero se han descrito casos de anafilaxia por su sangre. Existe además reactividad cruzada parcial entre caballo y hámster

### **OTROS POSIBLES PANALERGENOS DE ORIGEN ANIMAL**

En el reino animal existen enzimas como las hidrolasas, fosfolipasas, lisozi-mas, amilasas, hialuronidasas, cisteín proteasas y serín proteasas que han sido des-critas como alérgenos mayores en himenópteros, ácaros y huevo. Algunas de estas moléculas tienen capacidad para alterar la cohesión de la barrera epitelial o inactivar moléculas de protección natural (16).

Del mismo concepto de reactividad cruzada se desprende que ésta será posible cuando el alérgeno posea una secuencia de aminoácidos muy parecida en diferentes fuentes alérgicas en que se encuentre. Esta similitud puede aparecer entre proteí-nas que ejercen la misma función biológica: Hemos visto como todos los alérgenos con posibilidad de ser panalérgenos y producir reactividad cruzada son en realidad moléculas con una función necesaria para la vida: así las profilinas en el síndrome polen-frutas son enzimas necesarias para la fertilización, las quitinasas de clase I responsables del síndrome látex-frutas y los inhibidores de amilasas de cereales son proteínas de defensa, la tropomiosina de mariscos, moluscos y otros artrópodos son proteínas necesarias para la movilidad muscular... Ello se traduce en el hecho de que la molécula panalérgica debe poseer una estructura sumamente conservada a lo largo de las diversas especies, por lo que si la proteína es alérgica, la reactivi-dad cruzada debida a ella será altamente probable.

La red de panalérgenos es aún muy poco conocida. La existencia de un perfil característico de sensibilización a ciertos panalérgenos en cada paciente, con la posibilidad de predecir de algún modo su mapa de sensibilizaciones futuras, puede ser una hipótesis con visos de realidad, conforme avancen nuevos conocimientos.

### **ALERGENOS OCULTOS Y TRAZABILIDAD DE ALÉRGENOS POR LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**

En EEUU hay 200 muertes anuales por alérgenos ocultos. La sensibilización puede producirse por ingesta, inhalación y contacto con el alimento y no se puede prevenir al estar el alérgeno enmascarado en distintos alimentos procesados.

Etiquetado de potenciales fuentes alérgicas. La mayoría de reacciones se provocarán por 8 grupos de alimentos; leche, huevo, pescado y marisco, legumbres, frutos secos, harinas y frutas. Sus alérgenos se encuentran en la industria alimentaria y en otras como la cosmética. Anteriormente, el huevo era referido como lobulina, lecitina, coagulane, vitelina, livetina, lo que hacía muy difícil su evitación. Actual-

mente se exige el listado claro (huevo), actualizado, con limitaciones en cuanto a la flexibilidad del etiquetado y las excepciones.

Los umbrales de contenido de sustancias potencialmente alergénicas son muy delicados de precisar. A esto se une que en las industrias se elaboran múltiples productos y puede existir riesgo de contaminación (chocolate con frutos secos). Las metodologías analíticas en desarrollo se basan en inmunoensayos específicos o técnicas de PCR y deben ser capaces de detectar cantidades de 1 mg/kg.

Efecto de la tecnología alimentaria en la alergenicidad de los alimentos

Los alérgenos se definen por su capacidad de unir IgE e inducir la reacción alérgica y deben presentar epítomos IgE, definidos como un conjunto de aminoácidos próximos espacialmente. Si los aa van continuos se llamará epítomo secuencias y si no son consecutivos y solo entran en contacto por el plegamiento serán conformacionales, más hábiles. El procesado de alimentos puede dar origen a nuevos epítomos que no estaban presentes en el alimento nativo.

Composición alergénica y perfiles de sensibilización

Cada alimento puede contener varios alérgenos (PR-10, albúminas, LTPs.) y dar un perfil clínico diferenciado. Cada paciente puede presentar un perfil de reconocimiento único tanto en diversidad de antígenos reconocidos, nivel de IgE específica, afinidad de la interacción y manifestación clínica. Por ello es necesario mejorar los métodos para saber el perfil molecular reconocido por cada paciente. Dependiendo del área geográfica puede variar el perfil de reconocimiento de alérgenos para un mismo alimento.

Estabilidad frente a tratamientos térmicos y enzimas hidrolíticas de los alérgenos de los alimentos

El calentamiento por vía húmeda produce desnaturalización, agregación y precipitación de la mayor parte de sus componentes proteicos. Los alérgenos hábiles con epítomos conformacionales serán los más afectados. Las albúminas de origen animal, las profilinas, las proteínas homólogas de Bet v1, la beta.lactoglobulina de la leche y las quitinasas de frutas perderán casi toda su alergenicidad durante la cocción. Por el contrario, otros alérgenos se mantienen intactos y hasta aumentan su alergenicidad (LTPs de vegetales, vicilinas de las legumbres, albúminas 2S de las semillas, parvalbúminas de pescados y tropomiosinas de los mariscos). Al cocer algunas leguminosas aparecen nuevas estructuras alergénicas.

El tratamiento por calor seco se produce tanto reacciones de Maillard o conjugación de grupos carbonilo de azúcares con grupos amino de las proteínas como la oxidación de los polifenoles. Esto produce una reducción de la alergenicidad pero pueden aparecer fragmentos de proteína de reserva.

## Modificaciones en los niveles y estructura de los alérgenos por procesos de la industria agroalimentaria

Muchos alimentos frescos de origen vegetal son tratados con hormonas, como etileno, para inducir su maduración. Este tipo de tratamientos causa aumento de determinados alérgenos como quitinasas. La fermentación reduce la alergenicidad de los productos lácteos. Las LTPs del vino y la proteína Z de la cerveza resisten la fermentación alcohólica. La digestión enzimática o la hidrólisis química se utiliza con la soja, harinas de pescado, caseínas y en general reducen la alergenicidad.

### Alimentos transgénicos y alergia

La selección de especies vegetales mejoradas conlleva un aumento de su expresión de proteínas de defensa. Las técnicas de ingeniería genética pretenden expresar o silenciar ciertos genes para obtener especies más rentables. En la soja transgénica se introdujo un gen que codifica la expresión de la proteína 2S de la nuez de Brasil, lo que mejoraba el contenido en metionina de la soja, pero aumentaba su alergenicidad. Actualmente hay un protocolo para la evaluación de la OMS de nuevos alimentos transgénicos basado en estudios alergológicos *in vivo* e *in vitro*.

Las técnicas de ingeniería genética pueden utilizarse también para silenciar, alterar o eliminar genes que expresen alérgenos produciendo variedades hipoalergénicas. Se ha realizado con la manzana con bajo contenido en Mal d 1 utilizando un ARN anti-sentido.

## PREVENCIÓN DE LA ALERGIA ALIMENTARIA

Las medidas de prevención de la alergia alimentaria pueden enfocarse de dos maneras: 1. Prevención pasiva: Evitar los epitopos sensibilizantes. 2. Prevención activa: Inducción de tolerancia oral.

Estas medidas están actualmente dirigidas hacia la prevención pasiva, recomendando la lactancia materna durante el mayor tiempo posible y retrasando la introducción de alimentos alérgicos. La atención se ha dirigido sobre todo a la leche de vaca, por su frecuencia, por ser el primer alimento extraño a su especie que ingiere el lactante y por que se han desarrollado fórmulas especiales que promueven y promocionan la realización de múltiples estudios. Evitar los alimentos más alérgicos como el huevo la leche y el pescado en la madre durante el embarazo y en el lactante durante el primer año de vida no ha demostrado tener utilidad y no previene el desarrollo de otras enfermedades alérgicas en los años siguientes. Lo mejor sería las medidas de prevención activa dirigidas a lograr la tolerancia oral. La respuesta IgE se produciría cuando la cantidad de antígeno absorbido fuera menor que el umbral requerido para la supresión y la tolerancia. Este umbral, genéticamente determinado es muy bajo en sujetos normales pero más alta en los atópicos, "altos

respondedores de IgE" (79). Estudios experimentales demuestran que en el recién nacido se produce una inducción de anticuerpos IgE en una primera exposición a pequeñas cantidades de alérgeno y en una segunda exposición, en los bajo-respondedores se induce tolerancia mientras que en los alto-respondedores se produce un aumento de la producción de IgE (80). La administración intermitente y a bajas dosis de un alimento favorecerá la sensibilización, mientras que a grandes dosis la tolerancia. Según algunos autores (81), se podría bloquear la respuesta alérgica a leche de vaca en el recién nacido atópico administrándosela en una importante cantidad antes de iniciar la lactancia materna. La tolerancia natural a alérgenos alimentarios se establecerá si la edad y la introducción es óptima, dependiendo de la cantidad y frecuencia de las tomas. La experiencia indica que en los lactantes que reciben lactancia artificial con una fórmula adaptada de leche de vaca desde el nacimiento es excepcional la aparición de alergia a la leche de vaca.

La lactancia materna es el alimento ideal del lactante pero en el caso de que se alterne con exposiciones infrecuentes a pequeñas cantidades de leche de vaca se puede incrementar el riesgo de alergia a estas proteínas vacunas. Este patrón de sensibilización es diferente en la enteropatía por leche de vaca, que no es mediada por IgE, y que se asocia a la exposición de grandes cantidades de leche de vaca (82).

La existencia de proteínas de leche de vaca en la leche materna no es suficiente para sensibilizar al lactante. La leche materna tiene factores protectores de la alergia que están disminuidos en la madre atópica. Esta última tiene más eosinófilos, menos IgE, menos macrófagos, menos TNF-alfa, menos ácidos grasos omega 6, mayores niveles de IL-4, IL-3, IL-8 e IL-10 y sus linfocitos estimulados producen más cantidad de IgE que los de la leche de madres no atópicas. Sin embargo al no ser posible saber con seguridad si el niño va a ser atópico de todas las maneras los lactantes deben ser alimentados con lactancia materna exclusiva en los primeros 6 meses de vida.

En los años 80 se introdujeron fórmulas parcialmente hidrolizadas para los lactantes de alto riesgo de atopia cuando no era posible la lactancia materna, pero no tuvieron un papel preventivo por lo que se propuso utilizar solamente hidrolizados extensivos. Sin embargo éstos sólo lograban posponer los síntomas alérgicos. Posteriores estudios han demostrado que los hidrolizados parciales de PLV que contienen péptidos de PLV de pequeño y mediano tamaño son capaces de inducir tolerancia, lo que no pueden conseguir los hidrolizados extensivos por su baja inmunogenicidad.

## TRATAMIENTO DE LA ALERGIA ALIMENTARIA

Las opciones actuales para el tratamiento de la alergia alimentaria se basan en la evitación del alérgeno y esperar que con el tiempo se establezca su tolerancia. En la evolución natural de la alergia alimentaria, al periodo de sensibilización clínica le sigue otro de sensibilización asintomática, hasta conseguir la tolerancia total con la desaparición de anticuerpos IgE específicos (Tabla 6). No todos los alérgicos a alimentos alcanzan la tolerancia, en algunos casos tiende a persistir durante años y cuanto mas tiempo se mantiene la sensibilización sintomática, es menor la probabilidad de que se resuelva, siendo un índice de mal pronóstico en la alergia a PLV la persistencia de la reactividad clínica a los 5 años de edad (Tabla 7). Algunos autores han realizado pautas de desensibilización oral con alimentos, igual que se hace con los medicamentos (83) con muy buenos resultados. Hay pautas rápidas de 5 días. Recientemente se han obtenido por hidrólisis enzimática de la betalactoglobulina unos péptidos con capacidad tolerógena y baja inmunogenicidad. Estos hallazgos abren la posibilidad de utilizar en el futuro fórmulas hipoalergénicas enriquecidas con péptidos tolerógenos en la prevención y tratamiento de la alergia a alimentos.

## PREGUNTAS MÁS FRECUENTES SOBRE ALERGIA ALIMENTARIA Y SUS RESPUESTAS

1. ¿Qué diferencia hay entre la alergia a la leche y la intolerancia a la lactosa?

La leche puede producir multitud de cuadros clínicos digestivos diferentes en niños, entre los cuales destacan por su frecuencia 3:

1. La intolerancia a la lactosa: Se debe a una deficiencia en la metabolización de la lactosa, bien de forma congénita (heredable) o más frecuentemente adquirida como consecuencia de procesos infecciosos que afectan a la mucosa intestinal. Produce dolor abdominal, diarreas muy ácidas que irritan las nalgas del bebé, mala ganancia de peso... En la gran mayoría de los casos suele pasarse en unas semanas o a lo sumo meses.
2. La alergia a las proteínas de la leche de vaca: Se trata de un proceso inmunológico mediante el cual el organismo del niño reacciona contra las proteínas vacunas entre las que se incluyen la caseína, la beta-lactoglobulina y la alfa-lactoalbúmina. Suele producir náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea y síntomas cutáneos generalmente en las dos horas siguientes a la toma de lácteos. No obstante en cuadros muy severos pueden llegar a aparecer síntomas respiratorios o vasculares que ponen en peligro la vida del paciente. Suele tener buen pronóstico y desaparecer en el 80% de los casos en un periodo medio de tiempo de 3 años.
3. La intolerancia a las proteínas de la leche de vaca: Es un cuadro de origen desconocido aunque se cree que también es de tipo inmunológico. Suele

producir molestias inespecíficas digestivas: inapetencia, heces blandas, náuseas, a veces diarrea. Suele tener también muy buen pronóstico y desaparecer en 1-2 años.

2. ¿Cuándo se puede "probar" a dar leche a un niño que tenía alergia a proteínas de la leche?

Esto se realiza una vez que los análisis (tanto pruebas cutáneas como analítica sanguínea) se han negativizado. Por eso es fundamental que un niño alérgico a la leche siga revisiones regulares por parte de un alergólogo, En todos los casos, la pruebacontrolada de tolerancia (administrar leche en cantidades conocidas) siempre debe hacerse en un entorno hospitalario, nunca se debe de realizar en el domicilio del paciente por la posibilidad de que se presentes reacciones adversas.

3. Mi hija es alérgica a las proteínas de la leche de vaca ¿qué tipo de leche puedo darle?

En pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca se pueden utilizar básicamente 3 tipo de fórmulas lácteas: Las altamente hidrolizadas, las fórmulas a base de soja y las fórmulas esenciales. Las dos primeras son las más empleadas. La esenciales sólo se usan en caso de un fracaso con las dos anteriores.

- a. Realmente, las fórmulas altamente hidrolizadas son bien toleradas por el 99% de los niños pero aquellos que son muy sensibles pueden llegar a tener problemas con ellas, a veces incluso graves, pues al fin y al cabo son proteínas vacunas aunque de menor tamaño que las originales. Además tienen el problema añadido de un mal sabor por lo que a veces suelen ser rechazadas, al menos inicialmente, por los lactantes.
- b. Las fórmulas de soja no tienen riesgo de reacciones cruzadas (entre las proteínas vacunas y la soja), poseen mejor sabor pero algunos especialistas en nutrición dicen que al contener ciertas hormonas vegetales, pueden afectar el desarrollo del niño.
- c. Por último, las fórmulas esenciales al contener sólo aminoácidos nunca producen problemas alérgicos. Sin embargo son productos caros, de muy mal sabor y que pueden conllevar problemas nutricionales a largo plazo.
- d. Sea cual sea su caso, tenga en cuenta que las proteínas de la leche de vaca se encuentran ampliamente extendidas en la actualidad y pueden hallarse como ingredientes enmascarados en muchos productos alimentarios. Los epígrafes proteínas lácteas, proteínas de origen animal, caseinatos, etc. Pueden indicar la presencia de proteínas lácteas.

4. Mi hijo es alérgico al huevo ¿se curará?

La alergia al huevo es la segunda causa de alergia alimentaria mas frecuente tras la alergia a la leche de vaca y la primera en niños con dermatitis atópica. A

pesar de ello su pronóstico suele ser bueno desapareciendo en más de la mitad de los casos en un periodo medio de tiempo de 5 años. Lo más importante para conseguir que el problema desaparezca es llevar a cabo una dieta exenta de proteínas de huevo lo más estricta posible por que pequeñas cantidades inadvertidas de éste pueden no producir síntomas al niño pero si mantenerle su sensibilización. Es por ello fundamental que acuda a un alergólogo que no sólo diagnostique con certeza los problemas sino que haga un adecuado seguimiento con pruebas cutáneas sanguíneas que determinen la evolución del proceso.

5. La alergia al huevo ¿Qué síntomas produce? Si afecta a un adulto ¿puede curarse?

La alergia al huevo puede producir síntomas muy variables, por ejemplo en la piel (urticaria, eccema), en el aparato digestivo (dolor abdominal, vómitos...) en el aparato respiratorio (ahogo, tos, ruidos torácicos) y en los casos más graves en el aparato circulatorio (hipotensión y shock).

El pronóstico es bueno en niños desapareciendo en más de la mitad de los casos en un periodo de tiempo de unos 5 años, sin embargo, se considera que si el proceso persiste más allá de los 9 años de vida las probabilidades de desaparecer son muy escasas por lo que en adultos suele ser casi siempre para toda la vida.

6. Mi hijo es alérgico al huevo ¿puede comer carne de pollo?

En la mayoría de los casos sí pues los alérgenos principales de la alergia al huevo no están contenidos en la carne de aves, Es excepcional que esto ocurra salvo en los casos del llamado síndrome Ave-Huevo-Plumas que ocurre más bien en personas adultas que tienen contacto frecuente con aves, las cuales se sensibilizan primariamente a plumas en forma de síntomas respiratorios y posteriormente, como comparten alérgenos con la carne y el huevo. Pueden tener síntomas digestivos al comer alguno de estos productos. Pero, en general, tener alergia al huevo no significa que no se pueda comer pollo.



Figura 1: Alimentos vegetales incluidos en el síndrome de reactividad cruzada látex-frutas.

Figura 2: Alimentos vegetales incluidos en el síndrome de reactividad cruzada polenes-frutas.



Figura 3: Lepidoglyphus destructor: ácaro de almacenamiento contaminante de la harina.



Figura 4: Pruebas cutáneas (Prick-tests) con cereales y leguminosas.

**Tabla 1.****CAUSAS DE EOSINOFILIA GASTROINTESTINAL**

<b>Esófago</b>	<b>Estómago</b>	<b>Intestino delgado</b>	<b>Colon</b>
Esofagitis Eo	Gastritis Eo	Enteritis Eo	Enteritis Eo
Alergia alim	Alergia alim	Alergia alim	RGE
Enf Menetrier	En granulom	C Crohn	Colitis ulcerosa
Vasculitis	Vasculitis	Vasculitis	
Trat oro	Trat oro	S HiperIgE	S HiperIgE
S HiperEo Id	S HiperEo id		
Helicobacter	Parásitos	Parásitos	

**Tabla 2.****MÉTODO DIAGNÓSTICO PARA LA HIPERSENSIBILIDAD ALIMENTARIA**

1. Obtener una historia completa que pueda utilizarse en el diseño
2. Considerar el diagnóstico diferencial
3. Efectuar pruebas de provocación alimentaria controlada por placebo
4. Efectuar las pruebas apropiadas de laboratorio

**Tabla 3.****PUNTOS QUE HAY QUE CONSIDERAR AL EFECTUAR LA ANAMNESIS**

1. Descripción de los síntomas
2. Tiempo transcurrido entre la ingesta del alimento y el inicio de los síntomas
3. Crisis mas reciente
4. Frecuencia de reacciones en el pasado
5. Cantidad mínima del alimento necesaria para provocar síntomas

<b>Tabla 4. MUESTRA DE PESOS EQUIVALENTES PARA PRUEBAS DE PROVOCACION ALIMENTARIA</b>			
<b>Alimento</b>	<b>Peso hidratado (g)</b>	<b>Peso desecado (g)</b>	<b>Peso/cápsula (g)</b>
Huevos	2,36	0,59	0,59
Leche	6 ml	0.61	0.61
Cacahuetes	1,83	0,44	0,44
Trigo	0,90	0,90	0,90
Soja	2,83	0,68	0,68
Maíz	8,25	0,66	0,66
Buey	4,10	0,59	0,57
Gambas	3,28	0,59	0,59

**Tabla 5: TRATAMIENTO DE LOS PACIENTES CON HIPERSENSIBILIDAD ALIMENTARIA COMPROBADA**

1. Evitación (con nuevas provocaciones a intervalos regulares).
2. La administración de corticoides puede ser importante en algunos trastornos poco frecuentes (por ejemplo, gastroenteritis eosinofílica, diarrea secretora).
3. Evitar el uso de medicaciones como cromoglicato o antihistamínicos: no se ha comprobado su eficacia en estudios controlados.
4. No debe utilizarse la terapia con inyecciones en la hipersensibilidad alimentaria a menos que se efectúe bajo protocolos experimentales.

**Tabla 6: ALIMENTACIÓN DE LACTANTES CON PREDISPOSICIÓN ATÓPICA**

1. Permitir una dieta materna prenatal normal.
2. Aconsejar la lactancia materna durante al menos 6 meses.
3. Advertir a la madre que evite los huevos, los cacahuetes y el pescado. Puede considerarse la evitación de productos lácteos.
4. Retrasar la introducción de alimentos sólidos del modo siguiente:
  - a. 6-12 meses: verduras, arroz, carne, fruta.
  - b. 12-18 meses: leche de vaca, trigo, centeno, cítricos, soja.
  - c. 24 meses: huevos.
  - d. 36 meses: frutos secos, pescado.

**Tabla 7. ALERGENOS CARACTERIZADOS DE LA HARINA DE TRIGO**

Sustancia	PM kDa	Pureza	Test	Pacientes con Prick positivo	Referencias
<b>Inhibidores de <math>\alpha</math>-amilasa</b>					
<i>Subunidades de Heterotetrámeros:</i>					
WTAI-CM2	14	e.p. <sup>1</sup>	SPT	11/31	Armentia et al. 1993
WTAI-CM3B	14	e.p. <sup>1</sup>	SPT	11/31	Armentia et al. 1993
WTAI-CM16	16	e.p. <sup>1</sup>	SPT	7/31	Armentia et al. 1993
WTAI-CM16*	16	e.p. <sup>1</sup>	SPT	14/31	Armentia et al. 1993
<i>Subunidades de homodímeros:</i>					
WDAI-1	15	e.p. <sup>1</sup>	SPT	5/31	Armentia et al. 1993
WDAI-1 y/o WDAI-2		e.p. <sup>2</sup>	Inmunoblot	4/8	Fränken et al. 1994
		e.p. <sup>1</sup>	2D-Inmunoblot	Suero pool	Posch et al. 1995
		e.p. <sup>2</sup>	EAST	13/25	Walsh et al. 1989
<i>Monómero:</i>					
WMAI-1	14		SPT	9/31	Armentia et al. 1993
<b><u>Aglutinina</u></b>					
Subunidades de homodímeros	17	e.p. <sup>2</sup>	RAST	5/9	Sutton et al. 1984
WGA					
Acil-CoA oxidasa (homólogo del arroz)	27	e.p. <sup>1</sup>	2D-Inmunoblot	Suero pool	Posch et al. 1995
Fructosa-bifosfato aldolasa (homólogo del arroz)	37	e.p.	2D-Inmunoblot	Suero pool	Weiss et al. 1997

\*Subunidad glicosilada. e.p. electroforéticamente pura. <sup>1</sup>Un solo punto en electroforesis bidimensional

<sup>2</sup>Una banda en SDS-PAGE

## BIBLIOGRAFÍA

1. Sampson HA, Mendelson L, Rosen JP. Fatal and nearly fatal anaphylactic reactions to food in children and adolescents. N Engl J Med;327:380-384; 1992.
2. Tratado de Alergología. Alergia a Alimentos. Ergón Ed. Madrid 2015.
3. Martín Esteban M. Alimentación y alergia. En: Polanco I Eds. Nutrición profiláctica y terapéutica. Saned. Madrid. 1991;95-112.

4. Bock SA, Sampson HA, Atkins FM, Zeiger RS, Sachs M, Bush RK, Metcalfe DD: Double blind, placebo-controlled food challenge (DBPCFC) as an office procedure: a manual. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:986-997.
5. Shewry PR, Lucas JA., Plant proteins that confer resistance to pests and pathogens. *Adv. Bot. Res.* 1997;26:135-192.
6. Kombrick E, Somssich IE. Pathogenesis related proteins and plant defense. In: *The Mycota V Part A. Plant Relationships* (Carrol G, Tudzynski P, Eds) Springer-Verlag, Berlin 1997; pp. 107-128.
7. Breiteneder H, Pettenburger K, Bito A, Valenta R, Kraft D, Rumpold H, Scheiner O, Breitenbach M. The gene coding for the major birch pollen allergen Betv1 is highly homologous to a pea disease resistance response gene. *EMBO J* 1989;8:1935-1938.
8. Fritsch R, Ebner C, Kraft D. Allergenic crossreactivities. Pollens and vegetable foods. *Clin Rev. Allergy Immunol* 1997;15:397-404.
9. Posch A, Weiss W, Wheeler C, Dunn MJ Gorg A. Sequence analysis of wheat grain allergens separated by two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis* 1995;16:1115-19.
10. Weiss W, Vogelmeier G, Gorg A. Electrophoretic Characterization of wheat grain allergens from different cultivars involved in baker's asthma. *Electrophoresis* 1993;14:804-816.
11. Díaz Perales A, Collada C, Blanco C, Sanchez-Monge R, Carrillo T, Aragoncillo C, Salcedo GF. Class I chitinases with hevein-like domain, but not class II enzymes, are relevant chestnut and avocado allergens *J Allergy Clin Immunol.* 1998;273:127-133 Sowka S, Hsieh LS, Krebitz M, Akasawa A, Martín MB, Starrett D, Peterbauer CK, Scheiner O, Breiteneder H. *J Bio. Chem* 1998;273:28091-28097.
12. Sanchez Monge R, Lombardero M, García Sellés J, Barber D, Salcedo G. Lipid-transfer proteins are relevant allergens in fruit allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:514-519.
13. Chen Z, Posch A, Cremer R, Raulf-Heimsoth M, Baur X. Isolation and identification of hevein as a major IgE binding polypeptide in Hevea Latex. *J Allergy Clin Immunol* 1998;156:1618-1625.
14. Pastorello EA, Farioli BS, Pravettoni V, Ortolani C, Spano M. The major allergen of peach (*Prunus persica*) is a lipid transfer protein. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:520-526.
15. Pastorello EA, Incorvaia C, Ortolani C. Cross-reactions in food allergy. *Clin Rev Allergy Immunol* 1997; 15:415-27.
16. Yungiger JW. Food antigens. In *Food Allergy: Adverse reactions to foods and food additives.* Metcalfe DD, Sampson HA, Simon RA Eds. 2<sup>nd</sup> Edition 1997. Blackwell Sc.
17. Baur X, Fruhman G, Haug B, Rasche B, Reiher W, Weiss W. Role of *Aspergillus*  $\alpha$ -amylase in baker's asthma. *Lancet* 1986; 1: 43.
18. Baldo BA, Wrigley CW. IgE antibodies to wheat flour components. Studies with sera from subjects with baker's asthma or coeliac condition. *Clinical Allergy* 1978; 9: 109-124.
19. James JM, Sixbey JP, Helm RM, Bannon GA, Burks AW. Wheat  $\alpha$ -amylase inhibitor: A second route of allergic sensitization. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 239-244.
20. García Casado G, Armentia A, Sánchez-Monge R, Malpica JM, Salcedo G. Rye flour allergens associated with baker's asthma. Correlation between *in vivo* and *in vitro* activities and comparison with their wheat and barley homologues. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 428-35.
21. Barber D, Sánchez-Monge R, Gómez L, Carpizo J, Armentia A, López C, Juan F, Salcedo G. A barley inhibitor of insect  $\alpha$ -amylase is a major allergen associated with baker's asthma. *FEBS Lett* 1989; 348: 119-22.

22. Sánchez-Monge R, Gómez I, Barber D, López C, Armentia A, Salcedo G: Wheat and barley allergens associated with baker's asthma. Glycosylated subunits of the alpha-amylase inhibitor family have enhanced IgE-binding capacity. *Biochem J* 1992; 281: 401-5.
23. Armentia A, Sánchez Monge R, Gómez L, Barber D, Salcedo G: In vivo allergenic activities of eleven purified members of a major allergen family from wheat and barley flour. *Clin Exp Allergy* 1993; 23: 410-15.
24. García Casado, Sanchez Monge, Chrispeels MJ, Armentia A, Salcedo G Role of complex asparagine-linked glycans in the allergenicity of plant glycoproteins. *Glycobiology* 1996; 6: 471-7.
25. Sánchez-Monge R, García Casado G, López Otín C, Armentia A, Salcedo G. Wheat flour peroxidase is a prominent allergen associated with baker's asthma. *Clinical Exp Allergy* 1997; 27: 1130-1137.
26. Cockcroft DM. Occupational asthma. *Ann Allergy* 1990; 65: 169-175.
27. Sandiford CP, Tatham AS, Fido R, Welch JA, Jones MG, Tee RD, Sherry PR, Newman Taylor AJ. Identification of the major water/salt insoluble proteins involved in cereal hypersensitivity. *Clinical and Experimental Allergy* 1997; 27: 1120-1129.
28. Varjonen E, Savolainen J, Mattila L, Kalimo K. IgE binding components of wheat, rye, barley and oats recognized by immunoblotting analysis with sera from adult atopic dermatitis patients. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 481-9.
29. García Olmedo F, Salcedo G, Sánchez Monge R, Gómez L, Royo J, Carbonero P. Plants proteinaceous inhibitors of proteases and alpha-amylase. *Oxford Surv Plant Mol Cell Biol* 1987; 4: 275-334.
30. Chai H, Farr R, Froehlich LA et al. Standardization of bronchial inhalation challenge procedures. *J Allergy Clin Immunol* 1975; 56: 323-31.
31. Armentia A, Martín J, Quintero A, Fernández A, Barber D, Alonso E, Gil I. Baker's asthma: prevalence and evaluation of immunotherapy with a wheat flour extract. *Ann Allergy* 1991; 65: 265-72.
32. Bock SA, Sampson HA, Atkins FM, Zeiger RS, Lehrer S, Sachs M, Bush RK, Metcalfe DD. Double blind placebo-controlled food challenge (DBPCFC) as an office procedure: a manual. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 82: 986-997.
33. Zeiger RS, Heller S, Mellon MH, Halsey JF, Hamburger RN, Sampson HA. Genetic and environmental factor affecting the development of atopy through age 4 in children of atopic parents: a prospective randomized study of food allergen avoidance. *Pediatr Allergy Immunol* 1992; 3: 110-127.
34. Armentia A, Martínez A, Castrodeza R, Martínez J, Jimeno A, Méndez J, Stolle R. Occupational allergic disease in cereal workers by stored grain pests. *J of Asthma* 1997; 34: 69-378.
35. Armentia A, Tapias J, Barber D, Martín J, De la Fuente R, Sanchez P, Salcedo G, Carreira J. Sensitization to storage mite *Lepidoglyphus destructor* in wheat flour respiratory allergy. *Ann of Allergy* 1992; 68: 398-430.
36. Blanco C, Castillo R, Ortega N, Alvarez M, Aarteaga C, Barber D, Carrillo T. Asthma due to ingestion of contaminated flour. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1997; 7: 323-324.
37. Malhotra R, Haurum J, Thiel S, Jensenius JC, Sim RB. Pollen grains bind to lung alveolar type II cells A549 via lung surfactant protein A SP-A. *Biosci-Rep* 1993 ;13 (2):79-90.
38. Armentia A. Usefulness of specific bronchial challenge in monitoring immunotherapy in occupational asthma. *Allergology and Clinical Immunology* 1997; 7: 325-326.
39. Jones SM, Magnolfi CF, Cooke SK, Sampson HA. Immunologic cross-reactivity among cereal grains and grasses in children with food hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 341-51.

40. Armentia A, Martín Gil FJ, Arranz-Peña ML, Bañueños MC, Navas C, Pardo M. Alergia Alimentaria a Coca-Cola y Cola –Cao y su relación con proteínas purificadas de cereales. *Rev. Esp. Alergol e Inmunol Clin.* 1998;13:339-46.
41. Armentia A, Rodríguez R, Callejo A, Martín Esteban M, Martín Santos JM, Salcedo G, Pascual C, Sánchez Monge R, Pardo M. Allergy after ingestion or inhalation of cereals involves similar allergens in different ages. *Clin Exp Allergy* 2002;32:1216-1222.
42. Baur X., Posch A. Characterized allergens causing baker's asthma. *Allergy* 1998;6:562-6.
43. Gómez L, Sánchez Monge R, García Olmedo F, Salcedo G. Wheat tetrameric inhibitors of insect alpha-amylases:allopoloid heterosis at the molecular level. *Proc NatlAcad Sci. USA* 1989; 86: 3242-3246.
44. Gutiérrez C, Sánchez Monge R, Gómez L, Ruiz Tapiador M, Castañera P, Salcedo G.  $\alpha$ -Amyllase activities of agricultural insect pests are specifically affected by different inhibitor preparations from wheat and barley endosperm. *Plant Science* 1990; 72: 37-44.
45. James JM, Sampson HA. An overview of food hypersensitivity. *Pediatr Allergy Immunol* 1992; 3: 67-78.
46. Pascual C, Fernández Crespo J, Martín Esteban M, Panalergenosis. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1998;13 (Extraordinario 2):34-40.
47. Armentia A, Fernández A, Pérez C, De la Fuente R. Occupational allergy to mites in salty ham, chorizo and cheese. *Allergol et Immunopathol* 1994:152-154.
48. Armentia A, Bartolomé B, Callejo A, Asturias JA, Martín Gil FJ, Vega JM, Martín Santos JM. Asthma caused by a cathedral wall. *New England JMed* 2001; 345:1068-1069.
49. Armentia A, Lombardero M, Callejo A, Vega JM. Occupational asthma to grain pests *Eurygaster* and *Ephestia*: cross-reactivity with *Anisakis simplex*. *Allergy* 2002;
50. Armentia A, Lombardero M., Callejo A, Martín Santos JM, Martín Gil FJ, Vega JM Arranz ML, Martínez C. Occupational asthma by *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol.* 1998. 102:831-4.
51. Howarth PH. Is allergy increasing?-early life influences. *Clin Exp Allergy* 1998; Supp 6:2-7.
52. Kay AB. Allergy and Allergic diseases. *N Engl J Med* 2001; 344:30-37.
53. Gereda JE, Klinnert MD, Price MR, Leung YM, Liu AH. Metropolitan home living conditions associated with indoor endotoxin levels. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:790-6.
54. Strachan DP, Wong J, Spector TD. Concordance and interrelationship of atopic diseases and markers of Allergic sensitization among adult female twins. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:901-7.
55. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) steering Committee. World-wide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis and atopic eczema. ISAAC. *Lancet* 1998;351:1225-32
56. Bergmann RL, Edenharter G, Bergmann KE, Forster J, Bauer CP, Wahn V et al. Atopic dermatitis in early infancy predicts allergic airway disease at 5 years. *Clin Exp Allergy* 1998;28:965-70.
57. Roemer W, Hohck G, Brunekreef B. pollution levels on asthmatic children in Europe. The PEACE study. *Clinical and Experimental Allergy* 2000;30:1067-1075.
58. Kulig M, Bergmann R, Niggemann B, Burow G, Wahn U. The Mas Study Group. Prediction of sensitization to inhalant allergens in childhood: evaluating family history, atopic dermatitis and sensitization to food allergens. *Clin Exp Allergy* 1998;28:1397-403.
59. Zeiger RS, Heller MSN. The development and prediction of atopy in high-risk children: Follow-up at age seven years in a prospective randomized study of combined maternal and infant food allergen avoidance. *J Allergy Clin Immunol* 1995;65: 1179-90.

60. Hide OW, Mathews S, Mathews L et al. Effect of allergen avoidance in infancy on allergic manifestation at age two years. *J Allergy Clin Immunol* 1994;842-46.
61. Jones SM, Magnolfy Ch F, Cooke S K, Sampson H A. Immunologic cross-reactivity among cereal grains and grasses in children with food hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96:341-51.
62. Barnes M, Cullinan P, Athanasaki P, Macneill AM, Hole M, Harris J, Kaolgeraki S, Chatzinikolau M, Drakonaris N, Bibaki-Loakou V, Newman taylos AJ, Bibakis I. Crete: does farming explain urban and rural differences in atopy? *ClinExp Allergy* 2001;31:1822-1828.
63. Filipiak B, Heinrich J, Schäfer T, Ring J, Wichmann E. Farming, rural lifestyle and atopy in adults from southern Germany-results from the MONICA/KORA study Augsburg. *Clin Exp Allergy* 2001;31:1829-1838.
64. Sánchez Monge R, Gómez L, Barber D, López C, Armentia A, Salcedo G. Wheat and barley allergens associated with baker's asthma. Glycosylated subunits of the  $\alpha$ -amylaseinhibitor family have enhanced IgE-binding capacity. *Biochem J* 1992;281:410-15.
65. Armentia A, Sánchez Monge R, Gómez L, Barber D, Salcedo G. In vivo allergenic activities of eleven purified members of a major allergen family from wheat and barley flour. *Clin Exp Allergy* 1993;23:410-5.
66. García G, Sanchez R, Chrispeels M, Armentia A, Salcedo G and cols. Rol of complex asparagine linked glycans in the allergenicity of plant glycoproteins. *Glycobiology* 1996;6:471-7.
67. Poulsen LK. In vitro tests in the diagnosis of food allergy. *Clin Exp Allergy* 1998;28:1457-59.
68. Armentia A, Martín J, Quintero A, Fernández A, Barber D et al. Baker's asthma: prevalence and evaluation of immunotherapy with a wheat flour extract. *Annals of Allergy* 1991;65:265-72.
69. Saarinen OM, Kajosuuri M. Breast feeding as prophylaxis against atopic disease prospective follow-up study until 17 year old. *Lancet* 1995;346:1065-9.
70. Taylor B, Norman AP, Orgel HA et al, Predisposing factors and pathogenesis of infantile atopy. *Lancet* 1973;2:11-3.
71. Fergusson DM, Horwood LJ, Shannon FT. Early solid feeding and recurrent eczema: a 10-year longitudinal study. *Pediatrics* 1990;86:541-6.
72. Laan MP, Baert MRM, Bijl AMH, Vredendaal AECM, De Waard-Van Der Spek FB, Oranje AP, Savelkoul HFJ, Neijens HJ. Markers for early sensitization and inflammation in relation clinical manifestations of atopic disease up to 2 years of age 133 high-risk children. *Clin Exp Allergy* 2000;30:944-53.
73. Woods RK, Abramson M, Raven JM, ailey M, Weiner JM, Walters EH. Reported food intolerance and respiratory symptoms in young adults. *Eur Respir J* 1998;11:151-55.
74. Gislason D, Bkörnsson E, Gislason T, Janson C, Sjöberg O, Elfman L, Boman G. Sensitization to airborne and food allergens in Reykjavik (Iceland) and Uppsala (Sweden)- a comparative study. *Allergy* 1999;54:1160-67.
75. Kelso J.M. Pollen-food allergy syndrome. *Clin Exp Allergy* 2000;30:905-7.
76. Salcedo G, Diaz Perales A, Sánchez Monge R. Fruit allergy plant defense proteins as novel potential panallergens. *Clin Exp Allergy* 1999;29:1158-60.
77. Kramer MS. Maternal antigen avoidance during pregnancy for preventing atopic disease in infants of women at high risk (cochrane Review) In: *The cochrane Library*, 4, 2001;Oxford.
78. Jarret EE., Hall E. Regulation of ongoing IgE antibody resposes with minute doses antigen. *Eur J Immunol* 1981;41:1-24.
79. Holt PG, McMenamin C, Nelson D. Primary sensitizationto inhalant allergens during infancy. *Ped Allergy Immunol* 1990:1:3-13.

80. Firer MA, Hosking CS, Hill DJ. Effect of antigen load on development of milk antibodies in infants allergic to milk, *Br Med J* 1981;283:693-6.
81. Saarinen KM, Savilahti E. Infant feeding patterns affect the subsequent immunological features in cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy* 2000;30:400-6.