

Vol. 16. Extraordinario Núm. 2 Noviembre 2001
ISSN 175-734X

Alergología e Inmunología Clínica

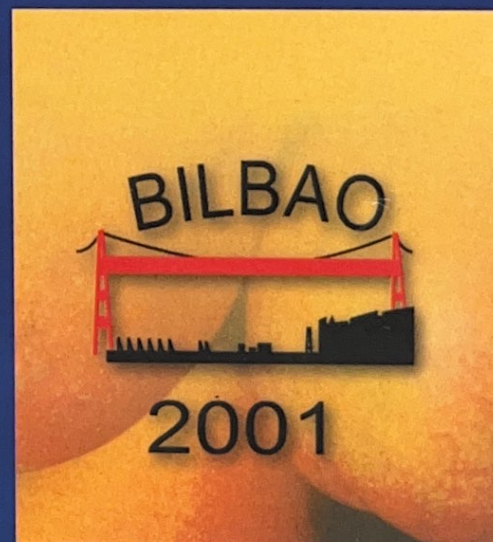
Publicación oficial de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica
Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Alergia, Asma e Inmunología

PONENCIAS Y

COMUNICACIONES

**SYMPOSIUM
INTERNACIONAL
DE ALERGIA
A ALIMENTOS**

**BILBAO,
8-10 DE NOVIEMBRE DE 2001**



saned
SANIDAD EDICIONES

Edición en inglés <http://www.seaic.es/revista>

iónico y HPLC, y se identificaron por sus secuencias N-terminales y su reconocimiento por anticuerpos policlonales monoespecíficos frente a Pru p 3 (LTP, y alérgeno mayoritario de melocotón). La reactividad de las proteínas purificadas se ensayó por CAP de inhibición y pruebas cutáneas *in vivo*.

Resultados y conclusiones: Se han detectado componentes que ligan IgE de 30-60 kDa (con posibles N-oligosacáridos complejos como determinantes antigénicos), 12 kDa y 9 kDa (con baja reactividad, posiblemente por su baja concentración en los extractos crudos). Los sueros mostraron un fuerte reconocimiento de Pru p 3. Se han aislado dos variantes de LTPs de espárrago, con niveles de identidad con Pru p 3 del % en los primeros residuos.

Experimentos preliminares indican que estas proteínas tienen una alta reactividad tanto *in vitro* como *in vivo*.

LTPs pueden ser alérgenos relevantes en la alergia ocupacional a espárrago.

3

Estudios *in vitro* de la alergia a naranja en seis pacientes

M. Lombardero¹, D. Ibáñez², J. Sastre³,
M. Martínez San Ireneo², D. Barber¹

¹Dpto. de I+D. ALK-Abelló. S. A. Madrid. ²S. de Alergia. Hospital Niño Jesús. Madrid. ³S. Alergia. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

A pesar de su gran consumo, los casos de alergia a naranja son raros y no hay datos sobre los alérgenos implicados. En el presente trabajo se ha estudiado la composición alérgica de la naranja.

Material y métodos: Se seleccionaron los sueros de 6 pacientes con síntomas alérgicos a naranja (principalmente SAO) y pruebas cutáneas a naranja positivas determinadas por *prick* (ALK-Abelló, S. A., Madrid) y *prick-prick* (piel y pulpa). La valoración de IgE específica se realizó por RAST directo, utilizando discos de papel sensibilizados con extracto de naranja y CAP. Las

inmuno-detecciones se realizaron mediante ECL después de SDS-PAGE.

Resultados: Los 6 pacientes tenían IgE específica a naranja, determinada por RAST y CAP. La inmunodetección de IgE con los sueros individuales mostró la presencia de IgE frente a diferentes componentes del extracto de naranja, de masas moleculares entre ~10 y 100 kDa. Se observaron dos componentes mayoritarios: uno tenía una masa molecular de ~13 kDa, detectado por 4/6 pacientes y otro de ~25 kDa detectado por 6/6 pacientes. Mediante inmunodetección con un antisuero anti-LTP de rosáceas se visualizó en el extracto de naranja una banda de masa molecular compatible con la del alérgeno de ~13 kDa. Los pacientes que reconocían a este alérgeno no reconocieron por inmunodetección a la LTP de melocotón, sugiriendo la existencia de una baja reactividad cruzada entre la LTP de rosáceas y la supuesta LTP de naranja.

Conclusiones: Los 6 casos estudiados con síntomas de alergia a naranja presentan una hipersensibilidad mediada por IgE. Se han detectado mayoritariamente 2 alérgenos en el extracto de naranja de masas moleculares aparentes de ~25 y 13 kDa. Este último alérgeno podría ser una LTP aunque harían falta experimentos adicionales para confirmarlo.

4

Quitinasas de clase I y síndrome de látex-frutas: papel de los dominios heveína y catalítico en su capacidad de ligar IgE

R. Sánchez-Monge¹, A. Díaz-Perales¹,
C. Blanco², M. Lombardero³, T. Carrillo²,
G. Salcedo¹

¹Unidad de Bioquímica, Departamento de Biotecnología, ETS Ingenieros Agrónomos, Madrid; ²Sección de Alergia, Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín, Las Palmas de G.C.; ³Departamento de I+D, ALK-Abelló, Madrid.

Introducción: Las quitinasas de clase I son los principales alérgenos de frutas asociados con la alergia a

látex. Estas enzimas poseen un dominio heveína N-terminal (homólogo a la heveína de látex), y un dominio catalítico mucho más extenso (homólogo al de quitinasas de clase II, sin dominio heveína). El papel de ambos dominios en su capacidad alergénica es motivo de controversia).

Material y métodos: Cas s 5 (la quitinasas de clase I y alérgeno principal de castaña) y su dominio catalítico (rCAT), se expresaron como proteínas recombinantes en la levadura *Pichia pastoris*. Ambos productos recombinantes fueron purificados, a partir del medio de cultivo de levaduras transformadas, por dos pasos cromatográficos sucesivos en columnas de filtración molecular e intercambio catiónico. La identidad de las proteínas recombinantes y su equivalencia con las nativas aisladas de semilla de castaña, se comprobó determinando su secuencia N-terminal, actividad enzimática y reconocimiento por anticuerpos policlonales mono-específicos frente a quitinasas. Su reactividad se ensayó por inmunodetección y experimentos de RAST, CAP e inmunoinhibición, utilizando sueros de pacientes con el síndrome látex-frutas.

Resultados y conclusiones: rCas s 5 y rCAT mostraron las secuencias N-terminales esperadas, así como una actividad enzimática y reactividad frente a anticuerpos anti-quitinasas similar a Cs s 5 y a una quitinasa de clase II purificadas se semilla de castaña. Sin embargo, sólo rCas s 5, pero no rCAT, fue reconocida por sueros de pacientes alérgicos en experimentos de inmunodetección e inmunoinhibición. En contraste con estos resultados, ensayos de RAST y CAP de inhibición (con extracto crudo de castaña en fase sólida), mostraron niveles de inhibición del 70-90% en el caso de rCas s 5 y Cas s 5 nativa y del 60% para rCAT y la quitinasa de clase II. La heveína de látex tuvo un efecto significativo en todos estos ensayos de inhibición.

Cas s 5 recombinante y nativa poseen una capacidad similar de unión de IgE *in vitro*. Si bien su dominio heveína incluye epítopos IgE principales, pero el dominio catalítico también parece tener epítopos relevantes.

5

Implicación de las profilinas en la reactividad cruzada entre alimentos y polen de *Platanus acerifolia*

E. Enrique, B. Bartolomé*, M.M. San Miguel-Moncín, R. Alonso, J. Bartra, A. Cisteró-Bahíma

Servicio de Alergia. Institut Universitari Dexeus. Barcelona. *Laboratorios Bial-Aristegui, I+D. Bilbao.

El *Platanus acerifolia* es causa de polinosis estacional en un número reducido de pacientes, a pesar de las altas concentraciones de polen detectadas en nuestro medio. La reactividad cruzada entre este polen y alimentos de origen vegetal ha sido descrita recientemente.

Pacientes y métodos: Se incluyeron pacientes que consultaron en nuestro Servicio por polinosis durante el último año. Se estudió en todos ellos la existencia de alergia respiratoria y alimentaria, mediante historia clínica y pruebas cutáneas con neuroalérgenos y alimentos vegetales.

Las pruebas *in vitro* realizadas incluyeron determinación de IgE específica frente a polen de plátano y alimentos, así como estudio de las masas moleculares de las proteínas fijadoras de IgE. Los estudios de reactividad cruzada entre los alérgenos involucrados se realizaron por las técnicas de SDS-PAGE *immunoblotting*-inhibición y RAST-inhibición con profilina purificada.

Resultados: De un total de 720 pacientes con polinosis, 61 (8,48%) presentaban sensibilización a polen de *Platanus*. El 52,45% de los pacientes alérgicos a este polen referían algún tipo de alergia alimentaria, manifestando anafilaxia en el 34% de los casos, prurito oral en el 25%, urticaria-angioedema en el 19% y el resto cuadros digestivos inespecíficos.

En el SDS-PAGE *immunoblotting* se observó un comportamiento diferente entre los pacientes con