

“EPISODIOS GRAVES DE ALERGIA A ALIMENTOS COMO POSIBLE DESENCADENANTE DE EVENTOS TROMBÓTICOS AUTOINMUNES”

Iglesias García, R.^{*}; Ibáñez Martínez de la Hidalga, E.^{**}; Armentia Medina, A.^{***}

^{*} Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Río Hortega

^{**} Gerencia de Salud de las Áreas de León

^{***} Servicio de Alergias del Hospital Universitario Río Hortega

INTRODUCCIÓN

Las reacciones inmunológicas, mediadas por IgE, a vegetales y frutas, en pacientes con síndromes alérgicos producidos por polen, son relativamente frecuentes.

Recientemente diferentes familias de proteínas de defensa frente a las plantas, como quitinasas de la clase I, Proteínas de transferencia de lípidos (LPTs), inhibidores de alfa-amilasas y taumatinas de cereales, han sido identificadas como alérgenos importantes en alergias por polen y alimentos vegetales.

Es conocido que las reacciones alérgicas severas por alimentos involucran los sistemas gastrointestinal, cutáneo, ocular, respiratorio y cardiovascular (1). Estas reacciones anafilácticas a alimentos casi siempre se producen de un modo inmediato al estímulo (2) y pueden ser diagnosticadas por ensayos cutáneos, determinaciones de IgE específica y estimulaciones si es necesario, pero las complicaciones clínicas derivadas de este síndrome están aún por establecer (3).

En nuestro estudio hemos detectado algunos casos de anafilaxia alimentaria seguidos de trombosis severa en menos de tres meses. En todos los casos, la anafilaxia fue producida por ingestión de alérgenos vegetales (semillas y frutas). Hace 4 años, estudiamos los casos de 4 pacientes que sufrieron este tipo de anafilaxia, seguido de trombosis de ambas venas ilíacas y cava inferior. Encontramos niveles moderados a

altos de anticuerpos IgG a cardiolipina y finalmente, los pacientes fueron diagnosticados de un síndrome antifosfolípido asociado a anafilaxia.

El síndrome antifosfolípido es una enfermedad de carácter autoinmune que presenta la asociación entre fenómenos de trombosis venosas recurrentes, pérdidas fetales, patología neurológica y la presencia del anticoagulante lúpico (4). Las moléculas reconocidas por los AAF tienen funciones dentro de hemostasia, en la que están incluidos los fosfolípidos. Este reconocimiento produciría las manifestaciones trombóticas que describen el síndrome. Por otra parte los anticuerpos antifosfolípido pueden reconocer elementos celulares de monocitos, plaquetas y células endoteliales, favoreciendo la expresión del factor tisular que actúa como activador de la coagulación (5). La inducción y formación de estos anticuerpos se postula la homología molecular con determinados péptidos bacterianos y víricos, e incluso últimamente se ha encontrado cierta relación con las micropartículas al igual que ocurre en otras enfermedades autoinmunes como el LES o la esclerosis sistémica (6).

En el presente estudio, relativo a 52 pacientes afectados de anafilaxia a semillas y frutos el objetivo de este estudio es determinar si existe una asociación entre el desarrollo de un cuadro anafiláctico debido a alergias a alimentos y la aparición de eventos trombóticos relacionados con el síndrome antifosfolípido.

METODOLOGÍA

Se diseñó un trabajo configurado como un estudio de carácter descriptivo de dos grupos de pacientes con las patologías a relacionar mediante variables clínicas y analíticas.

La selección de la muestra se realizó a partir de los pacientes que acudiesen al Servicio de Urgencias del Hospital Río Hortega de Valladolid o a la consulta de

Alergología, de los que seleccionamos de forma aleatoria simple pacientes afectados por cuadros de anafilaxia severa (grado III-IV de Müller) producida por semillas o frutos.

Por otra parte, se seleccionaron aleatoriamente 30 pacientes que presentaron criterios de Síndrome Antifosfolipídico (SAF) procedentes del Servicio de Medicina Interna y de la base de datos del Servicio de Hematología del Hospital Río Hortega de Valladolid.

Todos los pacientes siguieron el mismo protocolo de estudio con obtención de datos tanto clínicos como analíticos:

- Realización de una detallada historia clínica de alergia y de eventos tromboembólicos.
- Pruebas de punción cutánea con una batería de 36 alérgenos, incluyendo el alérgeno vegetal sospechoso de la reacción alérgica:
 - La técnica se realizó según los procedimientos habituales (7). Se utilizó un control negativo de solución salina estéril 0,9 % y un control positivo de fosfato de histamina 10 mg/mL para evaluar la reactividad cutánea.
- Cuantificación de IgE específica:
 - La IgE total para los mismos alérgenos utilizados en las pruebas de función cutánea fue determinada por el sistema CAP-FEIA IgE®, siguiendo las instrucciones del fabricante y los resultados se expresaron en kU/L (8).
- Determinación de anticuerpos anticardiolipina y anti-β2-GP1:
 - Los anticuerpos anticardiolipina IgG se determinaron mediante una técnica de ELISA siguiendo las recomendaciones comerciales

(INOVA Diagnostics. Inc. Anticardiolipina IgG-HRP).

- Los anticuerpos anti- β 2-GPI IgG e IgM también se determinaron mediante una técnica de ELISA (Dr. Fenning BioMed GmbH β 2glucoproteína IgG e IgM fr-elisa).

Se analizaron los datos descriptivos de las variables a estudio y de los datos demográficos de los sujetos. La normalidad se analizó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Para estudiar las diferencias entre las variables cuantitativas se utilizaron los test no paramétricos (U de Mann-Whitney) mientras que en caso de variables categóricas se utilizó la prueba de Chi cuadrado. De igual forma la correlación entre variables cuantitativas se estableció mediante la rho de Spearman.

El nivel de significación se consideró para una $p \leq 0,05$, por representar el valor de mayor grado de consenso científico al respecto.

Los datos fueron analizados utilizando el paquete SPSS para Windows v. 15 (SSPS Inc, Chicago, IL, EEUU).

RESULTADOS

La media de edad de los sujetos con anafilaxia fue de 20,9 años (DS=9,7 años y rango 12-69 años). De estos sujetos, 21 (40,4%) eran hombres y 31 (59,6%) mujeres. Entre los sujetos sensibilizados a nueces, todos los del grupo A (prick e IgE positivos) fueron mujeres con una media de edad de 20 años (DS=6,2 años y rango 20-40 años), mientras que todos los del grupo B (prick e IgE negativos) fueron hombres con una media de edad de 18 años (DS=2,6 años y rango 12-42 años).

Entre los 30 sujetos diagnosticados previamente de SAF y trombosis, 9 fueron hombres (30%) y 21 mujeres (70%) con media de edad de 45,9 años (DS=19,9 años y

rango 20-62 años).

La media de edad fue significativamente mayor en el grupo de SAF, obteniéndose una significación de $p < 0,0001$ para la prueba t de Student. Tanto en el SAF primario como en el secundario a LES se observa un predominio de mujeres (60% y 90% respectivamente).

El análisis estadístico de los resultados de las demás determinaciones analíticas se presenta en las siguientes tablas.

Descriptivos	AAC IgG	B ₂ -GP1 IgG	B ₂ -GP1 IgM	Media IgE	Media Prick
Z de Kolmogorov-Smirnov	3,4	2,908	2,841	3,193	2,097
p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,036

Tabla 1. Prueba de normalidad de las variables analíticas estudiadas.

Rho de Spearman	Coef. correlación	p	Grupo	Coef. correlación	p
AAC IgG vs B ₂ -GP1 IgG	0,565	<0,0001	Anafilaxia	0,179	0,203
			SAF	0,574	0,001
AAC IgG vs B ₂ -GP1 IgM	0,587	<0,0001	Anafilaxia	0,078	0,582
			SAF	0,364	0,048
AAC IgG vs Media IgE	-0,485	<0,0001	Anafilaxia	-0,210	0,134
			SAF	0,064	0,736
AAC IgG vs Media Prick	-0,267	0,015	Anafilaxia	-0,017	0,902
			SAF	0,120	0,526
B2-GP1 IgG vs B2-GP1 IgM	0,795	<0,0001	Anafilaxia	0,639	<0,0001
			SAF	0,679	<0,0001
B2-GP1 IgG vs Media IgE	-0,247	0,025	Anafilaxia	0,157	0,267
			SAF	0,165	0,385
B2-GP1 IgG vs Media Prick	-0,140	0,21	Anafilaxia	0,082	0,563
			SAF	0,148	0,434
B2-GP1 IgM vs Media IgE	-0,278	0,011	Anafilaxia	0,087	0,538
			SAF	0,323	0,081
B2-GP1 IgM vs Media Prick	-0,152	0,173	Anafilaxia	0,066	0,640
			SAF	0,297	0,111

Tabla 2. Correlación de Spearman entre pruebas de alergia y autoinmunidad y tras estratificar por grupos.

	χ^2	p	Grupo	χ^2	p
AAC IgG vs B2-GP1 IgG	19,527	<0,001	Anafilaxia	0,538	0,666
			SAF	5,89	0,064
AAC IgG vs B2-GP1 IgM	20,292	<0,001	Anafilaxia	2,556	0,173
			SAF	2,802	0,179
AAC IgG vs Media IgE	8,040	0,007	Anafilaxia	0,376	1
			SAF	0,039	1
AAC IgG vs Media Prick	9,232	0,003	Anafilaxia	0,376	1
			SAF	0,010	1
B2-GP1 IgG vs B2-GP1 IgM	38,904	<0,001	Anafilaxia	17,510	0,003
			SAF	8,666	0,003
B2-GP1 IgG vs Media IgE	5,584	0,031	Anafilaxia	0,185	1
			SAF	0,197	0,689
B2-GP1 IgG vs Media Prick	7,160	0,015	Anafilaxia	0,185	1
			SAF	0,049	1
B2-GP1 IgM vs Media IgE	3,122	0,094	Anafilaxia	0,062	1
			SAF	1,033	0,46
B2-GP1 IgM vs Media Prick	4,940	0,043	Anafilaxia	0,062	1
			SAF	0,475	0,713

Tabla 3. χ^2 entre pruebas de alergia y autoinmunidad y tras estratificar por grupos.

DISCUSIÓN

La prevalencia de fenómenos tromboembólicos depende de la edad del paciente, siendo más frecuentes a medida que aumenta la edad de estos (9). En el caso de nuestros sujetos la edad de inclusión en el estudio es mucho menor que la del grupo control formado por pacientes con SAF 1° o 2°, con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,0001$) entre las medias de 20 años. En los dos grupos, la edad de inclusión en el estudio es la propia de la patología que presentan según la literatura, aproximadamente 20 años para anafilaxia y 50 años para SAF.

En cuanto a la distribución de sexos también existen diferencias entre los grupos, 59,6% mujeres en el grupo de anafilaxia y 70% en el de SAF, siendo este último ligeramente menor de lo esperado según la literatura.

En los estudios de alergia se obtuvo una diferencia de medianas superior para el

grupo de anafilaxia, siendo de $8,84 \text{ mm}^2$ y con una significación de $p < 0,001$ para la prueba estadística U de Mann-Whitney.

El porcentaje de resultados positivos para el test de punción cutánea fue muy superior (44,7% mayor) en el grupo de anafilaxia 98,08% (41 sujetos) frente al 53,34% (16 sujetos) del grupo de SAF, aun así estos últimos muestran una mayor tasa de positivos que la descrita para la población general, 10,68 % (10).

Según la determinación de IgE específica para los distintos alérgenos estudiados se obtuvo una tasa de positivos de 98,08% (41 sujetos) en el grupo de anafilaxia y 56,67% (17 sujetos) en el grupo de SAF, por lo que la diferencia es ligeramente menor que en el caso del test de punción cutánea (54,74%) ya que hay 1 sujeto más con resultado positivo en el grupo de SAF. La tasa de positivos en población general, al igual que para el test de punción cutánea, es mucho menor (8,75%) que lo obtenido en el grupo de SAF, lo cual no es condición suficiente para establecer una relación directa entre el SAF y las alergias a alimentos pero representa un incremento de riesgo 4,06 veces superior de obtener un resultado positivo para la prueba de punción cutánea y 6,48 veces superior para la determinación de IgE específica.

La diferencia de las medianas de la determinación de IgE específica entre los grupos es de 2,51 kU/L, con una significación de $p < 0,001$ para la prueba estadística U de Mann-Whitney.

El análisis de correlación no paramétrica de Spearman entre los resultados obtenidos en la prueba de punción cutánea y las determinación de IgE específica resultó significativo ($p < 0,0001$), con un coeficiente de correlación de 0,841, lo cual parece adecuado teniendo en cuenta que son dos herramientas de diagnóstico y monitorización diferentes. Al analizar las variables de forma categórica se obtuvo un χ^2 de 75,408 con una significación de $p < 0,001$, lo que confirma los resultados

anteriores. Tras realizar la estratificación por grupos los análisis estadísticos continúan siendo significativos.

Por tanto, podemos establecer que la prevalencia de sujetos con alergia en el grupo de anafilaxia es la esperada (98,08%, tomando el valor de la cuantificación de IgE que es más específica) teniendo en cuenta que la selección de estos pacientes se realizó en base a la clínica que mostraron, mientras que en el grupo de SAF (56,67%) es mayor de la esperada si lo comparamos con las tasas observadas en población no seleccionada española, 14% en adultos y 20,8% en niños (10).

En el estudio de AAC llevado a cabo entre los 52 sujetos afectados de anafilaxia, 15 (28%) presentaron AAC en niveles positivos, de ellos 8 (15%) con niveles moderados o elevados (7 y 1 respectivamente). De los 30 sujetos diagnosticados de SAF 28 (93,3%) presentaron AAC positivos, todos ellos con títulos moderados o elevados (11 y 17 respectivamente).

Las medianas obtenidas son 6,5 UGPL/mL para el grupo de anafilaxia y 71 UGPL/mL para el grupo de SAF. La diferencia entre las medianas de los grupos es 64,5 UGPL/mL, siendo significativa según la prueba de comparación no paramétrica U de Mann-Whitney con una $p < 0,001$. Cabe destacar que la tasa de positivos en el grupo de anafilaxia es superior a lo esperado que sería del 1-7% en pacientes jóvenes sanos según los datos actuales. Este 28% se encuentra más cerca de las prevalencias típicas de pacientes con LES y otras patologías de carácter crónico, lo que parece significativo puesto que un 50-70% de los pacientes con LES desarrolla el SAF tras 20 años y por tanto cabría la posibilidad de tener que monitorizar a los pacientes con anafilaxia y AAC positivos a lo largo del tiempo. Además en otras patologías como la trombosis venosa profunda o embolia pulmonar se demostró un 24% de positivos para AAC, sugiriendo la necesidad de evaluar los AAC en este tipo de pacientes de manera

sistemática (11).

Se realizó un análisis de correlación entre la determinación de AAC y el resto de pruebas realizadas. Existe correlación significativa entre las diferentes determinaciones aunque los coeficientes obtenidos no son buenos.

En el grupo de sujetos con anafilaxia se obtuvieron 7 (16,7%) resultados positivos para anti- β 2-GP1 IgG y 3 (7,1%) para anti- β 2-GP1 IgM, mientras que en el grupo de sujetos con SAF se obtuvieron 21 (70%) y 17 (56,7%) respectivamente. Las medianas obtenidas fueron inferiores al punto de corte para ambos isotipos en el total de sujetos, pero si tenemos en cuenta los grupos se incrementa este valor en los sujetos con SAF hasta 38 UGPL/mL y 14,3 UMPL/mL, mientras que en el grupo de anafilaxia permanecen por debajo del punto de corte. La diferencia entre las medianas de los dos grupos fue 34,53 UGPL/mL para el isotipo IgG, siendo significativa según la prueba de comparación no paramétrica de Mann-Whitney $U = 269,0$ con una $p < 0,001$, y 12,87 UMPL/mL para el isotipo IgM, con una prueba de comparación no paramétrica de Mann-Whitney $U = 216,0$ con una $p < 0,001$.

Tras el análisis de correlación entre las determinaciones de anti- β 2-GP1 y los test de alergia en el total de individuos se obtuvo un resultado significativo perteneciente a la correlación entre los dos isotipos de anti- β 2-GP1, con un coeficiente de 0,795 y una significación $p < 0,0001$ y entre la determinación de anti- β 2-GP1 IgG e IgM con los resultados de IgE, pero con peores coeficientes. Al estratificar por grupos sólo se mantiene la correlación entre los isotipos de anti- β 2-GP1 con unos coeficientes ligeramente menores, 0,639 y 0,679 para anafilaxia y SAF respectivamente, ambos con significación de $p < 0,0001$. Por otra parte, los análisis de las variables categorizadas, tanto para el total de individuos como tras la estratificación, no coinciden con estos resultados de correlación a excepción de la

comparación entre isotipos de anti- β 2-GP1. Un estudio realizado con pacientes con trombosis venosa profunda y con infarto cerebrovascular demostró que la mediana de los AAC era superior en los casos en los que los anti- β 2-GP1 también eran positivos, 67 UGPL/mL frente a 21 UGPL/mL, $p < 0,0001$ (11).

Existe una similitud estructural existente entre las membranas animales y vegetales, pues todas las células eucariotas tienen fosfolípidos de membrana similares. Los fosfolípidos desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de la cascada de la coagulación, actuando como cofactor en varias reacciones ya que suministran la bicapa lipídica necesaria para que tenga lugar algunas reacciones imprescindibles. A este respecto y a nivel especulativo, es posible sugerir que las glicoproteínas y lipoproteínas a la que nuestros pacientes presentan respuesta inmune, poseen un comportamiento similar a la β 2-GP1, el cofactor imprescindible para la interacción entre los AAC y el antígeno. De esta forma, los síntomas podrían ser explicados por la existencia de autoanticuerpos frente a lipoproteínas de membrana con estructura similar a las de los alérgenos lipoprotéicos de membranas vegetales (12). La razón sería la sensibilización frente a la bicapa fosfolipídica de membrana de todas las células eucariotas (sean células endoteliales vasculares y células vegetales). En el SAP ha sido descrito un fenómeno de remodelado de la bicapa fosfolipídica en respuesta a la activación o apoptosis, definida como pequeñas vesículas liberadas de la membrana plasmática por exocitosis (13). La trombosis puede ser debida a la alteración de la cinética del equilibrio entre las reacciones procoagulantes y anticoagulantes (14). Este mecanismo se ha postulado también para la asociación entre SAF y cáncer, en el que se encuentra incrementado el riesgo de padecer episodios trombóticos.

Existe un papel de las plaquetas en la anafilaxia y algunos datos sugieren que la

activación de las plaquetas en pacientes con SAF esta relacionado con los anticuerpos anti β 2-GP1 y mediada a través de los receptores tipo ToII (TLR4), que resulta en un fenotipo protrombótico y proinflamatorio con síntesis y secreción de adhesinas y citoquinas proinflamatorias muy similares a las liberadas durante la respuesta anafiláctica a los alimentos vegetales (15).

El incremento de la prevalencia de las alergias a alimentos puede deberse a modificaciones de los hábitos alimenticios y a la evolución de la tecnología alimentaria. De hecho, las nuevas técnicas de procesado pueden aumentar la alergenicidad o crear neoalérgenos (16).

Por otra parte, la combinación de hidrólisis enzimática, calentamiento o el desarrollo de plantas modificadas genéticamente pueden ofrecer nuevas alternativas para desarrollar alimentos hipoalérgicos (17) que eviten en mayor medida el desarrollo de episodios de anafilaxia debida a componentes tanto proteicos como lipoproteicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Stuart H. Young. Alergias. Ediciones Granica S.A. 2005.
2. Javier Fernández. Alergia elemental. Universidad Miguel Hernández de Elche. 2003.
3. Beickert Z. Classification, diagnosis, and therapy of immunological aspects of disease according to reaction types. *Z Gesame Inn Med.* 1975; 15: 589-95.
4. Cervera R, Ruiz-Irastorza G. Avances en el síndrome antifosfolípido. Editorial Marge Médica Books. 2009.
5. Salmon JE, de Groot PG. Pathogenic role of antiphospholipid antibodies. *Lupus* 2008; 17: 405-11.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. *Arthritis Res Ther* 2008; 10:

7. Maneret-vautrin DA, Kanny G, Fremont S. Laboratory test for diagnosis of food allergy: Advantages, disadvantages and future perspectives. *Allerg immunol.* 2003;35:113-9.
8. Poon AW, Goodman CS, Rubin RJ. In vitro and skin testing for allergy: comparable clinical utility and costs. *Am J Managed Care.* 1998; 4:969-85.
9. Laflan MA, Bradshaw AE. Investigation of hemostasis. In: Dacie JV, Lewis SM, editors. *Practical hematology.* 8th ed. New York: Churchill Livingstone; 1995. p 298-99. 118.
10. Study of food allergy in Spanish population. *Allergol et Immunopathol* 2006; 34(5):185-93.
11. Henning Loch, Allan Wiik, IgG and IgM isotypes of anti-cardiolipin and anti- β 2-glycoprotein 1 antibodies reflect different forms of recent thrombo-embolic events, *Clin Rheumatol* 25: 246-250; 2006.
12. Salcedo G, Diaz-Perales A, Sanchez Monge R. Fruit Allergy: plant defence proteins as novel potential panallergens. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 1158-60.
13. Distler JH, Huber LC, Gay S, Sistler O, Pisetky DS: Microparticles as mediators of cellular cross-talk in inflammatory disease. *Autoimmunity* 2006; 39: 638-690.
14. Shi W, Chong BH, Chesterman CN: β 2 glycoprotein I is a requirement for anticardiolipin antibodies binding to activated platelets: differences with lupus anticoagulant. *Blood* 1993; 81: 1255-1262.
15. Pierangeli SS, Vega-Ostertag ME, Raschi E, Liu X, Romay-Penabad Z, DE Micheli V, Galli M, Moia M, Tincani A, Borghi MO, Nguyen-Oghalai T, Meroni PL. Toll-like receptor and antiphospholipid mediated thrombosis: in vivo

studies. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 1327-1333.

16. Vautrin M. Modifications of allergenicity linked to food technologies. *Allerg Immunol* 1998; 30:9-13
17. de Gregorio M, Armentia A, Díaz-Perales A, Palacín A, Dueñas-Laita A, Martín B, Salcedo G, Sánchez-Monge R. Salt-soluble proteins from wheat-derived fodstuffs show lower allergenic potency than those from raw flour. *J Agric Food Chem.* 2009; 57: 3325-30.