

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	
1.1. Alergia a los cereales.....	3
1.2. Enfermedad Celiaca.....	6
2. HIPÓTESIS.....	9
3. JUSTIFICACIÓN.....	10
4. METODOLOGÍA.....	10
5. RESULTADOS.....	14
6. DISCUSIÓN.....	17
7. CONCLUSIONES.....	17
8. BIBLIOGRAFÍA.....	19
9. ANEXOS.....	22

Alergia a los cereales en la Enfermedad Celiaca

Sastre Huertes, Violeta¹(Autora). Armentia Medina, Alicia²(Directora)

Resumen

Introducción: la combinación de anticuerpos antigliadina (AGA) y antitransglutaminasa es una técnica serológica muy útil en el diagnóstico de la enfermedad celiaca. En contraste, existe muy poca información sobre los alérgenos responsables de la sensibilización a cereales por vía digestiva y sus implicaciones clínicas. Es posible que algunos de los pacientes celiacos puedan responder a proteínas de cereales por un mecanismo de hipersensibilidad inmediata tipo I (típica de la alergia a cereales) y no la hipersensibilidad tipo IV propia de la enfermedad celiaca.

Objetivo: el estudio pretende establecer un nexo de unión entre ambas patologías para lograr nuevas técnicas de diagnóstico y plantear estrategias terapéuticas. Evalúa la reactividad alérgica de proteínas de cereales en pacientes alérgicos y celiacos de diferentes edades, e investiga si pudiese existir alguna similitud en su respuesta inmune o descartar si ésta depende de la vía de sensibilización.

Material y métodos: se compara la reactividad frente a proteínas realizando pruebas in vivo (pruebas cutáneas, test de provocación con alimentos y dieta de exclusión) y pruebas in vitro (determinación de IgE específica, caracterización de proteínas y digestión gastrointestinal) a los tres grupos de pacientes, alérgicos a cereales, pacientes con asma del panadero y enfermedad celíaca respectivamente.

Resultados: las vías inhalatoria y digestiva que causan alergia a cereales parecen involucrar alérgenos similares. La respuesta IgE específica a antígenos de cereales puede ser importante en pacientes que sufren EC; 4 de los niños con celiaca e IgE positiva y dos niños con alergia digestiva han respondido a inmunoterapia.

Conclusiones: puede existir en celiacos una sensibilización alérgica mediada por IgE a trigo, lo cual abre la posibilidad de tratarles con inmunoterapia específica, útil ya en la alergia por inhalación.

Palabras clave: enfermedad celiaca, alergia al gluten, asma del panader

¹ Universidad de Valladolid, Facultad de Medicina, Valladolid, España.

² Hospital Universitario Río Hortega, Servicios de Alergia, Digestivo y Pediatría, Valladolid, España. Diater, Laboratorio de Diagnóstico y Aplicaciones Terapéuticas S.A., Unidad I+D, Madrid, España.

Abstract

Background: The combination of antigliadin (AGA) and anti-transglutaminase antibodies is a very useful serological technique for the diagnosis of celiac disease. In contrast, there is very little information on the allergens responsible for digestive sensitization to cereals and their clinical implications. It is possible that some of the celiac patients may respond to cereal proteins by an immediate type I hypersensitivity mechanism (typical of cereal allergy) and not the type IV hypersensitivity of celiac disease.

Objective: The study aims to establish a link between the two pathologies to achieve new diagnostic techniques and propose therapeutic strategies. It evaluates the allergic reactivity of cereal proteins in allergic and celiac patients of different ages, and investigates if there might be some similarity in its immune response or rule out whether it depends on the sensitization pathway.

Material and methods: Protein reactivity was tested by in vivo tests (skin tests, food challenge and exclusion diet) and in vitro tests (determination of specific IgE, protein characterization and gastrointestinal digestion) in the three groups of patients, allergic To cereals, patients with baker's asthma and celiac disease, respectively.

Results: The inhalation and digestive pathways that cause allergy to cereals appear to involve similar allergens. IgE specific response to cereal antigens may be important in patients suffering from CD; 4 of the children with celiac and positive IgE and two children with digestive allergy have responded to immunotherapy.

Conclusions: IgE-mediated allergic sensitization to wheat may be present in celiacs, which opens up the possibility of treating them with specific immunotherapy, already useful in allergy by inhalation.

Key words: Celiac disease, gluten allergy, baker's asthma

1. Introducción

Las reacciones adversas a alimentos en general son muy frecuentes, afectando aproximadamente al 20% de la población general de Europa Occidental; en el 25% de los niños y el 10% de los adultos el problema es debido a una reacción de hipersensibilidad de tipo alérgico ² .

La enfermedad celiaca es una de las enteropatías más frecuente de nuestro medio. Las enteropatías se definen como anormalidades de la mucosa del intestino delgado, de varias etiologías, que se pueden clasificar en agudas o crónicas.

Aunque existen ciertas similitudes entre las reacciones alérgicas a cereales y la enfermedad celiaca, ambas enfermedades son consideradas independientes.

El estudio que reviso, pretende establecer un nexo de unión entre estas dos patologías con el fin de lograr nuevas técnicas de diagnóstico y estrategias terapéuticas alternativas.

1.1. Alergia a los cereales

Se produce por una respuesta inmunológica de hipersensibilidad inmediata tras el contacto con el gluten. La forma de presentación es variada, puede aparecer desde un sarpullido en la boca tras la ingesta de gluten, hasta un cuadro de choque anafiláctico.

La alergia a los cereales afecta a una proporción muy baja de la población y puede desarrollarse a cualquier edad.

La presentación clínica más habitual de este síndrome suele ser un cuadro clínico de "Síndrome de Alergia oral" (SAO) que consiste en síntomas leves en la región orofaríngea, del tipo prurito labial, bucal, faríngeo o incluso ótico y, en ocasiones, eritema labial y perioral con o sin angioedema. Pero también puede dar lugar a reacciones sistémicas.

Los síntomas de la alergia al gluten son de inicio brusco, a los pocos minutos de tomar el alimento, y aunque la forma más típica sea el SAO, pueden ser diversos, vómitos, dolor abdominal, diarrea, sangrado digestivo, asma, tos, laringitis, rinitis,

conjuntivitis, urticaria, edema, inflamación, dermatitis atópica, reacciones de anafilaxia...

Existe una relación entre la sensibilización a pólenes ambientales y la alergia alimentaria a alimentos vegetales, entre ellos los cereales.

Las gramíneas son la causa más frecuente de alergia respiratoria en España y Europa. Se pueden dividir en gramíneas espontáneas (crecen solas) o gramíneas cultivadas o cereales (trigo, cebada y centeno). El trigo, la cebada y el centeno son especies de gramíneas estrechamente relacionadas pertenecientes a la tribu Triticeae. Los cereales cultivados, especialmente el trigo, son una importante fuente de proteínas de la dieta en todo el mundo.

Los pacientes que padecen alergia ambiental por sensibilización al polen de gramíneas, pueden presentar sensibilización, con pruebas cutáneas positivas y respuesta IgE específica positiva, frente a los cereales que consumen por vía digestiva. La sensibilización a trigo es una de las sensibilizaciones más frecuentemente encontrada en niños con dermatitis atópica.

Los cereales tienen numerosas proteínas con poder alergénico. Los principales alérgenos de los cereales son: proteínas de reserva (gluten en el trigo) y proteínas defensoras de los ataques de hongos, bacterias o insectos.

Sus semillas están compuestas por diferentes tipos de proteínas, las proteínas solubles en agua (albúminas), en sal (globulinas), y en agua y alcohol (gliadinas) son las que intervienen en las respuestas mediadas por IgE. Las proteínas insolubles (gluteninas) junto con las gliadinas componen el gluten.

Las globulinas y gluteninas son los antígenos responsables de la hipersensibilidad inmediata frente a los cereales ingeridos. Mientras que las albúminas son los alérgenos más importantes del asma por inhalación.

Los Panérgenos son proteínas alérgicas; entre ellas encontramos la familia de Proteínas de Transferencia de Lípidos (PTL), llamados así por su capacidad de unir lípidos y transferirlos entre distintos tipos de membranas. Muestran alta resistencia a la hidrólisis que realizan las enzimas del tubo digestivo de los alimentos^{3 4 5}. Esto hace de las PTL potenciales alérgenos alimentarios capaces

de sensibilizar directamente por vía digestiva. Las PTL son proteínas abundantes en los granos de cereales^{6 7}. Al principio fueron consideradas sólo alérgenos por ingestión, pero posteriormente la LPT de trigo (Tri a 14) fue identificada como un alérgeno principal en el asma del panadero por inhalación de harina de trigo.

En la composición de la semilla de los cereales ya hemos visto anteriormente que intervienen diferentes clases de proteínas. 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 en su papel en la dermatitis atópica⁸ como en la sensibilidad inhalatoria^{9 10 11 12 13 14}.

La principal vía de sensibilización de las harinas es la vía inhalada; sin embargo, también se observa la implicación de esta familia en la alergia por ingestión. Las reacciones después de la ingestión suelen estar asociadas al ejercicio o a una dermatitis atópica^{15 16}.

Los alérgenos más importantes parecen ser las proteínas de defensa del grano contra las enzimas de la saliva del ácaro que lo parasita, las cuales constituyen la familia de los inhibidores¹⁷.

Se ha encontrado asociación entre asma y rinitis alérgica con enfermedad celiaca¹⁸ e incluso también la urticaria crónica se ha asociado a enfermedad celiaca en niños^{19 20}.

Durante los pasados años se ha conseguido la purificación y caracterización de las proteínas más sensibilizantes asociadas a la alergia a harina de cereales^{21 22 23 24 25 26}. Estos alérgenos tienen pesos moleculares de 12-15 Kda y actividad enzimática inhibitoria contra alfa-amilasa o tripsina, lo que les da un papel esencial en la autodefensa del grano contra la parasitación.

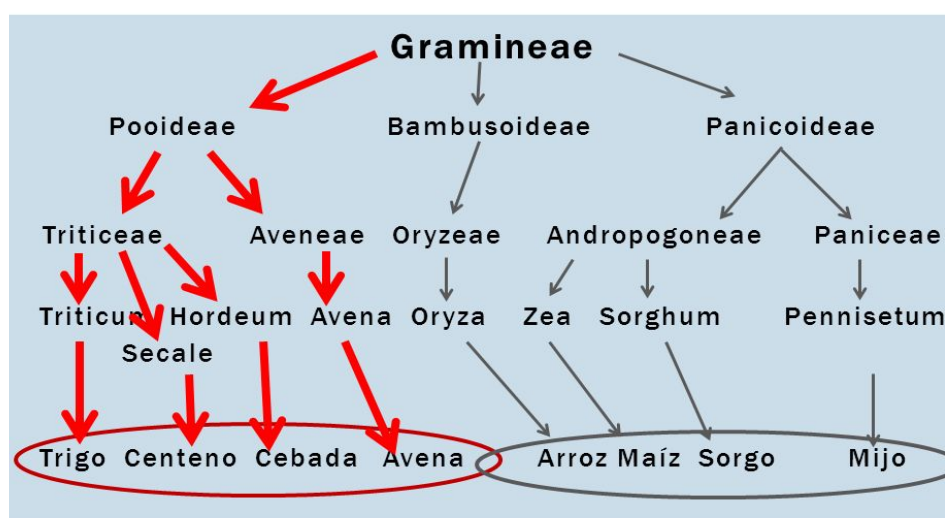
Sin embargo, la existencia de IgE específica contra un determinado alimento no siempre significa que aparezcan síntomas clínicos de alergia tras su consumo (además la reactividad cruzada in vitro es mucho más frecuente que la reactividad cruzada clínica)²⁷.

1.2. Enfermedad Celiaca

La enfermedad celiaca es una intolerancia alimentaria de por vida debida a una respuesta inmune doble, innata y adaptativa, inadecuadas frente al gluten, que da lugar a una reacción de hipersensibilidad tipo IV mediada por linfocitos T CD4 + específicos, que infiltran la lámina propia mucosa del intestino de individuos genéticamente susceptibles, al igual que ocurre en las enfermedades alérgicas²⁸.

El gluten se encuentra en cereales como el trigo, la cebada, centeno y la avena, que pertenecen a la familia Graminae subfamilia Pooideae. (Figura 1). Está compuesto por diferentes tipos de proteínas de tipo Albúminas (solubles en agua), Globulinas (solubles en sal), Prolaminas (solubles en alcohol), Gluteninas (insolubles). Tanto las Prolaminas (llamadas gliadinas en el caso del trigo) como las Gluteninas, poseen fragmentos peptídicos (como el alfa2 de la gliadina) dañinos para los enfermos celíacos.

Figura 1. Taxonomía de los cereales. Kagnoff MF. Gastroenterology 2005; 128: 10-18



Las prolaminas están compuestas por aminoácidos, glutamina y prolina, que forman polímeros mediante puentes disulfuro que son difíciles de extraer salvo con alcohol a alta concentración²⁹. El contenido de glutamina y prolina determina la inmunogenicidad y la distribución en la estructura primaria de la proteína. Son el punto de anclaje de la molécula HLA-DQ y el lugar de actuación de la enzima transglutaminasa tisular (TG).

En los individuos sanos existe una tolerancia inmunológica a alimentos en el

intestino³⁰. Esto es posible gracias a una disminución de linfocitos T cooperados CD4+ y de una diferenciación de los linfocitos a linfocitos T reguladores que paralizan la proliferación de linfocitos T, además de inhibir la producción de IL-2 y promover la síntesis de IgA³¹.

En los individuos celíacos el sistema inmune pierde la tolerancia al gluten de la dieta desencadenando una respuesta inmunológica frente al mismo.

El intestino, especialmente duodeno distal y yeyuno proximal es el principal órgano diana de la sensibilidad al gluten. La enteropatía que produce el gluten en el intestino del celíaco da lugar en última instancia a una atrofia de las vellosidades intestinales, que es la lesión característica; pero el primer hallazgo significativo que se produce es un aumento de los linfocitos intraepiteliales³².

En la Enfermedad Celíaca los linfocitos intraepiteliales aumentan en la mucosa del intestino. En las primeras etapas de la enfermedad no hay cambios significativos en los enterocitos, pero según avanza el proceso se va produciendo una atenuación del borde en cepillo de los mismos. Se incrementa el índice mitótico en las criptas intentado reparar el daño epitelial, gracias a factores de crecimiento liberados por las células mesenquimales y los linfocitos intraepiteliales. Por ello es frecuente encontrar lesiones histológicas intestinales parcheadas con zonas de mucosa sana entre las mismas.

En el progreso de la enfermedad se pueden reconocer varias fases de lesiones histológicas denominadas fases de Marsh (*Figura 2*):

-Tipo 0 (mucosa normal: pre-infiltrativa), la mucosa es normal, aunque la inmunidad humoral local está alterada.

-Tipo I (lesión infiltrativa), la arquitectura de la mucosa es normal, pero existe una infiltración de linfocitos intraepiteliales. Esta fase aún no es diagnóstica de EC establecida, sino que indicaría una EC en potencia.

-Tipo II (lesión hiperplásica), además de infiltración de linfocitos intraepiteliales existe una alteración de la arquitectura de la mucosa, con alargamiento de las criptas y aumento del número de células en mitosis, pero manteniendo la altura de las vellosidades intestinales.

-Tipo III (lesión atrófica o destructiva), además de la infiltración de linfocitos intraepiteliales e hiperplasia de las criptas, existe un aplanamiento de las vellosidades intestinales. Es la lesión diagnóstica típica de Enfermedad Celíaca. Según la severidad de la atrofia se divide en:

Tipo III a: atrofia vellositaria parcial o leve.

Tipo III b: atrofia vellositaria subtotal o marcada.

Tipo III c: atrofia vellositaria total o fase de mucosa plana.

-Tipo IV (hipoplásica), se encuentran depósitos de colágeno que dan lugar a una verdadera atrofia. Mucosa plana con criptas normales, sin incremento de los linfocitos intraepiteliales. Es muy raro encontrar esta forma en la actualidad, puede observarse en un pequeño grupo de pacientes que no responde al tratamiento. Lleva a una situación realmente grave con elevada mortalidad y muchas complicaciones como las infecciones recurrentes.

El grado de lesión intestinal no se relaciona con su intensidad o expresión clínica.

Figura 2: Marsh Mn. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11:1185-94

Clasificación histológica de Marsh-Oberhuber

	Marsh 0	Marsh 1	Marsh 2	Marsh 3a	Marsh 3b	Marsh 3c	Marsh 4
ILE*	<30/100	>30/100	>30/100	>30/100	>30/100	>30/100	<30/100
							
Hiperplasia de criptas	-	-	+	+	+	+	-
Atrofia vellositaria	-	-	-	Aplanamiento parcial	Subtotal	Total	Total (atrófica hipoplásica)

ILE*: linfocitos intraepiteliales por cada 100 enterocitos

La Enfermedad Celíaca es más frecuente en su presentación en la infancia, pero

puede presentarse a cualquier edad, siendo más frecuente en la mujer; se considera como la intolerancia alimentaria más frecuente de los países desarrollados del área europea.

La forma más frecuente de presentación de la enfermedad es paucisintomática o monosintomática. Se han propuesto otras formas de presentación asintomáticas:

EC silente: presenta lesiones histológicas, incluso de atrofia intestinal. Marcadores serológicos positivos.

EC latente: no presenta lesiones histológicas, pero las ha presentado con anterioridad. Suele tener positivos los marcadores séricos.

EC potencial: es un estado de riesgo potencial al desarrollo de EC ya que presenta las características genéticas propias de la EC (HLA-DQ2 y HLA-DQ8)

Las costumbres alimenticias en zonas donde el gluten no formaba parte de la dieta están cambiando, por lo que es fácil suponer que atenderemos a un aumento de la prevalencia de la EC sintomática en estos países en desarrollo, los cuales no siempre contarán con los medios económicos para enfrentarse a ella. La dieta sin gluten supone un remedio caro por lo que es necesario plantear estrategias terapéuticas alternativas.

2. Hipótesis

En la enfermedad celíaca existe información limitada sobre la posibilidad de una respuesta alérgica a las proteínas de los cereales implicados y ambas enfermedades (celíaca y alérgica) son consideradas independientes³³.

Es posible que algunos de los pacientes celíacos puedan responder a proteínas de cereales por un mecanismo de hipersensibilidad inmediata tipo I. Si esto fuera demostrado, sería posibles otra vía terapéutica (inmunoterapia específica con alérgenos de cereales) que se ha demostrado útil en la sensibilización por inhalación.

3. Justificación

El estudio analizado pretende establecer un nexo de unión entre estas dos patologías para lograr nuevas técnicas de diagnóstico y plantear estrategias terapéuticas. Lo hace evaluando la reactividad alérgica de proteínas purificadas de cereales, que pueden ser inhaladas o ingeridas, en pacientes alérgicos y en pacientes celíacos de diferentes edades, e investiga si pudiese existir alguna similitud en su respuesta inmune o descartar si esta respuesta depende de la vía de sensibilización.

4. Metodología

El estudio analizado se realizó en el Hospital Universitario Rio Hortega de Valladolid, se obtuvo el consentimiento informado por cada paciente (o sus padres) y fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital.

Se incluyeron 88 pacientes que se dividen en varios grupos (*tabla 1*):

Grupo 1: lo forman 17 pacientes (13 adultos y 4 niños), obtenidos de la base de datos de Alergia del Hospital Rio Hortega, con alergia alimentaria a cereales en la dieta sin Enfermedad Celiaca.

La alergia alimentaria se definió como la presencia de dermatitis atópica, urticaria y/o angioedema, asma o vómitos y diarrea que ocurrieron al menos en dos ocasiones tras la toma del alimento o anafilaxia con IgE específica positiva al alimento sospechado

Grupo 2: formado por 14 pacientes, con asma del panadero por provocación inhalatoria con harina de trigo. Pacientes que todavía no han recibido inmunoterapia y sin síntomas por ingesta.

Grupo 3: formado por 57 niños de más de 3 meses de edad, con retraso en el crecimiento, síntomas digestivos, dermatitis relacionada con la introducción de cereales en la dieta, y desaparición de la clínica tras eliminación de los mismos.

Controles: se eligen a 12 niños y 10 adultos en los que se ha descartado, mediante pruebas diagnósticas, la enfermedad celiaca y la sensibilización alérgica.

Tabla 1. Grupos de pacientes incluidos en el estudio

Grupo(n)	Edad al tiempo del diagnóstico	Síntomas tras ingerir cereales	Síntomas tras inhalar cereales
Grupo 1	1.5-37 (años)	SI	NO
Grupo 2	17-30 (años)	NO	SI
Grupo 3	3 meses-16 años	SI	NO

Pruebas “in vivo”

Pruebas cutáneas con alérgenos

Pruebas cutáneas por micropunción realizadas con una batería de extractos alérgicos que incluyeron los alérgenos sospechosos en los pacientes estudiados. Se realiza la medición de la pápula generada por la micropunción cutánea al cabo de 15 minutos.

El diluyente de la solución para la micropunción se utilizó como control negativo. Para el control positivo se utilizó una solución de histamina a una concentración de 10 mg/ml.

La reacción se considera positiva cuando el diámetro de la pápula era al menos 3 milímetros mayor que el de la solución control o bien una pápula mayor de 20 milímetros cuadrados. No se realizaron en niños menores de 6 meses con posibilidad de reacción generalizada³⁴.

Provocaciones orales

Se realizaron provocaciones con los cereales positivos en las pruebas cutáneas y sospechosos por la clínica.

Pruebas de provocación bronquial

Se realizaron usando los extractos implicados en los pacientes asmáticos

mediante la técnica de Chai³⁵.

Dieta de exclusión de cereales

En el caso de lactantes con alergia demostrada se eliminó la fórmula de cereales hasta los 10 meses de edad. Después se introdujo lentamente una fórmula comenzando con arroz y maíz. En los adultos, se eliminaron totalmente de su dieta los cereales y cualquier alimento y comida que los pudiera contener.

Pruebas “in vitro”

IgE específica: se determina la IgE específica a trigo, cebada y centeno y una batería de alimentos: leche, alfa-lactoalbúmina, beta-lactoglobulina, caseína, clara y yema de huevo, legumbre, frutos secos y pescado.

Se consideran como positivos los niveles de IgE mayores de 0,35 kU/L (rango: 0,51-100 kU/L)

IgE inmunodetección: se seleccionan 4 pools de sueros correspondientes a los grupos 1 (mezcla de 17 sueros de pacientes con alergia al trigo por ingestión), grupo 2 (14 pacientes con asma del panadero), grupo 3 (mezcla de 53 sueros de niños celíacos sin IgE específica a trigo) y grupo 4 (mezcla de 4 sueros de niños celíacos con IgE específica a trigo).

Los extractos de harina de cereales se separaron por SDS-PAGE en geles de Bio-rad y se transfirieron a membranas que se incubaron toda la noche en los pools de sueros.

El estudio se repitió ya que se creyó más útil realizarlo con los alimentos basados en cereales tal y como se consumen. Los alimentos procesados derivados de trigo se compraron en el supermercado: barra de pan blanco, pan integral, pan blanco de molde, pan integral de molde, pan tostado, pan tostado integral, pasta, galletas, pizza, cereales infantiles y cereales de desayuno.

-Se liofilizaron y desgrasaron con acetona en frío durante una hora a 4°C

-El sobrenadante fue dializado con un punto de corte de 3,5 kDa y liofilizado.

-La concentración de proteínas se determinó mediante el método Bradford.

Los extractos obtenidos fueron realizados para los siguientes estudios:

Pruebas cutáneas por micropunción: en todos los pacientes se realizó micropunción con extractos de proteínas solubles en sal de harina, y alimentos procesados derivados del trigo.

Test de provocación con alimentos: se utiliza pan tostado en prueba de provocación oral después de haber evaluado la prueba cutánea (SPT) porque fue con este pan tostado con la que se obtuvo la menor área de pápula cutánea y una inmunodetección negativa. La prueba de provocación comenzó con la ingesta de un gramo de pan al que le siguieron cinco gramos añadidos cada quince minutos. Se consideró una prueba negativa cuando se había comido una tostada sin haber dado lugar a la aparición de síntomas tras 24 horas de observación.

Estudios in vitro

Se emplea un pool de catorce sueros escogidos al azar de pacientes que padecen síntomas alérgicos relacionados con la ingestión de alimentos procesados de cereales. Se miden los anticuerpos IgE específicos al trigo y otros cereales.

Determinación IgE específica y test ELISA-Inhibición

Se realizan estudios con el método ELISA para determinar la IgE específica a los extractos de proteínas solubles en sal de los alimentos procesados derivados del trigo.

Se realiza también una inmunodetección con un pool de sueros de 8 pacientes alérgicos a ácaros pero no a alimentos ni pólenes, como control negativo.

Caracterización y purificación de proteínas

Mediante cromatografía secuencial fraccionada se obtuvieron fracciones enriquecidas de proteínas que acoplaban IgE de los dos principales panes de moldes integrales.

Digestión gastrointestinal in vitro

La harina pura y los extractos de proteínas solubles en sal de pan integral de molde fueron sometidos a digestión gastrointestinal simulada.

Análisis estadístico de los datos

Los datos obtenidos en los pricks fueron analizados utilizando el programa estadístico SPSS.11. Se estudió la distribución normal de las variables mediante el test Kolmogorov-Smirnov.

5. Resultados

Descripción de los resultados de las pruebas diagnósticas

En el grupo de los 57 niños con enfermedad celiaca (*tabla 4*) sólo cuatro niños tenían IgE específica a trigo y no a los alérgenos probados.

Catorce adultos con alergia a cereales (*tabla 2*) tuvieron una respuesta positiva a la provocación oral con el cereal sospechoso. Los alérgenos más importantes que dieron respuestas positivas fueron el trigo, seguidos de la cebada, harina de centeno y otras semillas. Todos los pacientes presentaron alérgenos positivos a LTP de trigo y a inhibidores de alfa-amilasa.

La *tabla 3* muestra los resultados de las pruebas realizadas en 14 pacientes que sufrían asma del panadero. Once de los 14 pacientes eran también sensibles a LTP de trigo. Siete pacientes con asma del panadero presentaban también sensibilización a semillas y frutas. El alérgeno que causó más pruebas positivas en la provocación bronquial fue la harina de trigo. Todos estos pacientes toleraban el consumo de pan, alimentos basados en cereales, semillas y frutas sin problemas.

En el otro grupo de pacientes (niños y adultos con alergia alimentaria) se recomendó dieta de exclusión de cereales. La respuesta clínica en niños fue favorable, pero sólo 3 adultos con anafilaxia mejoraron totalmente.

Resultados de las pruebas “in vitro”

Con el fin de evaluar si estaban involucradas similares proteínas en las reacciones alérgicas por inhalación y por ingesta, los extractos de diferentes

proteínas solubles de trigo, cebada y centeno y sus alérgenos purificados se fraccionaron por SDS-PAGE y se enfrentaron a los pools de sueros de pacientes en la IgE-inmunodetección. Las bandas proteicas de aparente tamaño molecular entre 7 y 90 KDa se detectaron con los extractos de cereales.

Sorprendentemente en la IgE-inmunodetección utilizando pools de sueros de pacientes sensibilizados a cereales por inhalación (adultos con asma del panadero) o por ingesta dieron patrones similares de detección de IgE a las mismas bandas proteicas en los tres extractos. Las bandas de 11-16 Kda (familia de inhibidores de la alfa-amilasa) se detectaron con trigo, cebada y centeno. Las mayores diferencias en los patrones de unión con la IgE se vieron con las proteínas de centeno de 35 a 80 Kda. Los sueros de pacientes con asma del panadero no respondieron al inhibidor CM3. Sin embargo, en la inmunodetección con pools de sueros de pacientes celíacos, se evidencia una respuesta al CM3. La respuesta a las LTP Tri a 14 y Pru p3 parece ser más importante en estos pacientes que la respuesta a inhibidores de alfa-amilasa.

Tanto los pacientes con hipersensibilidad a cereal por ingesta, como los pacientes con asma del panadero comenzaron inmunoterapia específica, con mejor respuesta en la actualidad en los pacientes con asma del panadero tras tres años de inmunoterapia. Los cuatro niños celíacos fueron tratados con la misma inmunoterapia ALK-Abelló y en la actualidad toleran pan tostado.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS CON EXTRACTOS DE ALIMENTOS PROCESADOS

Resultados de las pruebas cutáneas por micropunción (SPT)

Las áreas obtenidas con la micropunción con pan tostado integral fueron menores que con el resto de los extractos.

Las áreas correspondientes a la micropunción con trigo comercial, proteínas solubles en sal de la harina y extractos de pan de molde, fueron mayores que con pan tostado integral y pasta hervida.

Las áreas de la micropunción obtenidas con extractos de proteínas solubles en

sal fueron mayores que las obtenidas con extractos de trigo comercial.

La prueba de provocación oral se realizó en diez pacientes con el consentimiento informado sobre la misma. Seis pacientes (tres que sufrían asma relacionado con la ingesta de cereales y tres que sufrían asma y urticaria) no presentaron ningún problema tras la ingestión de pan tostado. Cuatro pacientes (tres que sufrían asma y anafilaxia, y uno con asma) presentaron síntomas de asma después de comer cinco gramos de tostada.

Unión de IgE frente a extractos solubles de proteínas de los alimentos procesados de trigo

Se separan las fracciones de proteínas de trigo solubles en sal de diferentes alimentos procesados de trigo. Mediante técnica ELISA se determina la IgE específica a los extractos, de un pool de sueros de pacientes con alergia alimentaria al trigo.

Inmunodetección de las proteínas solubles en sal de los alimentos procesados derivados del trigo

Los extractos de proteína solubles en sal fraccionadas mediante SDS-PAGE mostraron un patrón complejo de bandas de proteína con pesos moleculares de entre 5 y 100 kDa.

Identificación de proteínas que acoplan IgE

Para investigar la identidad de las proteínas del pan más destacadas que acoplan IgE, parcialmente resistentes al calor, se obtuvieron fracciones cromatográficas enriquecidas con las proteínas unidas a IgE.

Digestibilidad de las proteínas de la harina y el pan

Se realizaron pruebas de digestibilidad utilizando fluidos que simulan los jugos gástricos y duodenales sobre pan de molde integral y en extractos de harina cruda, mostraron que la mayoría de las proteínas de la harina y pan son fácilmente hidrolizadas por las enzimas digestivas.

6. Discusión

Este estudio evalúa la reactividad alérgica de cereales ingeridos o inhalados en diferentes edades, en pacientes alérgicos y celíacos, con el fin de investigar si la respuesta a diferentes alérgenos puede depender de la vía de sensibilización y si hay respuestas comunes en estas enfermedades consideradas hasta la actualidad independientes. Para ello comparamos la reactividad in vitro de diferentes proteínas purificadas de cereales en tres grupos de pacientes. La combinación de antitransglutaminasa y AGA es una técnica serológica muy útil en el diagnóstico de la enfermedad celíaca. En contraste, existe muy poca información publicada sobre los alérgenos responsables de la sensibilización a cereales por vía digestiva y sus implicaciones clínicas.

Este estudio encuentra que las vías inhalatorias y digestiva que causan alergia a cereales parecen involucrar alérgenos similares, resultados coincidentes con estudios previos³⁶. La mayor diferencia entre la respuesta de los pacientes celíacos y los otros dos grupos (pacientes con asma del panadero y pacientes con asma o anafilaxia tras la ingesta de cereales) fue la respuesta al inhibidor CM3 en pacientes celíacos con IgE positiva.

Diferentes investigaciones han confirmado la presencia de IgE específica contra albúminas y globulinas en sueros de niños con alergia a cereales, pero no en pacientes con celiaquía.

En cuatro de los niños celíacos del estudio, los resultados de las pruebas in vitro (positividad de IgE específica a cereales y anticuerpos antitransglutaminasa) les hacía pertenecer a las dos enfermedades (alérgica y celíaca).

Durante los últimos años, se indentificaron y purificaron diferentes proteínas alérgicas de trigo, cebada y centeno asociadas a la alergia a cereales, y se vio que pertenecían a una familia de inhibidores enzimáticos (proteínas de defensa de semillas) con capacidad para inhibir las alfa-amilasas de insectos y mamíferos^{37 38}. El siguiente paso fue investigar la actividad alérgica in vivo de estas proteínas, que tenían diferentes capacidades de unión con la IgE específica de pacientes alérgicos in vitro. Recientemente se han investigado

unas proteínas de defensa muy alergénicas, las proteínas transportadoras de lípidos (LTP), inicialmente se consideraron solo como alérgenos por ingestión, pero posteriormente, la LTP de trigo (Tri a 14) fue identificada como un alérgeno principal en el asma del panadero por inhalación de harina de trigo, y demostraba una reactividad cruzada con LTP de melocotón y otras frutas.

Otro hallazgo interesante es la pérdida de respuesta a la unidad tetramérica del inhibidor de la alfa-amilasa CM en pacientes celíacos sin IgE específica a trigo y en el pool de pacientes con alergia por vía inhalatoria.

La reactividad frente a algunas proteínas de cereales está aumentada en los niños por inmadurez del tracto gastrointestinal, mayor permeabilidad, función enzimática y mecanismos inmunológicos de defensa. La exposición temprana a alimentos sólidos en la infancia, así como una exposición inicial a cereales antes de los 6 meses, se han asociado al desarrollo de alergia³⁹.

La sensibilización a alérgenos alimentarios ocurre en la mayoría de los casos en los primeros años de vida. El mecanismo que predispone al niño a ser alérgico o celíaco es desconocido. Los regímenes dietéticos han demostrado una disminución de la incidencia de alergia a alimentos y dermatitis atópica, sin embargo, la prevalencia de los síntomas revierte a niveles normales una vez que el alimento alergénico es introducido. También pueden aparecer síntomas como resultado de sensibilización a otros alimentos con antígenos que presentan reactividad cruzada con alérgenos de cereales. En el caso de niños durante el periodo de lactancia, el régimen dietético es más efectivo.

DESARROLLO EN EL FUTURO DE LA INVESTIGACIÓN

La respuesta IgE específica a antígenos de cereales puede ser importante en pacientes que sufren enfermedad celíaca. La eficacia de la inmunoterapia en la enfermedad alérgica, y en concreto en el asma del panadero ya ha sido demostrada. Tratando de identificar y purificar los alérgenos implicados en las diferentes respuestas clínicas, se puede intentar una inmunoterapia específica para cada caso. En 4 de los niños con celíaca e IgE específica positiva y 2 niños con alergia digestiva se comenzó una inmunoterapia específica con cereales, y tras un año de tratamiento, los 6 pueden consumir pan tostado.

7. Conclusiones

- a) Es posible la sensibilización mediada por IgE a proteínas de cereales en pacientes celíacos.
- b) Celiaca y alergia digestiva a cereales no son dos enfermedades de diagnóstico excluyente
- c) El patrón de respuesta alérgica es similar en pacientes sensibilizados por vía inhalatoria y digestiva
- d) La respuesta inmune a extractos de harinas crudas es diferente a las harinas procesadas
- e) El motivo por el que los pacientes con asma por inhalación de cereales toleran su ingesta es debido a que la vía digestiva no fue la primera vía de sensibilización y desde niños han tolerado la ingesta de harina procesada. Al exponerse a la inhalación de harina cruda, se sensibilizan por vía inhalatoria a proteínas crudas.
- f) El calor parece alterar la inmunogenicidad del cereal. Tras inmunoterapia se observa una pérdida de respuesta al cereal tostado.
- g) Los niños celíacos pueden tener también una sensibilización alérgica mediada por IgE a trigo, lo cual abre la posibilidad de tratarles con inmunoterapia específica, útil en alergia por inhalación.

8. Bibliografía

- ¹ Bischoff SC. Food allergies. *Cru Gastroenterol Rep* 2006; 8:374-82
- ¹ Van Ree R. Clinical importance of non-specific lipid transfer proteins as food allergens. *Biochem Soc Trans* 2002; 30: 910-3
- ¹ Asero R, Misterio G, Roncarollo D, de Vries SC, Gautier MF, Ciurana CL. Lipid transfer protein: a pan-allergen in plant-derived foods that is highly resistant to pepsin digestion. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 122: 20-32
- ¹ García-Selles FJ, Díaz-perales A, Sánchez-Monge R, Alcántar m, Lombardero M, Barber D. Patterns of reactivity to lipid transfer proteins of plant foods and Artemisia pollen: an in vivo study. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 128:115-22
- ¹ Douliez JP, Michon T, Elmorjani K, Marion D. Structure, biological and technological functions of lipid transfer proteins and indlines, the major lipid binding proteins from cereal kernels. *J Cereal Sci* 2000; 32:1-20
- ¹ Enrique E, Ahrazem O, Bartra, Latorre MD, Castello JV, de Mateo JA. Lipid transfer protein is involved in rhinoconjunctivitis and asthma produced by rice inhalation. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 926-8.

- ¹ Varjonen E, Savolainen J, Mattila L, Kalimo K. IgE binding components of wheat, rye, barley and oats recognized by immunoblotting análisis with será from adult atopic dermatitis patients. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 481-9
- ¹ 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
- ¹ Barber D, Sánchez-Monge R, Gómez L, Carpizo J, Armentia A, López C, Juan F, Salcedo G, A barley inhibitor os insect alpha-amylase is a major allergen associated with baker's asthma. *FEBS Lett* 1989; 348: 119-22
- ¹ Barber D, Sánchez-Monge R, Gómez L, 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
- ¹ Armentia A, Sánchez Monge R, Gómez L, Barber D, Salcedo G. In vivo allergenic activities of eleven purified members of a major allergen fqamily from wheat and barley flour. *Clin Expo Allergy* 1993; 23: 410-15
- ¹ 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 Aelrgy* 1997; 27: 1130-7
- ¹ García Casado G, Sánchez-Monge R, Chrispeels MJ, Armentia A, Salcedo G. Role of complex asaparragine-linked glycans in the allergenicity of plant glycoproteins. *Glycobiology* 1996; 6: 471-7
- ¹ Plosuo k, Alenius H, Varjonen E, Kalkkinen N, Reúnala T. Rye gamma-70 and gamma-35 secalins and barley gamma-3 hordein cross-react with omega-5 gliadin, a major allergen in wheat-dependent, exercise-induced anaphylaxis. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 466-73
- ¹ Salcedo G, Sánchez -Monge R, García-Casado G, Armentia A, Gómez L, Barber D. The cereal a-amylase inhibitors cause occupational sensitization in the Wood ondustry. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 1286-91
- ¹ Urisu A, Yamada K, Matsuda S, Komada H, Wada E, Kondo Y. A 16-kDa rice protein is one of the major allergens in rice grain extract and responsable for cross-allergenicity between cereal grains in the Poaceae family. *Int Arch Allergy App Immunol* 1991; 96: 244-52
- ¹ Ellul P, Vasallo M, Montefor S. Association of asthma and allergic Rhinitis with celiac disease. *Indian J Gastroenterol* 2005; 24:270-1
- ¹ Hayssmann J, Sekar A. Chronic urticaria: a cutaneous manifestation of celiac disease. *Can J Gastroenterol* 2006; 20:291-3
- ¹ Gabrieli M, Candelli, Cremonini F, Ojetti V, Santarelli L, Nista EC, Nucera E, Schiavino D, Patriarca G, Gasvarrini G, Pola P, Gasvarrini A. Idiopathic chronic irticaria and celiac disease. *Dig Sci.* 2005; 50: 1702-4
- ¹ 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
- ¹ Barber D, Sánchez-Monge R, Gómez L, Carpizo J, Armentia A, López C, Juan F, Salcedo G, A barley inhibitor os insect alpha-amylase is a major allergen associated with baker's asthma. *FEBS Lett* 1989; 348: 119-22
- ¹ Barber D, Sánchez-Monge R, Gómez L, 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
- ¹ Armentia A, Sánchez Monge R, Gómez L, Barber D, Salcedo G. In vivo allergenic activities of eleven purified members of a major allergen fqamily from wheat and barley flour. *Clin Expo Allergy* 1993; 23: 410-15
- ¹ 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 Aelrgy* 1997; 27: 1130-7
- ¹ García Casado G, Sánchez-Monge R, Chrispeels MJ, Armentia A, Salcedo G. Role of complex asaparragine-linked glycans in the allergenicity of plant glycoproteins. *Glycobiology* 1996; 6: 471-7
- ¹ 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

- ¹ Poole JA, Barriga K, Leung DY, Hoffman M, Eisenbarth GS, Rewers M, Norris JM. Timing of initial exposure to cereal grains and the risk of wheat allergy. *Pediatrics* 2006; 117: 2175-82
- ¹ Shewry RP, Halford NG. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *J Exp Bot* 2003; 53: 947-958
- ¹ Chehade M, Mayer L. Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. *J Allergy Clin Immunol.* 2005 Jan; 115: 3-12
- ¹ Kim HJ, Hwang SJ, Kim BK, Jung KC, Chung DH. NKT cells play critical roles in the induction of oral tolerance by inducing regulatory T cells producing IL-10 and transforming growth factor beta, and by clonally deleting antigen-specific T cells. *Immunology* 2006; 118:101-11
- ¹ Marsh MN, Loft DE, Garner VG, Gordon D. Time dose responses of celiac mucosae to graded oral challenges with Frazer's fraction III of gliadin. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1992; 4:667-73
- ¹ Sampson HA. Food Allergy; *JAMA* 1997; 278: 1888-94
- ¹ Devenney I, Falth-Magnusson K. Skin prick test may give generalized allergic reactions in infants. *Ann Allergy* 2000; 85: 457-460
- ¹ Armentia A, Martín J, Quintero A, Fernández A, Barber D, Alonso E, Gil I. Baker's asthma: prevalence and evaluation of immunotherapy with wheat flour extract. *Ann Allergy* 1991; 65:265-72
- ¹ Kagnoff MF. AGA Institute Medical Position Statement on the Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Gastroenterology* 2006; 131: 1977
- ¹ 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
- ¹ García Casado G, Sánchez-Monge R, Chrispeels MJ, Armentia A, Salcedo G. Role of complex asparagine-linked glycans in the allergenicity of plant glycoproteins. *Glycobiology* 1996; 6: 471-7
- ¹ Armentia A, Bañuelos C, Arranz M, Martín Santos JM, Martín Gil FJ, Del Villar V, Paredes C. Early introduction of cereal into children's diet as a risk-factor of grass pollen asthma. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 1250-1255

9. Anexos

Tabla 2. Grupo 1: Pacientes que sufrían asma y anafilaxia debida a la ingestión de harina de trigo.

Edad/sexo	Síntomas/años de duración	IgE a trigo (KU/L)	SPT trigo (mm)	IgE a otros alimentos	SPT TriA 14	SPT Pru p3	SPT extracto trigo
30/F	Asma/4	7.72	5x5	Cebada 28.6 Centeno 8.61	6x6	5x5	6x6
45/F	Asma/20	>100	10x10	Cebada>100 Centeno>100 Arroz 15	4x4	5x5	10x10
20/F	Asma/20	27.9	5x5	Cebada 55.7 Arroz 3.29 Maiz 7.37 Melocotón 2	4x4	5x5	6x6
61/F	Asma/Anafilaxia/35	4.92	6x6	Centeno 5.03 Naranja 3.38 Cebada 5.45	5x5	5x5	6x6
28/M	Asma/Anafilaxia/2	11.4	6x7	Soja 1.92 Lenteja 1.41 Centeno 11.4 Cebada 8.22	6x6	2x2	7x7
48/F	Asma/24	3.1	5x5	Centeno 1.8 Cebada 1.5	5x5	3x3	6x6
25/F	Asma/Urticaria/5	2.28	5x5	Centeno 2.3 Cebada 0.78	6x6	2x2	6x6
22/F	Asma/4	2.26	5x5	Centeno 2.70 Cebada 2.82 Lolium 4.2	6x6	3x3	7x6
73/F	Asma/Urticaria/36	4.4	5x5	Centeno 2.3 Cebada 3.3	5x5	3x3	6x6
25/F	Asma/Urticaria/6	3.3	5x5	Centeno 2.1 Maiz 7.2	5x5	2x2	6x6
27/M	Asma/Anafilaxia/2	4.2	7x7	Crisantemo 6	6x6	6x6	6x7
32/M	Asma/8	5.3	6x6	Huevo 10.3 Cebada 5.6	6x6	3x3	5x7
25/F	Asma/10	4.8	6x6	Centeno 4.8 Cebada 17.8	6x6	5x5	7x7
12/M	Asma/Urticaria/2	3.2	6x6	Lenteja 0.45	6x6	3x3	6x6
9/M	Anafilaxia/9	5.2	6x6	Centeno 4	6x6	6x6	6x6
2/M	Anafilaxia/6	1.14	5x5	Cebada 2.3	5x5	5x5	6x6
1.5/M	Anafilaxia/3	7.3	5x5	Cebada 3.4	5x5	6x6	6x6

Tabla 3. Grupo 2: Pacientes que sufren asma por inhalación de harina de trigo

Edad/sexo	Síntomas/años duración	de	IgE trigo KU/L	SPT trigo (mm)	IgE alimentos otro	SPT TriA 14	SPT Pru p3	SPT extracto trigo
27/M	Asma/5		37.1	5x5	Centeno 30 Cebada 28 Melocoto 11.3	6x4	5x5	10x12
25/M	Asma/6		1.47	5x5	Centeno 6.5 Cebada 3.5 Manzano 0	4x4	2x2	12x14
52/M	Asma/32		1.76	4x5	Centeno 4.8 Cebada 2.3 Kiwi 0 Melon 0	3x3	4x4	8x8
30/M	Asma/12		0.97	4x4	Centeno 0.5 Cebada 0.5	2x2	2x2	5x5
31/F	Urticaria, asma/10		7.3	5x5	Cebada 10.3 Cacahuete 9.7 Lenteja 5.8 Avellana 1.16	1x1	1x1	8x8
36/M	Urticaria, asma/13		6.03	5x4	Cebada 4.04 Yema 5.30 Cacahuete 2	6x6	5x5	6x6
38/M	Rinoconjuntivitis, asma/12		0.51	4x4	Maiz 2.24 Centeno 0.51 Cebada 1.04	2x2	4x4	5x5
17/M	Asma/3		7.35	4x4	Cebada 0.7 Lenteja 18.1	5x5	10x10	10x10
51/M	Asma/18		2.3	5x4	Centeno 1.2 Cebada 1.9	5x5	3x3	5x5
31/M	Asma/8		12	6x6	Centeno 3 Cebada 6.7	6x6	3x3	6x6
36/M	Asma/15		2.05	6x6	Centeno 3 Cebada 3.05	6x6	2x2	8x8
52/M	Asma/22		22.2	6x7	Centeno 20 Cebada 18.3	7x7	5x5	8x8
41/M	Asma/14		14.6	7x7	Centeno 7.9	7x7	3x3	8x8
35/M	Asma/17		0.7	5x5	Maiz 3.4	5x5	2x2	6x6

Tabla 4. Grupo 3: niños con celiaquía

EmA IgA	Grado Marsh	IgE Trigo (KU/L)	IgE Cebada (KU/L)
Neg	IIIb	0.51	0.67
AtTG		0	0
+		0	0
AtTG	IIIb	0	0
+		0	0
AtTG		0	0

+		0	0
+		0	0
+	IIIa	0	0
+	IIIa-b	0	0
+	IIIc	0	0
AtTG		0	0
+	I	0	0
+	II-IIIa	0	0
+	IIIc	0	0
+	II-IIIa	0	0
+	IIIc	0.71	0
+	IIIa	0	0
DQ2-	IIIb	0	0
+	IIIc	0	0
+	IIIb	0	0
+	IIIb	0	0
+	II	0	0
+	IIIc	0	0
+	IIIb	0.90	1.03
+	II	0	0
+	IIIc	0	0
+	IIIb	0	0
+	IIIc	0	0
+		0	0
+		0	0
	IIIb	0	0
	IIIb	0	0
	IIIc	0	0
	IIIa	0	0
	IIIc	0	0
	IIIc	0.67	1.16
	IIIb	0	0
	IIIc	0	0
	IIIc	0	0
	IIIc	0	0
	IIIc	0	0
	II	0	0
	IIIa	0	0
	IIIc	0	0
	IIIc	0	0
DQ2-	IIIb	0	0
	II	0	0
		0	0
	I	0	0
+	IIIc	0	0
+	IIIc	0	0
+	II-IIa	0	0
	IIIb	0	0
+		0	0
AtGt+		0	0
AtGt+		0	0
AAG/AtTG+		0	0
	IIIb	0	0

-
- ² Bischoff SC. Food allergies. *Cru Gastroenterol Rep* 2006; 8:374-82
- ³ Van Ree R. Clinical importance of non-specific lipid transfer proteins as food allergens. *Biochem Soc Trans* 2002; 30: 910-3
- ⁴ Asero R, Misterio G, Roncarollo D, de Vries SC, Gautier MF, Ciurana CL. Lipid transfer protein: a pan-allergen in plant-derived foods that is highly resistant to pepsin digestion. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 122: 20-32
- ⁵ García-Selles FJ, Días-perales A, Sánchez-Monge R, Alcántar m, Lombardero M, Barber D. Patterns of reactivity to lipid transfer proteins of plant foods and *Artemisia* pollen: an in vivo study. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 128:115-22
- ⁶ Douliez JP, Michon T, Elmorjani K, Marion D. Structure, biological and technological functions of lipid transfer proteins and indlines, the major lipid binding proteins from cereal kernels. *J Cereal Sci* 2000; 32:1-20
- ⁷ Enrique E, Ahrazem O, Bartra, Latorre MD, Castello JV, de Mateo JA. Lipid transfer protein is involved in rhinoconjunctivitis and asthma produced by rice inhalation. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 926-8.
- ⁸ Varjonen E, Savolainen J, Mattila L, Kalimo K. IgE binding components of wheat, rye, barley and oats recognized by immunoblotting análisis with será from adult atopic dermatitis patients. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 481-9
- ⁹ 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
- ¹⁰ Barber D, Sánchez-Monge R, Gómez L, Carpizo J, Armentia A, López C, Juan F, Salcedo G. A barley inhibitor os insect alpha-amylase is a major allergen associated with baker's asthma. *FEBS Lett* 1989; 348: 119-22
- ¹¹ Barber D, Sánchez-Monge R, Gómez L, 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
- ¹² Armentia A, Sánchez Monge R, Gómez L, Barber D, Salcedo G. In vivo allergenic activities of eleven purified members of a major allergen fqamily from wheat and barley flour. *Clin Expo Allergy* 1993; 23: 410-15
- ¹³ 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 Alelrgy* 1997; 27: 1130-7
- ¹⁴ García Casado G, Sánchez-Monge R, Chrispeels MJ, Armentia A, Salcedo G. Role of complex asaparragine-linked glycans in the allergenicity of plant glycoproteins. *Glycobiology* 1996; 6: 471-7
- ¹⁵ Plosuo k, Alenius H, Varjonen E, Kalkkinen N, Reúnala T. Rye gamma-70 and gamma-35 secalins and barley gamma-3 hordein cross-react with omega-5 gliadin, a major allergen in wheat-dependent, exercise-induced anaphylaxis. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 466-73
- ¹⁶ Salcedo G, Sánchez -Monge R, García-Casado G, Armentia A, Gómez L, Barber D. The cereal a-amylase inhibitors cause occupational sensitization in the Wood ondustry. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 1286-91
- ¹⁷ Urisu A, Yamada K, Matsuda S, Komada H, Wada E, Kondo Y. A 16-kDa rice protein is one of the major allergens in rice grain extract and responsable for cross-allergenicity between cereal grains in the Poaceae family. *Int Arch Allergy App Immunol* 1991; 96: 244-52
- ¹⁸ Ellul P, Vasallo M, Montefor S. Association of asthma and allergic Rhinitis with celiac disease. *Indian J Gastroenterol* 2005; 24:270-1
- ¹⁹ Hayssmann J, Sekar A. Chronic urticaria: a cutaneous manifestation of celiac disease. *Can J Gastroenterol* 2006; 20:291-3
- ²⁰ Gabrieli M, Candelli, Cremonini F, Ojetti V, Santarelli L, Nista EC, Nucera E, Schiavino D, Patriarca G, Gasvarrini G, Pola P, Gasvarrini A. Idiopathic chronic irticaria and celiac disease. *Dig Sci.* 2005; 50: 1702-4
- ²¹ 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

-
- ²² 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
- ²³ Barber D, Sánchez-Monge R, Gómez L, 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
- ²⁴ 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
- 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: 1130-7
- ²⁶ García Casado G, Sánchez-Monge R, Chrispeels MJ, Armentia A, Salcedo G. Role of complex asparagine-linked glycans in the allergenicity of plant glycoproteins. *Glycobiology* 1996; 6: 471-7
- ²⁷ 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
- ²⁸ Poole JA, Barriga K, Leung DY, Hoffman M, Eisenbarth GS, Rewers M, Norris JM. Timing of initial exposure to cereal grains and the risk of wheat allergy. *Pediatrics* 2006; 117: 2175-82
- ²⁹ Shewry RP, Halford NG. Cereal seed storage proteins: structures properties and role in grain utilization. *J Exp Bot* 2003; 53: 947-958
- ³⁰ Chehade M, Mayer L. Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. *J Allergy Clin Immunol*. 2005 Jan; 115: 3-12
- ³¹ Kim HJ, Hwang SJ, Kim BK, Jung KC, Chung DH. NTK cells play critical roles in the induction of oral tolerance by inducing regulatory T cells producing IL-10 and transforming growth factor beta, and by clonally deleting antigen-specific T cells. *Immunology* 2006; 118:101-11
- ³² Marsh MN, Loft DE, Garner VG, Gordon D. Time dose responses of celiac mucosae to graded oral challenges with Frazer's fraction III of gliadin. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1992; 4:667-73
- ³³ Sampson HA. Food Allergy; *JAMA* 1997; 278: 1888-94
- ³⁴ Devenney I, Falth-Magnusson K. Skin prick test may give generalized allergic reactions in infants. *Ann Allergy* 2000; 85: 457-460
- ³⁵ Armentia A, Martín J, Quintero A, Fernández A, Barber D, Alonso E, Gil I. Baker's asthma: prevalence and evaluation of immunotherapy with wheat flour extract. *Ann Allergy* 1991; 65:265-72
- ³⁶ Kagnoff MF. AGA Institute Medical Position Statement on the Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Gastroenterology* 2006; 131: 1977
- ³⁷ 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
- ³⁸ García Casado G, Sánchez-Monge R, Chrispeels MJ, Armentia A, Salcedo G. Role of complex asparagine-linked glycans in the allergenicity of plant glycoproteins. *Glycobiology* 1996; 6: 471-7
- ³⁹ Armentia A, Bañuelos C, Arranz M, Martín Santos JM, Martín Gil FJ, Del Villar V, Paredes C. Early introduction of cereal into children's diet as a risk-factor of grass pollen asthma. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 1250-1255