



MÁSTER
UNIVERSITARIO EN
INVESTIGACIÓN
EN MEDICINA
CLÍNICA



FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

TRABAJO FIN DE MÁSTER

**Biomarcadores de utilidad diagnóstica en
pacientes con alergia a LTP de fenotipo grave**

Alumno: María Ruano Zaragoza

Tutores: Francisco Javier Fernández Sánchez

Purificación González

Fdo.:

Fdo.:

Curso: 2017-2018

Resumen:

La alergia a LTP supone un reto en la práctica clínica habitual. Los pacientes que padecen esta patología conforman un perfil muy heterogéneo tanto en la sensibilización (mono o polisensibilización) a diferentes alimentos de origen vegetal como en la sensibilización a pólenes, que está regida por las diferencias geográficas. Por ello, es fundamental identificar biomarcadores que permitan predecir fenotipos graves. **Objetivo:** Identificar biomarcadores (clínicos y proteicos) relacionados con la alergia a LTP de fenotipo grave, construyendo un patrón que permita predecir la gravedad de la reacción y el riesgo de presentarla. **Metodología:** Se trata de un estudio transversal, con una muestra de pacientes diagnosticados de alergia a LTP en el Hospital General Universitario de Alicante, siguiendo protocolos validados, que incluyen: pruebas cutáneas y determinación de IgE específica (se analizará por *microarray*), en el que se pretende estimar la proporción de sujetos con fenotipo grave de alergia a LTP, identificar biomarcadores y construir un modelo predictivo de alto riesgo de presentar una reacción. **Resultados:** De los 431 pacientes con alergia a LTP (56% mujeres, edad promedio: $34 \pm 11,675$ años), un 30% presentaban anafilaxia. **Conclusiones:** Respecto a la gravedad de la reacción, el sexo femenino tiene más probabilidad de presentar SAO, y se asocia a menor probabilidad de anafilaxia. Los antecedentes familiares de atopia aumentan las probabilidades de SAO y anafilaxia. La cosensibilización a Pru p 1 o Phl p 12 se asocia con menor probabilidad de anafilaxia. En cambio, dicha probabilidad parece aumentada con la cosensibilización a Ara h 8, Ara h 2 y/o Ara h 9.

Palabras clave: Proteína de transferencia de lípidos (LTP); Síndrome LTP; Anafilaxia por alimentos; Síndrome de alergia oral (SAO); Reactividad cruzada.

Abstract:

Diagnosis of allergy to LTP is challenging. Patients suffering from this pathology present a heterogeneous clinical picture in terms of sensitization (monosensitization vs. polysensitization) to both plant-based foods and pollens, governed by geographical differences. It is therefore crucial to identify biomarkers that allow the prediction of patients at risk of serious reactions. **Outcome:** To identify clinical and protein biomarkers related to LTP allergy of severe phenotype, building a pattern that allows to predict the severity of the reaction and the risk of presenting it. **Methods:** A cross-sectional study was conducted, with a sample of 431 patients diagnosed with LTP allergy in the General University Hospital of Alicante, following validated protocols, which include: skin tests and specific IgE determination (analyzed by microarray), in which will be intended to estimate the proportion of subjects with severe phenotype of LTP allergy, identifying biomarkers and building a predictive model of high risk of presenting a reaction. **Results:** Over the 431 participants (56% women, average age: $34 \pm 11,675$ years), 30% had anaphylaxis. **Conclusions:** Regarding the severity of the reaction, the female sex is more likely to present OAS, and is associated with a lower probability of anaphylaxis. Family history of atopy increases the odds of OAS and anaphylaxis. The cosensitization to Pru p 1 or Phl p 12 is associated with a lower probability of anaphylaxis. On the other hand, this probability seems to be increased with the cosensitization to Ara h 8, Ara h 2 and / or Ara h 9.

Keywords: Lipid-transfer protein (LTP); LTP syndrome; Food anaphylaxis; Oral allergy syndrome (OAS); Allergen cross-reactivity.

ÍNDICE:

| | |
|--|----|
| ☪ Aspectos preliminares: | |
| ○ RESUMEN / PALABRAS CLAVE | 2 |
| ○ ABSTRACT / KEYWORDS | 3 |
| ☪ Cuerpo del TFM: | |
| ○ INTRODUCCIÓN: ESTADO ACTUAL DE LA CUESTIÓN | 5 |
| ○ HIPÓTESIS | 9 |
| ○ OBJETIVOS | 10 |
| ○ METODOLOGÍA | |
| ▪ Diseño | 11 |
| ▪ Sujetos | 11 |
| ▪ Tamaño muestra y procedimiento | 11 |
| ▪ Variables a estudio | 12 |
| ▪ Recogida de variables | 12 |
| ▪ Análisis de datos | 12 |
| ▪ Dificultades y limitaciones | 13 |
| ○ PLAN DE TRABAJO | 14 |
| ○ ASPECTOS ÉTICOS | 16 |
| ○ APLICABILIDAD Y UTILIDAD DE RESULTADOS | 17 |
| ○ PRESUPUESTO | 19 |
| ○ RESULTADOS PRELIMINARES | 20 |
| ○ CONCLUSIONES PRELIMINARES | 26 |
| ☪ AGRADECIMIENTOS | 27 |
| ☪ BIBLIOGRAFÍA | 27 |
| ☪ ANEXOS | 32 |

Introducción:

La alergia a alimentos (AA) se define como una reacción adversa mediada inmunológicamente y en la que participan linfocitos Th₂ específicos en sangre periférica y mucosa intestinal, mientras que en no alérgicos se produce una respuesta Th₁ (1).

La prevalencia de AA es alta, hasta un 10% de la población (5% en adultos y 8% en niños), aumentando un 50% durante las últimas décadas. Se han identificado numerosos factores de riesgo genéticos y ambientales (2,3). Su incidencia también ha aumentado de forma importante, siendo los alimentos vegetales los desencadenantes principales en adultos y adolescentes a nivel mundial (4). Los pertenecientes a la familia de las Rosáceas son los más frecuentemente implicados, actuando las proteínas de transferencias de lípidos no específicas (del inglés *lipid transfer proteins* (LTPs) como sensibilizantes primarios (5–7).

Estas LTP son proteínas involucradas en la defensa de plantas contra hongos y bacterias. Son moléculas altamente conservadas, con estructura estable y compacta (siendo parcialmente resistentes a la proteólisis gastrointestinal, cambios de pH y procesos térmicos), considerándose panalérgenos, ya que se asocian con sensibilización a múltiples alimentos vegetales, particularmente importantes en el área Mediterránea (8–13).

Las LTP no sólo se han identificado en alimentos vegetales (como melocotón (Pru p 3), manzana (Mal d 3), cacahuete (Ara h 9) o nuez (Jug r 3)) (8,9,14,15), sino también en pólenes (artemisia (Art v 3) y plátano de sombra (Pla a 3)) (8,16), donde existe gran reactividad cruzada debido a su similitud estructural (8,16–19), aunque existen LTPs de otros pólenes (parietaria (Par j 1 y Par j 2) y olivo (Ole e 7)) donde dicha reactividad no parece estar relacionada con las de los alimentos (8,11,19). El nivel de LTP depende de varios factores, entre ellos la madurez, condiciones de almacenamiento y de cultivo de las frutas. Para la manzana, por ejemplo, la mayor concentración de LTP se encuentra en las más maduras, y los niveles de LTP disminuyen durante el almacenamiento (17).

Los pacientes sensibilizados a LTP forman un grupo muy heterogéneo tanto en su perfil de sensibilización, como en la gravedad de los síntomas que presentan. Por un lado, existen pacientes alérgicos a una LTP de una única fuente alergénica (frecuentemente Pru p 3), otros sensibilizados a diferentes LTP sólo de rosáceas y otros a múltiples LTPs de

fuentes alérgicas que no están relacionadas taxonómicamente y no siguen un patrón definido (9,11,14,16,20). Estos dos últimos grupos, que son los más frecuentes, se incluyen bajo la denominación “Síndrome LTP” (8,20).

Es relevante señalar que estas reacciones pueden ser graves como la anafilaxia (6,7,12,15,21–24) (la causa más frecuente de la cual es la AA (25)), pero incluso en sus formas leves y moderadas dichas reacciones tienen un alto impacto en la calidad de vida de los pacientes, debido fundamentalmente al número de vegetales implicados, que obliga a dietas muy restrictivas (25).

Aspectos relevantes y sin resolver de la alergia a LTP.

La alergia a LTP tiene peculiaridades que afectan a su diagnóstico y manejo, como son: (1) una marcada distribución geográfica, concentrándose especialmente en la zona mediterránea; (2) una expresión clínica extremadamente variable: desde sensibilización asintomática a anafilaxia grave; y (3) se ha asociado la presencia de alergias a pólenes, como profilinas, con una disminución de la gravedad de los síntomas.

Además, existen aspectos relevantes sin resolver como: (1) la relación entre las LTP de pólenes y alimentos vegetales y la influencia de la vía de sensibilización; (2) la relación entre los diferentes patrones de sensibilización a una o varias LTPs y la gravedad de los síntomas; y (3) el valor diagnóstico relativo de los niveles de IgE específica (IgEe) frente a diferentes LTPs.

Un aspecto interesante del síndrome de LTP es su distribución geográfica, ya que parece virtualmente ausente en el norte de Europa, debido a que la mayoría de los estudios realizados provienen de España, Italia, Portugal o Grecia (22,26,27). Esto ha hecho hipotetizar que factores ambientales locales, como la dieta y la exposición a determinados pólenes, influyan en la vía de sensibilización, sugiriéndose dos posibilidades (17,27): (1) sensibilización por la ingesta, a través de los alimentos, donde Pru p 3 se ha considerado tradicionalmente como el principal responsable y (2) sensibilización vía respiratoria por pólenes, donde Pla a 3 y Art v 3, que comparten un 40% de homología con Pru p 3, se han considerado los principalmente implicados (12,18,19,28,29).

Este tema ha generado controversia, ya que mientras algunos autores sugieren que la reactividad a Art v 3 en pacientes alérgicos a melocotón es un epifenómeno sin

implicaciones clínicas (8,27), otros han demostrado mediante test de provocación nasal específica (TPNE) que Art v 3 puede inducir síntomas respiratorios en pacientes con sensibilización primaria a Pru p 3 (18). Además, no toda la reactividad clínica puede explicarse por la reactividad cruzada inmunológica debida a una homología estructural entre diferentes LTP. De hecho, se ha demostrado que Ole e 7, alérgeno con una homología con Pru p 3 menor del 30% (8,19,28), puede estar involucrado hasta en un 80% de los pacientes alérgicos a vegetales por sensibilización a LTP, principalmente melocotón y cacahuete (8), aunque esta relación no ha sido observada en otros estudios (11,19,27,28).

Estudios realizados en diferentes áreas geográficas han demostrado diferencias en los patrones de sensibilización a LTP de pólenes de Olivo, Plátano de sombra y Artemisia (Ole e 7; Pla a 3 y Art v 3) (28,29). Así, mientras que Pla a 3 es reconocido por un porcentaje similar de pacientes en Málaga y Barcelona, otros como Ole e 7 y Art v 3 muestran un patrón diferencial de reconocimiento, siendo Ole e 7 relevante en Málaga, hasta en un 24% de pacientes con rinitis (28) y Art v 3 en Barcelona, hasta en un 50% de pacientes con alergia a vegetales por LTP (29,30).

Las diferencias encontradas en los estudios sobre la posible relación de la sensibilización a LTPs de pólenes y su influencia con la alergia a vegetales, nos hace plantear la necesidad de una evaluación en detalle del perfil de sensibilización a pólenes en pacientes con alergia a LTP en las diferentes zonas geográficas.

En la actualidad se desconocen los factores que influyen en la gravedad de la reacción en los pacientes alérgicos a LTP. De hecho, no se puede prever cuál es la ingesta mínima capaz de inducir una reacción, ni la respuesta a otros alimentos vegetales, además del melocotón, en estos pacientes (7,15,19,31,32).

Los dos factores que se han analizado han sido la cosensibilización a pólenes y la polisensibilización a diferentes alimentos vegetales. Analizando el papel de la cosensibilización a pólenes, existe consenso de que los pólenes de la familia PR-10 o profilinas ejercen un efecto protector de la gravedad de la reacción alimentaria a LTP (8,15,27). En cuanto a la polisensibilización, diferentes estudios han relacionado la sensibilización a diferentes LTP de alimentos (más de 5) con reacciones graves (8,33).

Otro factor que se ha analizado en relación a una posible asociación con la gravedad de los síntomas han sido los niveles de IgEe a LTP, no habiéndose podido, por el momento, demostrar una relación clara (8,20,34,35).

Del análisis de todos estos estudios surge la necesidad de identificar cuáles son las variables que nos pueden ayudar a caracterizar los pacientes sensibilizados a LTP, especialmente aquellos con un fenotipo grave, analizando el papel de la monosensibilización frente a la polisensibilización a LTP de pólenes y alimentos vegetales y el de la IgEe mediante el uso de herramientas *in vitro* adecuadas.



Hipótesis:

La evidencia preliminar parece indicar que los pacientes alérgicos a LTP con reactividad a más de 5 LTPs y/o no sensibilización a PR10/profilina o Par j 2 se asocian a un mayor número de reacciones sistémicas a alimentos. El análisis de variables clínicas y de laboratorio, entre las que se incluyen los perfiles de sensibilización a diferentes alérgenos alimentarios y pólenes, en una población de pacientes alérgicos a LTP de la provincia de Alicante nos va a permitir identificar biomarcadores relacionados con fenotipos graves, que puedan ser aplicados al diagnóstico y manejo de estos pacientes.



Objetivos:

1. Identificar biomarcadores de utilidad diagnóstica en pacientes alérgicos a LTP de fenotipo grave.

1.1. Identificar biomarcadores (clínicos y proteicos) relacionados con la alergia a LTP de fenotipo grave, construyendo un patrón que permita predecir la gravedad de la reacción y el riesgo de presentarla, mediante el establecimiento de un registro con variables clínicas y de laboratorio de pacientes con alergia a LTP.

2. Conocer las características clínicas de nuestros pacientes con síndrome de LTP.

3. Conocer los alérgenos implicados en nuestros pacientes.



METODOLOGÍA

Diseño:

Estudio transversal en el que se pretende estimar la proporción de sujetos con fenotipo grave de alergia a LTP, identificar biomarcadores y construir un modelo predictivo de alto riesgo de presentar una reacción.

Lugar:

Servicio de Alergología del Hospital General Universitario de Alicante (HGUA).

Tiempo de ejecución:

Diciembre de 2017 a junio de 2018.

Sujetos:

Pacientes diagnosticados de alergia a LTP, siguiendo protocolos validados, que incluyen: pruebas cutáneas (PC) y determinación de IgEe.

- **Criterios de inclusión:** Consentimiento informado firmado, hombres o mujeres entre 0-85 años con alergia a LTP, positividad en PC y en IgEe a LTP.

- **Criterios de exclusión:** Embarazo o lactancia, enfermedades inmunológicas, tratamientos con inmunomoduladores y/o beta-bloqueantes, enfermedad mental, dermatitis atópica grave, FEV1 < 70%.

Cálculo del tamaño muestral:

Se calcula el tamaño muestral para estimar una prevalencia de enfermedad (anafilaxia). Para ello se asumen los siguientes parámetros: error tipo I del 5%, proporción esperada de la enfermedad 30% (anafilaxia) y una precisión del 4.5%. El valor esperado se obtuvo

del peor de los escenarios en la literatura (6,7,12,13,15,21–23,25). Con estos datos se obtuvo un tamaño muestral de 399 pacientes.

Variables a estudio:

Principal: a) PC positiva a LTP (que nos indica si existe o no sensibilización);

Secundarias: a) **Cuantitativas:** Edad (años), IgE total (kU/L), IgE específicas (KUA/L).

b) **Cualitativas:** género, antecedentes familiares de atopia, sensibilización a pólenes (LTP, Profilinas, PR-10), rinitis/conjuntivitis/asma, clínica (síndrome de alergia oral/urticaria/angioedema/gastrointestinal/anafilaxia/shock).

Recogida de variables:

- **Pruebas cutáneas.** Se realizarán con neumoalérgenos (Olivo, Gramíneas, Salsola, Parietaria, Artemisia, Plátano de sombra, Abedul, Plantago, Ciprés y Chenopodium) y alimentos (LTP de melocotón, castaña, nuez, avellana, almendra, cacahuete, pipas de girasol, pistacho y piñón) (ALK-Abelló, SA).

- **Determinación de IgE específica.** Se analizarán por *microarray* (29), realizado en el Área de Alergia del laboratorio de Análisis clínicos cuyo responsable es el Dr. Ángel Esteban, con un panel que incluye, entre otros, Pru p 3, Ara h 9, Ara h 2, Art v 1, Art v 3, Cor a 8, Jug r 3, Ole e 7, Ole e 1, Par j 2, Pla a 3 y Tri a 14.

Análisis de datos:

Se realizará un análisis descriptivo y bivalente intermedio para variables cuantitativas mediante T de Student o U de Mann-Whitney en función de los criterios de normalidad (test de Shapiro-Wilk). En condiciones de no normalidad se aplicará el test de Kruskal Wallis o la U de Mann Whitney (corrección de Bonferroni). El análisis de asociación entre variables cualitativas se realizará mediante Chi-cuadrado o prueba exacta de Fisher. Se trabajará con un nivel de confianza del 95% considerándose valores de $p < 0.05$ estadísticamente significativos. Se usará el software estadístico SPSS versión 19.

Dificultades y limitaciones:

Una posible limitación del estudio podría ser que la evaluación estaba limitada a las isoformas moleculares representadas en el biochip de ISAC y no por IgEe mediante InmunoCAP, que pueden tener pequeñas diferencias.



PLAN DE TRABAJO:

- 1) Inicio del proyecto: diciembre 2017, elaboración de protocolo de investigación.
- 2) Meses 1º al 3º: Recoger los datos y meterlos en la base de datos. Se implementará el registro con los respectivos datos retrospectivos. Además, se realizará la selección de pacientes.
- 3) Meses 4º al 6º: Realización del análisis estadístico, interpretación de los resultados y preparación del manuscrito para su publicación y/o presentación delante de un Tribunal.

Distribución de las tareas:

Investigador/a principal: Dra. M. Ruano (médico residente de Alergología del Hospital General Universitario de Alicante). Se encargará del muestreo de los pacientes, la recogida de los datos y su posterior análisis, contando con el asesoramiento de la Dra. Purificación González, y del prof. J. Fernández Sánchez, que se encargará de dirigir el proyecto de investigación, supervisará la correcta cumplimentación de las tablas expuestas, así como el análisis de los resultados.

Los estudios mediante *Microarrays* se realizan en el laboratorio de alergia del HGUA, supervisados por el Dr. Ángel Esteban, con experiencia demostrada en estudios inmunológicos y de reacciones de hipersensibilidad a alérgenos.

Cronograma de las actividades:

| ACTIVIDAD/TAREA | PERSONA/S INVOLUCRADA/S | MESES | | | | | | | | | | | | |
|---|--|-------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | E | F | M | A | M | J | J | A | S | O | N | D |
| Selección de pacientes para estudio descriptivo | M. Ruano, T. Jiménez, | | | | | | | | | | | | | |
| | M. Lindo, A. Esteban, | 2017 | | | | | | | | | | | | ✓ |
| | J. Fernández, P. González y V. Soriano | 2018 | | | | | | | | | | | | |
| Implementar registro y base de datos | M. Ruano, T. Jiménez, | | E | F | M | A | M | J | J | A | S | O | N | D |
| | J. Fernández y A. Esteban | 2017 | | | | | | | | | | | | ✓ |
| | | 2018 | ✓ | ✓ | ✓ | | | | | | | | | |
| Análisis de resultados y publicaciones: Estudio descriptivo | M. Ruano, P. González y J. Fernández | | E | F | M | A | M | J | J | A | S | O | N | D |
| | | 2017 | | | | | | | | | | | | |
| | | 2018 | | | | ✓ | ✓ | | | | | | | |



ASPECTOS ÉTICOS:

Se ha obtenido la aprobación del proyecto por parte del Comité de Ética e Investigación Clínica del Hospital General Universitario de Alicante (HGUA). Este trabajo es una parte a realizar en el HGUA del proyecto (Número de FIS del proyecto: PI 17/01318 del Instituto Carlos III) cuya investigadora principal es la Dra. Francisca López del IBIMA del Hospital Regional Carlos Haya de Málaga.



APLICABILIDAD Y UTILIDAD DE RESULTADOS:

Capacidad del proyecto de abordar los objetivos y prioridades enmarcadas en el reto Salud, Cambio Demográfico y Bienestar de la Estrategia Española de Ciencia, Tecnología e Innovación.

El proyecto se encuadra en el apartado de enfermedades inflamatorias y crónicas. La AA es una entidad clínica que se produce por una reacción de hipersensibilidad. La importancia del proyecto se manifiesta cuando se reconoce que la AA está actualmente considerada como una epidemia, siendo los vegetales el grupo de alimentos principalmente implicados tanto en la población adolescente como en la adulta. Además, hay que considerar que la alergia a vegetales por sensibilización a LTP se asocia de forma frecuente con polisensibilización, como consecuencia de la gran reactividad cruzada que presenta. Esto conlleva problemas de sobrediagnóstico y de manejo, ya que los pacientes evitan la ingesta de múltiples alimentos de origen vegetal, lo que produce una gran disminución de su calidad de vida. Además, la alergia a LTP, fundamentalmente en el área mediterránea, está asociada a reacciones graves que pueden poner en riesgo al paciente, tanto en su vida diaria como durante su diagnóstico, debido a la necesidad de llevar a cabo pruebas de provocación con múltiples alimentos. Los resultados obtenidos en este proyecto nos permitirán identificar biomarcadores relacionados con fenotipos graves, que puedan ser aplicados a mejorar la precisión del diagnóstico.

El objetivo planteado en este proyecto tiene gran relevancia desde el punto de vista clínico y traslacional. Dicho objetivo, aborda la necesidad de identificar biomarcadores tanto clínicos como proteicos, que nos permitan identificar pacientes con fenotipo grave. De esta forma, los resultados tendrán una **traslación en la práctica clínica** para la mejora en la evaluación de los pacientes, estableciéndose un diagnóstico preciso. Por otro lado, como se ha descrito a lo largo del proyecto, existen múltiples controversias relacionadas con esta patología, debido a la heterogeneidad de los estudios y a diferencias geográficas, por lo que resulta importante plantear proyectos en diferentes áreas geográficas a las ya descritas o estudiadas en la literatura hasta el día de hoy.

Los resultados obtenidos ayudarán a establecer pautas de actuación comunes que se podrán plasmar en guías de práctica clínica consensuadas, lo que repercutiría

directamente en la **mejora de la calidad de vida** del paciente y un mejor aprovechamiento de los recursos sanitarios.

También resulta relevante el estudio, puesto que se ha descrito que los alérgenos lábiles (como PR-10 y profilinas) rara vez causan clínica sistémica pero, en cambio, sí la suelen producir los considerados “estables” (como las LTPs) (3,8,15). Por ello, es interesante estudiar estos perfiles para poder prever dichas reacciones.

Es interesante estudiar dichos perfiles en nuestra población, dada la mayor prevalencia de sensibilización a LTPs en los países mediterráneos (sabiendo que, por otro lado, también se ha observado y descrito menor prevalencia de síntomas sistémicos en los países del Norte y Centro de Europa, dada la menor sensibilización a LTPs, y mayor sensibilización a alérgenos lábiles en estos países) (15).

Medios disponibles para la realización del proyecto.

- **Sección de Alergología del HGUA.** Dicho servicio cuenta con una Unidad de Alimentos que cuenta con personal médico y de enfermería para el estudio de la hipersensibilidad a alimentos. La unidad cuenta con áreas específicas para realizar el resto de pruebas alérgicas y test específicos necesarios para este estudio.

- **Laboratorio de Investigación del HGUA** está totalmente equipado y también consta de diferentes áreas: biología molecular, citometría de flujo, cultivos celulares, inmunohistoquímica, inmunoanálisis y bioquímica.

PRESUPUESTO:

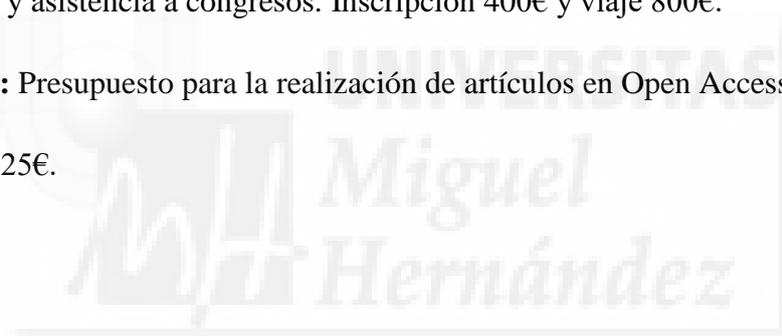
El proyecto que se presenta abarca diferentes áreas de trabajo desde la monitorización clínica de los pacientes, pasando por estudios inmunológicos tanto *in vivo* como *in vitro* en células de pacientes alérgicos a LTP, que se realiza en la consulta de Alergia en forma de diagnóstico clínico habitual y con el proyecto FIS antes mencionado, por lo que no es necesario ningún aparataje adicional. Sin embargo, sí se necesitan presupuestos específicos para completar este TFM en otros apartados:

Material: En este apartado se prevé la adquisición de equipamiento informático para uso de los investigadores que participan en el proyecto. Equipo portátil de 625€.

Viajes y dietas: Teniendo en cuenta la necesidad de difusión de resultados que se obtengan de forma parcial o total, será necesaria una partida en el presupuesto para inscripciones y asistencia a congresos. Inscripción 400€ y viaje 800€.

Otros gastos: Presupuesto para la realización de artículos en Open Access. 900€.

TOTAL: 2.725€.



RESULTADOS PRELIMINARES

Sobre un total de 431 pacientes sensibilizados a LTP estudiados, que supera en número los 399 del tamaño muestral:

- El 56% eran mujeres y el 44% hombres. La media de edad fue de 34 años, con un rango de 5-77 años ($\pm 11,675$).
- El 71% referían antecedentes familiares de atopia.
- Un 76% presentaban rinitis, un 47% síntomas oculares, un 35% asma bronquial y un 23% el conjunto de ambas tres.
- El 11% presentaban dermatitis atópica.
- Un 53% de los pacientes referían SAO, el 59% urticaria, un 43% angioedema, un 30% anafilaxia y un 6% había presentado, al menos, un episodio de shock anafiláctico.

Tabla 1. Variables medidas que presentan asociación positiva (estadísticamente significativa, con una $p < 0,05$) con LTP (medida en mm en prueba cutánea).

| | Variable | Coefficiente de correlación | P valor | Función biológica | Origen |
|------------------------------|-----------|-----------------------------|---------|-------------------|----------------------------|
| PC | Cacahuete | +0,15 | 0,021 | | |
| | Pistacho | +0,16 | 0,010 | | |
| | Melocotón | +0,6 | 0,000 | | |
| Alérgenos moleculares | Ara h 9 | +0,19 | 0,000 | LTP | <i>Arachis hypogaea</i> |
| | Art v 3 | +0,18 | 0,000 | LTP | <i>Artemisia vulgaris</i> |
| | Cor a 8 | +0,21 | 0,000 | LTP | <i>Corylus avellana</i> |
| | Jug r 3 | +0,29 | 0,000 | LTP | <i>Juglans regia</i> |
| | Pla a 3 | +0,20 | 0,000 | LTP | <i>Platanus acerifolia</i> |
| | Pru p 3 | +0,32 | 0,000 | LTP | <i>Prunus persica</i> |

Tabla 2. Variables medidas que presentan asociación negativa (estadísticamente significativa, con una $p < 0,05$) con LTP (medida en mm en prueba cutánea). CCD: determinante carbohidratado; Prot: proteína; ASB: albúmina sérica bovina.

| | Variable | Coefficiente de correlación | P valor | Función biológica | Origen |
|------------------------------|------------|-----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| PC | Uso ITE | -0,21 | 0,000 | | |
| | Gramíneas | -0,13 | 0,009 | | |
| | Salsola | -0,13 | 0,010 | | |
| | Parietaria | -0,20 | 0,000 | | |
| | Plantago | -0,18 | 0,000 | | |
| Alérgenos moleculares | Ole e 7 | -0,18 | 0,000 | LTP | <i>Olea europea</i> |
| | Par j 2 | -0,30 | 0,000 | LTP | <i>Parietaria judaica</i> |
| | Act d 1 | -0,16 | 0,001 | Cisteína proteasa | <i>Actinidia deliciosa</i> (kiwi) |
| | Alt a 1 | -0,11 | 0,026 | Desconocida | <i>Alternaria alternata</i> |
| | Bos d 4 | -0,14 | 0,004 | α -lactalbúmina | <i>Bos domesticus</i> |
| | Bos d 5 | -0,11 | 0,028 | β -lactalbúmina | <i>Bos domesticus</i> |
| | Bos d 6 | -0,11 | 0,028 | ASB | <i>Bos domesticus</i> |
| | Bos d 8 | -0,12 | 0,011 | Caseína | <i>Bos domesticus</i> |
| | Can f 2 | -0,12 | 0,016 | Lipocalina | <i>Canis familiaris</i> |
| | Can f 5 | -0,11 | 0,020 | Calicreína | <i>Canis familiaris</i> |
| | Che a 1 | -0,11 | 0,030 | Prot. "Ole e 1-like" | <i>Chenopodium album</i> |
| | Cor a 9 | -0,11 | 0,011 | Globulina 11S | <i>Corylus avellana</i> |
| | Cry j 1 | -0,12 | 0,015 | Pectato liasa y CCD | <i>Cryptomeria japonica</i> |
| | Cup a 1 | -0,14 | 0,003 | Pectato liasa y CCD | <i>Cupressus arizonica</i> |
| | Cyn d 1 | -0,16 | 0,001 | Expansina y CCD | <i>Cynodon dactylon</i> |
| Fel d 1 | -0,13 | 0,007 | Uteroglobina | <i>Felis domesticus</i> | |
| Gly m 6 | -0,10 | 0,035 | Prot. de tipo legumínico | <i>Glycine max</i> (soja) | |
| Jug r 1 | -0,10 | 0,045 | Albúmina 2S | <i>Juglans regia</i> | |

| | | | | |
|----------|-------|-------|---------------------------------|------------------------|
| Jug r 2 | -0,10 | 0,018 | Vicilina y CCD | <i>Juglans regia</i> |
| MUXF3 | -0,10 | 0,031 | CCD | <i>Ananas comosus</i> |
| Ole e 1 | -0,20 | 0,000 | Prot. inhibidora triptasa y CCD | <i>Olea europea</i> |
| Phl p 1 | -0,12 | 0,010 | Expansina y CCD | <i>Phleum pratense</i> |
| Phl p 11 | -0,12 | 0,012 | Prot. “Ole e 1-like” | <i>Phleum pratense</i> |
| Sal k 1 | -0,25 | 0,000 | Pectin-esterasa | <i>Salsola kali</i> |

Tablas 3 y 4. Diferencias estadísticamente no significativas ($p > 0,05$) y significativas ($p < 0,05$) entre grupos con LTP mayor o menor (medida en mm en PC) y las variables estudiadas. Test de Kruskal-Wallis o U de Mann-Whitney, según el tipo de variable analizada.

| Variable | P > 0,05 | Variable | P < 0,05 |
|--------------|----------|----------------------|----------|
| Sexo | 0,844 | Rinitis | 0,000 |
| AF | 0,844 | Conjuntivitis | 0,004 |
| SAO | 0,055 | Urticaria | 0,000 |
| Asma | 0,231 | Anafilaxia | 0,001 |
| Shock | 0,164 | Angioedema | 0,010 |

Tablas 5 y 6. Grado de asociación de cada variable con la presencia de **SAO**. Los modelos estadísticos utilizados, el test de Hosmer y Lemeshow y el área bajo la curva ROC, se consideran adecuados globalmente si la $p > 0,05$ y $p < 0,05$, respectivamente, como ha ocurrido en nuestros resultados. AF: Antecedentes familiares de atopia. Nota: las variables de alimentos hacen referencia al grado de positividad en la prueba cutánea.

| | Error estándar | OR | 95% C.I. para OR | |
|----------------------|----------------|-------|------------------|----------|
| | | | Inferior | Superior |
| AF | 0.382 | 1.307 | 0.619 | 2.762 |
| Rinitis | 0.428 | 1.033 | 0.447 | 2.390 |
| Asma | 0.410 | 0.793 | 0.355 | 1.770 |
| Sexo femenino | 0.359 | 1.665 | 0.823 | 3.367 |
| Edad | 0.017 | 1.019 | 0.986 | 1.053 |
| Nuez | 0.072 | 0.953 | 0.827 | 1.097 |
| Avellana | 0.067 | 1.015 | 0.891 | 1.157 |
| Cacahuete | 0.080 | 1.154 | 0.987 | 1.349 |
| Almendra | 0.065 | 0.895 | 0.788 | 1.016 |
| Pipas girasol | 0.060 | 1.088 | 0.967 | 1.224 |

| | Error estándar | OR | 95% C.I. para OR | |
|-----------------|----------------|-------|------------------|----------|
| | | | Inferior | Superior |
| Ara h 9 | 0.062 | 0.972 | 0.861 | 1.097 |
| Art v 3 | 0.054 | 1.096 | 0.986 | 1.218 |
| Ole e 7 | 0.013 | 0.987 | 0.962 | 1.013 |
| Pla a 3 | 0.058 | 1.055 | 0.941 | 1.182 |
| Pru p 3 | 0.037 | 0.985 | 0.917 | 1.059 |
| Tri a 14 | 0.141 | 1.121 | 0.850 | 1.478 |
| Ara h 2 | 0.260 | 0.823 | 0.494 | 1.369 |
| Phl p 12 | 0.129 | 1.095 | 0.850 | 1.411 |
| Pru p 1 | 0.151 | 0.897 | 0.668 | 1.205 |
| Ara h 8 | 0.325 | 0.758 | 0.401 | 1.432 |

Tablas 7 y 8. Grado de asociación de cada variable con la presencia de **anafilaxia**. Los modelos estadísticos utilizados, el test de Hosmer y Lemeshow y el área bajo la curva ROC, se consideran adecuados globalmente si la $p > 0,05$ y $p < 0,05$, respectivamente, como ha ocurrido en nuestros resultados. AF: Antecedentes familiares de atopia. Nota: las variables de alimentos hacen referencia al grado de positividad en la prueba cutánea.

| | Error estándar | OR | 95% C.I. para OR | |
|----------------------|----------------|-------|------------------|----------|
| | | | Inferior | Superior |
| AF | 0.361 | 1.085 | 0.535 | 2.200 |
| Rinitis | 0.395 | 1.320 | 0.609 | 2.865 |
| Asma | 0.382 | 1.372 | 0.649 | 2.899 |
| Asma infancia | 1.128 | 2.764 | 0.303 | 25.211 |
| Sexo femenino | 0.338 | 0.968 | 0.498 | 1.878 |
| Edad | 0.015 | 1.014 | 0.984 | 1.045 |
| Nuez | 0.065 | 1.089 | 0.958 | 1.238 |
| Avellana | 0.060 | 0.989 | 0.878 | 1.113 |
| Cacahuete | 0.062 | 1.108 | 0.982 | 1.250 |
| Almendra | 0.060 | 0.981 | 0.872 | 1.104 |
| Pipas girasol | 0.052 | 1.023 | 0.924 | 1.133 |

| | Error estándar | OR | 95% C.I. para OR | |
|-----------------|----------------|-------|------------------|----------|
| | | | Inferior | Superior |
| Ara h 9 | 0.077 | 1.255 | 1.078 | 1.460 |
| Art v 3 | 0.061 | 0.919 | 0.816 | 1.035 |
| Ole e 7 | 0.043 | 0.930 | 0.855 | 1.011 |
| Pla a 3 | 0.054 | 1.150 | 1.034 | 1.279 |
| Pru p 3 | 0.041 | 0.913 | 0.842 | 0.990 |
| Tri a 14 | 0.150 | 1.136 | 0.846 | 1.526 |
| Ara h 2 | 0.323 | 1.273 | 0.676 | 2.399 |
| Phl p 12 | 0.230 | 0.873 | 0.556 | 1.372 |
| Pru p 1 | 1.457 | 0.105 | 0.006 | 1.821 |
| Ara h 8 | 0.475 | 1.906 | 0.751 | 4.838 |

Estos son los resultados que hemos obtenido hasta ahora y seguimos, en la actualidad, con el análisis de los datos.

Consideraciones finales

Se consideró SAO como prurito de labios y/o mucosa oral, con o sin angioedema (AE), inmediatamente después de comer el alimento.

Se consideró un valor positivo en ImmunoCAP ISAC $\geq 0,3$ ISU.



CONCLUSIONES PRELIMINARES

1. Encontramos que nuestra muestra es de pacientes jóvenes (media de edad de 34 años), sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre sexos.
2. Así como algunos alimentos (como el melocotón, cacahuete o pistacho) se correlacionan de forma positiva con la sensibilización a LTP, encontramos que no se observa asociación entre pólenes y sensibilización a LTP (excepto Art v 3 y Pla a 3).
3. En nuestros resultados observamos que no hay diferencias significativas entre el grupo con LTP mayor o menor y el sexo o la presencia de antecedentes familiares de atopia. Pero sí las hay en la aparición de clínica como rinitis, conjuntivitis, urticaria, angioedema o anafilaxia.
4. La LTP más reconocida fue Pru p 3, seguida de Jug r 3. La menos reconocida fue Tri a 14 (de las 7 testadas).
5. Respecto a la gravedad de la reacción, el sexo femenino tiene más probabilidad de presentar SAO, y se asocia a menor probabilidad de anafilaxia que el sexo masculino.
6. La existencia de antecedentes familiares de atopia aumenta las probabilidades de SAO y anafilaxia.
7. La cosensibilización a Pru p 1 (proteína PR-10) o a Phl p 12 (profilina) se asocia con menor probabilidad de anafilaxia. En cambio, dicha probabilidad parece aumentada con la cosensibilización a Ara h 8 (PR-10), Ara h 2 (proteína inhibidora de tripsina “legumine-like”) y/o Ara h 9 (LTP).

En conclusión, parece que existen importantes asociaciones entre la presentación clínica y la sensibilización específica con LTP, así como nuevos patrones de agrupamiento que indican reactividades cruzadas probables.

Será necesario terminar de valorar todos los datos obtenidos y complementar con estudios que utilicen también otros enfoques de laboratorio no semicuantitativos, para confirmar estas observaciones y evaluar la eficacia potencial de dicho enfoque, tanto para futuras investigaciones, como para lo que es la práctica clínica habitual.

AGRADECIMIENTOS

Estoy muy agradecida con mis tutores, la Dra. Purificación González y el Prof. Javier Fernández, y con mi compañero, el Dr. Teodorikez Jiménez, por su ayuda aportada en la realización de este trabajo.

Agradezco a la RED de investigación del Instituto Carlos III (a la cual pertenece también nuestro hospital): RD 16/017/032.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Turcanu V, Maleki SJ, Lack G. Characterization of lymphocyte responses to peanuts in normal children , peanut-allergic children , and allergic children who acquired tolerance to peanuts. *J Clin Invest.* 2003;111(7):1065–72.
2. Savage J, Johns CB. Food Allergy : Epidemiology and Natural History. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2016;35(1):45–59.
3. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy : Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Allergy Clin Immunol [Internet].* 2015;133(2):291–307.e5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2013.11.020>
4. Yocum MW, Butterfield JH, Klein JS, Volcheck GW, Schroeder DR, Silverstein MD. Epidemiology of anaphylaxis in Olmsted county: A population-based study. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;104(2 I):452–6.
5. Ballmer-Weber BK, Scheurer S, Fritsche P, Enrique E, Cistero-Bahima A, Haase T, et al. Component-resolved diagnosis with recombinant allergens in patients with cherry allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;110(1):167–73.
6. Fernández-Rivas M, Bolhaar S, González-Mancebo E, Asero R, van Leeuwen A, Bohle B, et al. Apple allergy across Europe: How allergen sensitization profiles determine the clinical expression of allergies to plant foods. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118(2):481–8.
7. Fernández-Rivas M, González-Mancebo E, Rodríguez-Pérez R, Benito C,

- Sánchez-Monge R, Salcedo G, et al. Clinically relevant peach allergy is related to peach lipid transfer protein, Pru p 3, in the Spanish population. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112(4):789–95.
8. Scala E, Till SJ, Asero R, Abeni D, Guerra EC, Pirrotta L, et al. Lipid transfer protein sensitization: Reactivity profiles and clinical risk assessment in an Italian cohort. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2015;70(8):933–43.
 9. Sánchez-Monge R, Lombardero M, García-Sellés FJ, Barber D, Salcedo G, Sanchez-Monge R, et al. Lipid-transfer proteins are relevant allergens in fruit allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1999;103(3 Pt 1):514–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10069888>
 10. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Vries SC De, Ree R Van. Allergy ^ Lipid Transfer Protein : A Pan-Allergen in Plant-Derived Foods That Is Highly Resistant to Pepsin Digestion. *Int Arch Allergy Immunol*. 2001;124:67–9.
 11. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S, Caldironi G, Barocci F, et al. Immunological cross-reactivity between lipid transfer proteins from botanically unrelated plant-derived foods: A clinical study. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2002;57(10):900–6.
 12. Barber D, De La Torre F, Lombardero M, Antépara I, Colas C, Dávila I, et al. Component-resolved diagnosis of pollen allergy based on skin testing with profilin, polcalcin and lipid transfer protein pan-allergens. *Clin Exp Allergy*. 2009;39(11):1764–73.
 13. Pastorello EA, Pompei C, Pravettoni V, Farioli L, Calamari AM, Scibilia J, et al. Lipid-transfer protein is the major maize allergen maintaining IgE-binding activity after cooking at 100°C, as demonstrated in anaphylactic patients and patients with positive double-blind, placebocontrolled food challenge results. *Clin Immunol*. 2003;112(4):775–83.
 14. Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Robino AM, Scibilia J, Fortunato D, et al. Lipid transfer protein and vicilin are important walnut allergens in patients not allergic to pollen. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114(4):908–14.

15. Gomez F, Aranda A, Campo P, Diaz-Perales A, Blanca-Lopez N, Perkins J, et al. High prevalence of lipid transfer protein sensitization in apple allergic patients with systemic symptoms. *PLoS One*. 2014;9(9):1–7.
16. Pastorello EA, Ortolani C, Baroglio C, Pravettoni V, Ispano M, Giuffrida MG, et al. Complete Amino Acid Sequence Determination of the Major Allergen of Peach (*Prunus persica*) Pru p 1. *Biol Chem*. 1999;380(November):1315–20.
17. Zuidmeer L, Ree R Van. Lipid transfer protein allergy : primary food allergy or pollen / food syndrome in some cases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2007;7:269–73.
18. Valero A, Araceli D, Rueda M. Role of Art v 3 in pollinosis of patients allergic to Pru p 3. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133:1018–25.
19. Tordesillas Leticia et al. Plant Lipid Transfer Protein Allergens : No Cross-Reactivity between Those from Foods and Olive and Parietaria Pollen. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;156:291–6.
20. Pascal M, Muñoz-Cano R, Reina Z, Palacín A, Vilella R, Picado C, et al. Lipid transfer protein syndrome: Clinical pattern, cofactor effect and profile of molecular sensitization to plant-foods and pollens. *Clin Exp Allergy*. 2012;42(10):1529–39.
21. Umasunthar T, Hodes M, Turner PJ, Gore C, Habibi P, Warner JO, et al. Incidence of fatal food anaphylaxis in people with food allergy : a systematic review and meta-analysis *Experimental Allergy. Clin Exp Allergy*. 2013;43:1333–41.
22. Nucera E, Mezzacappa S, Aruanno A, Pecora V, Rizzi A, Ricci AG, et al. Hypersensitivity to major panallergens in a population of 120 patients. *Postępy dermatologii i Alergol* [Internet]. 2015;32(4):255–61. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4565840&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
23. HA S. Food-induced anaphylaxis. 2004. p. 257:161-71; discussion 71-6, 207-10, 76-85.
24. Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Ortolani C, Fortunato D, Giuffrida G, et al.

- Identification of grape and wine allergens as an endochitinase 4 , a lipid-transfer protein , and a thaumatin. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111(2):350–9.
25. Sicherer SH, York N. Current perspectives Epidemiology of food allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2011;127(3):594–602. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2010.11.044>
 26. Andersen MBS, Hall S, Dragsted LO. Identification of european allergy patterns to the allergen families PR-10, LTP, and profilin from Rosaceae fruits. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2011;41(1):4–19.
 27. Asero R, Pravettoni V. Anaphylaxis to plant-foods and pollen allergens in patients with lipid transfer protein syndrome. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2013;13(4):379–85.
 28. Scala E, Abeni D, Bd DP, Paganelli R, Locanto M, Giani M, et al. Ole e 1, Ole e 7, and Ole e 9: Identifying distinct clinical subsets of olive tree–allergic patients. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2016;137(2):629–631.e3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2015.07.009>
 29. Rivas LA, Aguirre J, Tordesillas L, Ferna FJ, Gamboa P, Mun R, et al. Graph Based Study of Allergen Cross-Reactivity of Plant Lipid Transfer Proteins (LTPs) Using Microarray in a Multicenter Study. *PLoS One.* 2012;7(12):1–10.
 30. Be G, A BA, Gamboa P, Brito F, Bartra J, Gómez F, et al. Is the ISAC 112 Microarray Useful in the Diagnosis of Pollinosis in Spain ? *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2016;26(2):92–9.
 31. Ree R Van. Clinical importance of non-specific lipid transfer proteins as food allergens Introduction : history of the discovery of an allergen nsLTPs : a stable barrel of four Stability and the route of sensitization Stability and severe symptoms go hand in hand. *Biochem Soc Trans.* 2002;30:2000–3.
 32. Winkle RC Van, Chang C. The Biochemical Basis and Clinical Evidence of Food Allergy Due to Lipid Transfer Proteins : A Comprehensive Review. *Clin Rev Allerg Immunol.* 2014;46(3):211–24.

33. Cardona V. Lettuce Allergy Is a Lipid Transfer Syndrome-Related Food Allergy With a High Risk of Severe Reactions. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2017;27(2):98–103.
34. Javaloyes G, Goikoetxea MJ, Núñez IG, Sanz ML, Blanca M, Scheurer S, et al. Performance of Different in Vitro Techniques in the Molecular Diagnosis of Peanut Allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22(7):508–13.
35. Mj G, Cm DA, Gamboa P, Gómez F, Fernández J, Bartra J, et al. Is Microarray Analysis Really Useful and Sufficient to Diagnose Nut Allergy in the Mediterranean Area ? *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2016;26(1):31–9.



ANEXOS:

I. Hoja de consentimiento informado:

| Consentimiento informado |
|--|
| <i>Biomarcadores de utilidad diagnóstica en pacientes con alergia a LTP de fenotipo grave</i> |
| <p>Le estamos pidiendo que participe en un estudio.</p> <p>Usted no tiene que participar en el estudio.</p> <p>Si dice que sí, puede dejar de participar en el estudio en cualquier momento.</p> <p>Por favor tome todo el tiempo que necesite para decidir.</p> <p>Su atención médica no cambiará de manera alguna si dice que no.</p> |
| <p><u>¿Para qué se firma este documento?</u> Lo firma para poder participar en el estudio.</p> <p><u>¿Por qué se está haciendo este estudio de investigación?</u> Queremos saber más sobre cómo ayudar a las personas que tienen alergia a LTP. Este estudio nos ayudará a aprender más sobre las características clínicas de nuestros pacientes con síndrome de LTP, construyendo un patrón que permita predecir la gravedad de la reacción y el riesgo de presentarla. Les estamos pidiendo a personas como usted, que tienen alergia a LTP, que nos ayuden.</p> |

¿Qué pasa si digo “sí, quiero participar en el estudio”?

Si dice que sí:

- Le preguntaremos sobre antecedentes familiares, síntomas de rinoconjuntivitis, asma bronquial y alergia a alimentos vegetales.
- Le daremos un formulario con preguntas para que usted las conteste.
- Si quiere, podemos leerle las preguntas en voz alta y escribir sus respuestas en el formulario.

Estas preguntas no tienen respuestas correctas o incorrectas. Puede saltar cualquier pregunta si no quiere contestarla.

¿Qué pasa si digo “no quiero participar en el estudio”?

Nadie le tratará en manera diferente. A usted no se le penalizará. No perderá ningún beneficio. La atención que recibe de su médico no cambiará.

¿Qué pasa si digo que sí, pero cambio de opinión más tarde?

Usted puede dejar de participar en el estudio en cualquier momento. También puede pedirnos que dejemos de usar y compartir información médica que pueda identificarlo. Dejaremos de usar y compartir información, excepto en situaciones muy especiales, como cuando sea necesario para cumplir con la ley, para proteger su seguridad o para comprobar que la investigación se haya hecho en forma correcta.

A usted no se le penalizará. No perderá ningún beneficio. La atención que recibe de su médico no cambiará.

¿Quién verá mis respuestas?

Las únicas personas autorizadas para ver sus respuestas son las que trabajan en el estudio y las que se aseguran de que éste se realice de manera correcta.

Sus respuestas a la encuesta, su información médica, y una copia firmada de este documento se mantendrán bajo llave en nuestros archivos. No incluiremos sus respuestas en su expediente médico.

Cuando compartamos los resultados del estudio, por ejemplo, en revistas médicas, no incluiremos su nombre. Haremos todo lo posible para que nadie fuera del estudio sepa que usted participó en él.

¿Me costará algo participar en el estudio?

No.

Participar en el estudio, ¿me ayudará de alguna manera?

Participar en este estudio no le ayudará, pero podría ayudar a personas con alergia a LTP en el futuro.

¿Tengo que firmar este documento?

No. Fírmelo solamente si desea participar en el estudio.

¿Qué debo hacer si quiero participar en el estudio?

Tiene que firmar este documento. Le entregaremos una copia.

Al firmar este documento está diciendo que:

- Está de acuerdo con participar en el estudio.
- Le hemos explicado la información que contiene este documento y hemos contestado todas sus preguntas.

Usted sabe que:

- No tiene que contestar preguntas que no quiera contestar.
- En cualquier momento, puede dejar de contestar nuestras preguntas y no le pasará nada a usted.

Su nombre

Su firma

Fecha

Nombre del representante legal

Firma de la persona que provee el consentimiento en representación del sujeto

Fecha

Relación o parentesco:

Nombre de la persona que explica el consentimiento

Firma de la persona que explica el consentimiento

Fecha

II. Aprobación del Comité principal:

| | | |
|---|--|--|
|  | <p>Servicio Andaluz de Salud CONSEJERÍA DE SALUD</p> | <p><i>Comité de Ética de la Investigación Provincial de Málaga</i></p> |
| <p>Dra. Dña. Gloria Luque Fernández, Secretaria del CEI Provincial de Málaga</p> | | |
| <p>CERTIFICA:</p> | | |
| <p>Que en la sesión de CEI de fecha: 22/02/2018 ha evaluado la propuesta de D/Dña.: Francisca Gómez Pérez, referido a la Modificación del Proyecto de Investigación: "Objetivo 1. Identificar biomarcadores de utilidad diagnóstica en pacientes alérgicos a nsLTP de fenotipo grave del proyecto Identificación de biomarcadores de utilidad diagnóstica en pacientes con alergia a LTP de fenotipo grave. Mecanismos implicados en la eficacia de la inmunoterapia con LTP"</p> | | |
| <p>Este Comité lo considera ética y metodológicamente correcto.</p> | | |
| <p>La composición del CEI en esta sesión es la siguiente:</p> | | |
| <p>Dra. Marta Camacho Caro (UGC Ginecología)</p> | | |
| <p>Dra. Paloma Campo Mozo (UGC Alegria)</p> | | |
| <p>Dr. José C. Fernández García (UGC Endocrinología y Nutrición)</p> | | |
| <p>Dra. M^a Victoria de la Torre Prados (UGC UMI)</p> | | |
| <p>Dr. Andrés Fontalba Navas (UGC Salud Mental)</p> | | |
| <p>D. Alfonso García Guerrero (UGC CS Colonia de Santa Inés)</p> | | |
| <p>Dr. José L. Guerrero Orriach (UGC Anestesia y Reanimación)</p> | | |
| <p>Dr. Ricardo Guijarro Merino (UGC M. Interna)</p> | | |
| <p>Dr. Antonio López Téllez (Médico de Familia)</p> | | |
| <p>Dra. Gloria Luque Fernández (Investigación)</p> | | |
| <p>Dra. M^a Mercedes Márquez Castilla (Médico Familia)</p> | | |
| <p>Dra. Cristobalina Mayorga Mayorga (Laboratorio)</p> | | |
| <p>Dr. Francisco J. Mérida de la Torre (Laboratorio)</p> | | |
| <p>Dr. Antonio Pérez Riclo (UGC UCI)</p> | | |
| <p>D. Ramón Porras Sánchez (RRHH-Abogado)</p> | | |
| <p>Dra. M^a Angeles Rosado Souvirón (UGC Farmacia)</p> | | |
| <p>Dña. Virginia Salinas Pérez (UGCI Oncología-Enfermera)</p> | | |
| <p>Dr. Benito Soriano Fernández (Médico Familia)</p> | | |
| <p>Lo que firmo en Málaga, a 7 de Marzo de 2018</p> | | |
| | |  |
| <p>Fdo.: Dra. Gloria Luque Fernández Secretaria del CEI</p> | | |

III. Cuaderno de recogida de datos:

CUESTIONARIO

Código del centro:..... Paciente N^o:..... Iniciales:.....

Edad:..... Sexo:..... Fecha:

RINOCONJUNTIVITIS

1. Año de comienzo:

2. Síntomas:

Oculares: leves moderado-severos

Nasales: leves moderado-severos

3. Meses de síntomas:

| Enero | Febrero | Marzo | Abril | Mayo | Junio | Julio | Agosto | Sept. | Octub. | Noviem. | Diciem. |
|-------|---------|-------|-------|------|-------|-------|--------|-------|--------|---------|---------|
| | | | | | | | | | | | |

4. Frecuencia de los síntomas:

Menos de 4 días a la semana durante más de cuatro semanas.

Más de 4 días a la semana durante más de cuatro semanas.

ASMA

1. Año de comienzo:

2. Síntomas: leves moderados intensos

3. Meses de síntomas.

| Enero | Febrero | Marzo | Abril | Mayo | Junio | Julio | Agosto | Sept. | Octub. | Noviem. | Diciem. |
|-------|---------|-------|-------|------|-------|-------|--------|-------|--------|---------|---------|
| | | | | | | | | | | | |

ALERGIA A ALIMENTOS VEGETALES:

1. SAO Anafilaxia

2. SAO Anafilaxia

3. SAO Anafilaxia

4. SAO Anafilaxia

5. SAO Anafilaxia

6. SAO Anafilaxia

7. SAO Anafilaxia

IV. Hoja de pruebas cutáneas:

GENERALITAT VALENCIANA
CONSELLERIA DE SANITAT



AGÈNCIA
VALENCIANA
DE SALUT

FECHA: ___ / ___ / ___

| HONGOS | |
|--------|--------------------|
| 1 | ALTERNARIA |
| 2 | ASPERGILLUS MEZCLA |

| EPITELIOS | |
|-----------|---------|
| 1 | CONEJO. |
| 2 | GATO |
| 3 | PERRO |
| 4 | CABLLO |
| 5 | PLUMAS |

| ÁCAROS | |
|--------|------------------|
| 1 | D. PTERONYSSINUS |
| 2 | D. FARINAE |

| LATEX | |
|-----------|--|
| ANISAKIS | |
| Cf Ma | |
| HISTAMINA | |

| G. ÁCAROS | |
|-----------|--------------------------|
| 1 | ACARUS SIRO |
| 2 | GLYCYPHAGUS DOMESTICUS |
| 3 | COHIERIA FUSCA |
| 4 | TYROPHAGUS PUTRESCENTIAE |
| 5 | LEPIDOGLYPHUS DESTRUCTOR |
| 6 | BLOMIA KULAGINI |
| 7 | BLOMIA TROPICALIS |

| G. ASPERGILLUS | |
|----------------|--------------|
| 1 | A. FUMIGATUS |

| PÓLENES NO HABITUALES | |
|-----------------------|----------------|
| 1 | MIMOSA |
| 2 | QUERCUS |
| 3 | ACACIA |
| 4 | FALSA PIMIENTA |
| 5 | MERCURIALIS |

| INSECTOS | |
|----------|-----------------------|
| 1 | BLATELLA GERMÁNICA |
| 2 | PERIPLANETA AMERICANA |
| 3 | BLATTA ORIENTALIS |
| 4 | PROCESIONARIA |
| 5 | MOSQUITO |

| OTROS EPITELIOS | |
|-----------------|---------|
| 1 | HÁMSTER |
| 2 | COBAYA |
| 3 | RATA |
| 4 | RATÓN |

| ENZIMAS | |
|---------|--------------|
| 1 | AUFA-AMILASA |

| PÓLENES | |
|---------|------------------|
| 1 | GRAMÍNEAS |
| 2 | ARTEMISA |
| 3 | PARIETARIA |
| 4 | CIPRÉS |
| 5 | OLIVO |
| 6 | PLÁTANO |
| 7 | CHENOPODIUM |
| 8 | SALSOLA |
| 9 | CYNODON DACTYLON |
| 10 | ABEDUL |

| | |
|---|------------|
| 1 | GAMBA |
| 2 | LTP |
| 3 | PROEILINA |
| 4 | GLUTEN |
| 5 | GLIADINA |
| 6 | POLCALCINA |
| 7 | BROMELINA |

| FRUTOS SECOS. | |
|---------------|--------------|
| 1 | ALMENDRA |
| 2 | AVELLANA |
| 3 | CACAHUETE |
| 4 | CASTAÑA |
| 5 | NUEZ |
| 6 | PIÑÓN |
| 7 | PIPA GIRASOL |
| 8 | PISTACHO |

| VERDURAS | |
|----------|-----------|
| 1 | APIO |
| 2 | LECHUGA |
| 3 | ZANAHORIA |

| FRUTAS | |
|--------|--------------|
| 1 | ANANA (PIÑA) |
| 2 | KIWI |
| 3 | MANZANA |
| 4 | MELÓN |
| 5 | PLÁTANO |
| 7 | LVA BLANCA |

| ESPECIAS | |
|----------|----------|
| 1 | PIMENTÓN |
| 2 | CANELA |
| 3 | ORÉGANO |
| 4 | PIMIENTA |
| 5 | AJO |
| 6 | MOSTAZA |
| 7 | COMINO |
| 8 | AZAFRÁN |
| 9 | CLAVO |
| 10 | PEREJIL |

V. Alérgenos de ImmunoCAP-ISAC® (PHADIA):

ImmunoCAP ISAC 112 Allergen Components

| Allergen component | Allergen source COMMON NAME | LATIN NAME | PROTEIN GROUP |
|-----------------------|--------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| Food Allergens | | | |
| nGal d 1 | Egg white | <i>Gallus domesticus</i> | Ovomucoid |
| nGal d 2 | Egg white | <i>Gallus domesticus</i> | Ovalbumin |
| nGal d 3 | Egg white | <i>Gallus domesticus</i> | Conalbumin/Ovotransferrin |
| nGal d 5 | Egg yolk/chicken meat | <i>Gallus domesticus</i> | Livetin/Serum albumin |
| nBos d 4 | Cow's milk | <i>Bos domesticus</i> | Alpha-lactalbumin |
| nBos d 5 | Cow's milk | <i>Bos domesticus</i> | Beta-lactoglobulin |
| nBos d 6 | Cow's milk and meat | <i>Bos domesticus</i> | Serum albumin |
| nBos d 8 | Cow's milk | <i>Bos domesticus</i> | Casein |
| nBos d lactoferrin | Cow's milk | <i>Bos domesticus</i> | Transferrin |
| rGad c 1 | Cod | <i>Gadus callarias</i> | Parvalbumin |
| nPen m 1 | Shrimp | <i>Penaeus monodon</i> | Tropomyosin |
| nPen m 2 | Shrimp | <i>Penaeus monodon</i> | Arginine kinase |
| nPen m 4 | Shrimp | <i>Penaeus monodon</i> | Sarcoplasmic Ca-binding protein |
| rAna o 2 | Cashew nut | <i>Anacardium occidentale</i> | Storage protein, 11S globulin |
| rBer e 1 | Brazil nut | <i>Bertholletia excelsa</i> | Storage protein, 2S albumin |
| rCor a 1.0401 | Hazelnut | <i>Corylus avellana</i> | PR-10 protein |
| rCor a 8 | Hazelnut | <i>Corylus avellana</i> | Lipid transfer protein (nsLTP) |
| nCor a 9 | Hazelnut | <i>Corylus avellana</i> | Storage protein, 11S globulin |
| nJug r 1 | Walnut | <i>Juglans regia</i> | Storage protein, 2S albumin |
| nJug r 2 | Walnut | <i>Juglans regia</i> | Storage protein, 7S globulin |
| nJug r 3 | Walnut | <i>Juglans regia</i> | Lipid transfer protein (nsLTP) |
| nSes i 1 | Sesame seed | <i>Sesamum indicum</i> | Storage protein, 2S albumin |

ImmunoCAP ISAC 112 Allergen Components, con't

| Allergen component | Allergen source COMMON NAME | LATIN NAME | PROTEIN GROUP |
|-----------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| Food Allergens | | | |
| rAra h 1 | Peanut | <i>Arachis hypogaea</i> | Storage protein, 7S globulin |
| rAra h 2 | Peanut | <i>Arachis hypogaea</i> | Storage protein, Conglutin |
| rAra h 3 | Peanut | <i>Arachis hypogaea</i> | Storage protein, 11S globulin |
| nAra h 6 | Peanut | <i>Arachis hypogaea</i> | Storage protein, Conglutin |
| rAra h 8 | Peanut | <i>Arachis hypogaea</i> | PR-10 protein |
| rAra h 9 | Peanut | <i>Arachis hypogaea</i> | Lipid transfer protein (nsLTP) |
| rGly m 4 | Soybean | <i>Glycine max</i> | PR-10 protein |
| nGly m 5 | Soybean | <i>Glycine max</i> | Storage protein, Beta-conglycinin |
| nGly m 6 | Soybean | <i>Glycine max</i> | Storage protein, Glycinin |
| nFag e 2 | Buckwheat | <i>Fagopyrum esculentum</i> | Storage protein, 2S albumin |
| rTri a 14 | Wheat | <i>Triticum aestivum</i> | Lipid transfer protein (nsLTP) |
| rTri a 19.0101 | Wheat | <i>Triticum aestivum</i> | Omega-5 gliadin |
| nTri a aA_T1 | Wheat | <i>Triticum aestivum</i> | |
| nAct d 1 | Kiwi | <i>Actinidia deliciosa</i> | |
| nAct d 2 | Kiwi | <i>Actinidia deliciosa</i> | Thaumatine-like protein |
| nAct d 5 | Kiwi | <i>Actinidia deliciosa</i> | |
| rAct d 8 | Kiwi | <i>Actinidia deliciosa</i> | PR-10 protein |
| rApi g 1 | Celery | <i>Apium graveolens</i> | PR-10 protein |
| rMal d 1 | Apple | <i>Malus domestica</i> | PR-10 protein |
| rPru p 1 | Peach | <i>Prunus persica</i> | PR-10 protein |
| rPru p 3 | Peach | <i>Prunus persica</i> | Lipid transfer protein (nsLTP) |
| Aeroallergens | | | |
| nCyn d 1 | Bermuda grass | <i>Cynodon dactylon</i> | Grass group 1 |
| rPhl p 1 | Timothy | <i>Phleum pratense</i> | Grass group 1 |
| rPhl p 2 | Timothy | <i>Phleum pratense</i> | Grass group 2 |
| nPhl p 4 | Timothy | <i>Phleum pratense</i> | |
| rPhl p 5 | Timothy | <i>Phleum pratense</i> | Grass group 5 |
| rPhl p 6 | Timothy | <i>Phleum pratense</i> | |
| rPhl p 7 | Timothy | <i>Phleum pratense</i> | Polcalcic |
| rPhl p 11 | Timothy | <i>Phleum pratense</i> | |
| rPhl p 12 | Timothy | <i>Phleum pratense</i> | Profilin |
| rAln g 1 | Alder | <i>Alnus glutinosa</i> | PR-10 protein |
| rBet v 1 | Birch | <i>Betula verrucosa</i> | PR-10 protein |
| rBet v 2 | Birch | <i>Betula verrucosa</i> | Profilin |
| rBet v 4 | Birch | <i>Betula verrucosa</i> | Polcalcic |
| rCor a 1.0101 | Hazel pollen | <i>Corylus avellana</i> | PR-10 protein |
| nCry j 1 | Japanese cedar | <i>Cryptomeria japonica</i> | |
| nCup a 1 | Cypress | <i>Cupressus arizonica</i> | |
| nOle e 1 | Olive | <i>Olea europaea</i> | |
| nOle e 7 | Olive | <i>Olea europaea</i> | Lipid transfer protein (nsLTP) |
| rOle e 9 | Olive | <i>Olea europaea</i> | |
| rPla a 1 | Plane tree | <i>Platanus acerifolia</i> | |
| nPla a 2 | Plane tree | <i>Platanus acerifolia</i> | |
| rPla a 3 | Plane tree | <i>Platanus acerifolia</i> | Lipid transfer protein (nsLTP) |
| nAmb a 1 | Ragweed | <i>Ambrosia artemisiifolia</i> | |
| nArt v 1 | Mugwort | <i>Artemisia vulgaris</i> | |
| nArt v 3 | Mugwort | <i>Artemisia vulgaris</i> | Lipid transfer protein (nsLTP) |
| rChe a 1 | Goosefoot | <i>Chenopodium album</i> | |
| rMer a 1 | Annual mercury | <i>Mercurialis annua</i> | Profilin |
| rPar j 2 | Wall pellitory | <i>Parietaria judaica</i> | Lipid transfer protein (nsLTP) |
| rPla i 1 | Plantain (English) | <i>Plantago lanceolata</i> | |
| nSal k 1 | Saltwort | <i>Salsola kali</i> | |

ImmunoCAP ISAC 112 Allergen Components, con't

| Allergen component | Allergen source COMMON NAME | LATIN NAME | PROTEIN GROUP |
|----------------------|--------------------------------|---------------------------------------|-------------------------|
| Aeroallergens | | | |
| rCan f 1 | Dog | <i>Canis familiaris</i> | Lipocalin |
| rCan f 2 | Dog | <i>Canis familiaris</i> | Lipocalin |
| nCan f 3 | Dog | <i>Canis familiaris</i> | Serum albumin |
| rCan f 5 | Dog | <i>Canis familiaris</i> | Arginine esterase |
| rEqu c 1 | Horse | <i>Equus caballus</i> | Lipocalin |
| nEqu c 3 | Horse | <i>Equus caballus</i> | Serum albumin |
| rFel d 1 | Cat | <i>Felis domesticus</i> | Uteroglobulin |
| nFel d 2 | Cat | <i>Felis domesticus</i> | Serum albumin |
| rFel d 4 | Cat | <i>Felis domesticus</i> | Lipocalin |
| nMus m 1 | Mouse | <i>Mus musculus</i> | Lipocalin |
| rAlt a 1 | Alternaria | <i>Alternaria alternata</i> | |
| rAlt a 6 | Alternaria | <i>Alternaria alternata</i> | Enolase |
| rAsp f 1 | Aspergillus | <i>Aspergillus fumigatus</i> | |
| rAsp f 3 | Aspergillus | <i>Aspergillus fumigatus</i> | |
| rAsp f 6 | Aspergillus | <i>Aspergillus fumigatus</i> | Mn superoxide dismutase |
| rCla h 8 | Cladosporium | <i>Cladosporium herbarum</i> | |
| rBlo t 5 | House dust mite | <i>Blomia tropicalis</i> | |
| nDer f 1 | House dust mite | <i>Dermatophagoides farinae</i> | |
| rDer f 2 | House dust mite | <i>Dermatophagoides farinae</i> | |
| nDer p 1 | House dust mite | <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> | |
| rDer p 2 | House dust mite | <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> | |
| rDer p 10 | House dust mite | <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> | Tropomyosin |
| rLep d 2 | Storage mite | <i>Lepidoglyphus destructor</i> | |
| rBla g 1 | Cockroach | <i>Blattella germanica</i> | |
| rBla g 2 | Cockroach | <i>Blattella germanica</i> | |
| rBla g 5 | Cockroach | <i>Blattella germanica</i> | |
| nBla g 7 | Cockroach | <i>Blattella germanica</i> | Tropomyosin |
| Other | | | |
| rApi m 1 | Honey bee venom | <i>Apis mellifera</i> | Phospholipase A2 |
| nApi m 4 | Honey bee venom | <i>Apis mellifera</i> | Melittin |
| rPol d 5 | Paper wasp venom | <i>Polistes dominulus</i> | Venom, Antigen 5 |
| rVes v 5 | Common wasp venom | <i>Vespa vulgaris</i> | Venom, Antigen 5 |
| rAni s 1 | Anisakis | <i>Anisakis simplex</i> | |
| rAni s 3 | Anisakis | <i>Anisakis simplex</i> | Tropomyosin |
| rHev b 1 | Latex | <i>Hevea brasiliensis</i> | |
| rHev b 3 | Latex | <i>Hevea brasiliensis</i> | |
| rHev b 5 | Latex | <i>Hevea brasiliensis</i> | |
| rHev b 8.01 | Latex | <i>Hevea brasiliensis</i> | |
| rHev b 8 | Latex | <i>Hevea brasiliensis</i> | Profilin |
| nMUXF3 | Sugar epitope from Bromelain | | CCD-marker |