



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

PAPEL INMUNOLOGICO EN LA ALERGIA ALIMENTARIA

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Diciembre 2017

Autor: Begoña Rico Hernández

Modalidad: Revisión bibliográfica

Tutor académico: Esther Caparrós Cayuela

INDICE

1.	Resumen	3
2.	Summary.....	4
3.	Introducción	5
4.	Objetivos.....	10
5.	Materiales y Métodos.....	10
6.	Resultados	12
7.	Discusión	21
8.	Conclusiones.....	22
9.	Bibliografía.....	23



RESUMEN

La alergia es una reacción de hipersensibilidad como respuesta del sistema inmunitario humano ante sustancias que, en circunstancias normales, son inocuas. Una de las alergias más reconocidas e importantes es la alergia alimentaria, aquella que se produce de manera anómala ante la ingestión de un alimento.

El objetivo de este trabajo es la realización de una revisión bibliográfica con el fin de conocer cómo influye nuestro sistema inmunológico en la alergia alimentaria y los diferentes síntomas que se desarrollan. Además, dentro de las reacciones de hipersensibilidad se conocen dos tipos, las mediadas por la inmunoglobulina IgE y las no mediadas por la inmunoglobulina IgE. Este último mecanismo es el que media la enfermedad de la que trata este trabajo, la enterocolitis mediada por alimentos o FPIES (*Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome*).

La FPIES se desarrolla en los primeros 12 meses de vida, y suele desembocar a síntomas como vómitos, diarrea, irritabilidad, e incluso retraso en el crecimiento. Aparece con la introducción de los alimentos en la dieta como la leche de vaca, trigo, arroz, huevo, pescado, etc. El tratamiento para esta entidad consiste en la eliminación de estos alimentos en la dieta hasta posible tolerancia en el tiempo.

Se realizó una búsqueda en la base de datos Pubmed seleccionando artículos que explican el desarrollo de FPIES y el impacto que tiene en la población pediátrica.

Se analizaron los resultados en base a varios estudios realizados y se puede comprobar cómo dos de los alimentos más comunes que provocan dicha entidad son la leche de vaca y el pescado.

Además, se considera que varios factores implicados podrían actuar como biomarcadores para el diagnóstico de FPIES, pero actualmente no hay estudios suficientes que avalen su uso clínico definitivo.

SUMMARY

Allergy is a hypersensitivity reaction as a response of the human immune system to substances that, in normal circumstances, are innocuous. One of the most important and well-known allergies is food allergy, which is produced in an anomalous way due to the ingestion of some food stuff.

The aim of this work is to carry out a bibliographic revision in order to know the functioning of our immune system in food allergy and the different developed symptoms.

Furthermore, as far as hypersensitivity reactions are concerned, two kinds are known: IgE-mediated and IgE-non mediated. This last mechanism mediates the illness dealt in this work: FPIES (*Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome*).

FPIES is developed in the first twelve months of life and it usually results in symptoms such as vomits, diarrhoea, irritability and even delay in growth. It appears with the introduction of some food in the diet like cow milk, wheat, rice, eggs, fish, etc.

The treatment for this FPIES consists in the elimination of this food from the diet until some possible tolerance is achieved in the future.

Research was done in the database Pubmed by selecting articles explaining the development of FPIES and the impact it has on the pediatric population.

Results based on several carried out studies were analyzed and it can be verified that two of the most common foodstuff which causes this FPIES are cow milk and fish.

In addition, it is believed that several implicated factors would be able to act as biomarkers for FPIES diagnosis; nevertheless, at present there are not enough studies which guarantee their definitive clinic use.

INTRODUCCIÓN

La alergia es una reacción de hipersensibilidad del sistema inmunitario que tienen algunos individuos frente a determinadas sustancias que son toleradas por la mayoría. Esta reacción anómala siempre está mediada por mecanismos inmunológicos y se manifiesta clínicamente con diferentes síntomas y enfermedades según el órgano al que afecten, como la rinitis, la conjuntivitis, el asma bronquial, la dermatitis atópica y otras manifestaciones cutáneas y digestivas (1).

Existen factores predisponentes genéticos y factores ambientales desencadenantes. Los antecedentes familiares son determinantes. Se ha calculado que, si uno de los progenitores es alérgico, la probabilidad de que un hijo padezca alergia es aproximadamente del 50%. Si los dos progenitores son alérgicos, la probabilidad se acerca al 70%. Es importante destacar que no se nace alérgico, se tiene una predisposición genética y en función de los factores ambientales la persona se hace alérgica a determinadas sustancias con capacidad de producir una respuesta inmunológica de hipersensibilidad y posteriormente alergia. (2)

Las sustancias que desencadenan las respuestas alérgicas se denominan alérgenos. Los alérgenos pueden sensibilizar a la persona predispuesta, de modo que su sistema inmunitario produzca una serie de anticuerpos, habitualmente del tipo Inmunoglobulina E (IgE) contra éstos.

Podemos encontrar dos formas principales de hipersensibilidad, la hipersensibilidad inmediata y la retardada. La hipersensibilidad inmediata o tipo I (HSI) es uno de los mecanismos efectores más importantes del sistema inmunitario. Esta reacción se inicia por el reconocimiento alérgico por parte de la IgE unida a la superficie de mastocitos y basófilos. Cuando el antígeno se une a estas moléculas de IgE, se produce una rápida liberación de varios mediadores existentes en el interior de dichas células, que en conjunto, van a dar lugar a un aumento de permeabilidad vascular, vasodilatación, contracción

del músculo liso bronquial y visceral e inflamación local. Esta reacción, dado que comienza a los pocos minutos de la provocación con el antígeno, recibe el nombre de HSI. Por otro lado, la hipersensibilidad retardada, mediada principalmente por las células T incluye síntomas que aparecen a las 24-72 horas de la exposición al alérgeno. (3)

La IgE se encuentra en forma libre en la sangre y otros líquidos biológicos ($<1\mu\text{g/ml}$). Su vida media es de 24-48 horas. En la atopia grave o en infecciones helmínticas, su concentración puede incrementarse hasta valores superiores a los $1000\mu\text{g/ml}$. (4)

En general, se necesita una exposición repetida a un alérgeno concreto para desarrollar una reacción atópica frente a dicho alérgeno.

Una de las alergias más comunes en nuestro día a día, es la alergia alimentaria, tipo de alergia que vamos a desarrollar en este trabajo. Se conoce como alergia alimentaria (AA) al conjunto de reacciones adversas en las que existe una patogenia inmunitaria comprobada y son provocadas por la ingestión, el contacto o la inhalación de determinados alimentos. Estas reacciones se producen solamente en algunos individuos y no se relacionan con ningún efecto fisiológico o fisiopatológico propios del alimento y pueden suscitarse con cantidades variables, incluso mínimas del alimento/alérgeno (5, 6).

Según el comité de alergia a alimentos de la Academia Europea de Alergología e Inmunología clínica (EAACI), el término alergia alimentaria se utiliza muchas veces de forma incorrecta para nombrar o definir cualquier tipo de reacción a los alimentos. Es importante conocer la clasificación más actual de las reacciones adversas a alimentos para entender la diferencia y la amplitud de las diferentes reacciones de nuestro cuerpo frente a los alimentos.

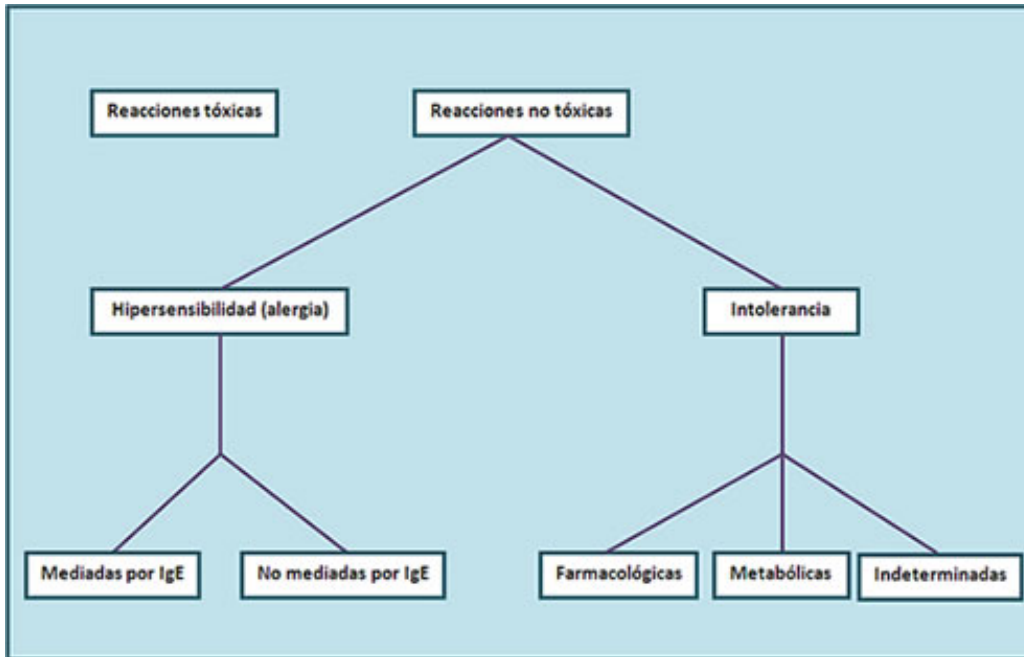


Figura 1. Clasificación de las reacciones adversas a alimentos. Comité de alergia a alimentos de la Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica (EAACI), 2001.

Dentro de las reacciones no tóxicas, podemos encontrar dos tipos de hipersensibilidad, alergia alimentaria (AA) mediada por la IgE y AA no mediada por IgE.

La alergia IgE mediada suele dar más síntomas respiratorios, cutáneos o anafilaxia. Es inmediata (generalmente en menos de 1 ó 2 horas), incluso con cantidades mínimas del alimento, y son las que pueden llegar a provocar las reacciones más graves. La alergia no mediada por IgE provoca reacciones más tardías y suele dar más síntomas digestivos y cutáneos más leves. La reacción alérgica se produce tras la ingestión del alimento, pero pueden provocarla el contacto cutáneo o la inhalación de productos o vapores de cocinado. (4)

Dentro de la hipersensibilidad mediada por IgE son varios los síntomas que podemos desarrollar al entrar en contacto con un alimento:

- Urticaria aguda, caracterizada por prurito transitorio y lesiones eritematosas

ligeramente sobreelevadas, distribuidas por cualquier parte del cuerpo en menos de 24 h de evolución. Es la sintomatología más frecuente en relación con la alergia a alimentos, aunque es un síntoma muy inespecífico y con múltiples desencadenantes. La urticaria por alimentos no supone en sí misma un cuadro grave, pero sí resulta muy alarmante para los pacientes y sus familias en función de la extensión de las lesiones y del tiempo que persistan los síntomas (7).

- Síntomas gastrointestinales: Los vómitos y/o diarrea pueden manifestarse, también cólicos o estreñimiento. Las alergias alimentarias gastrointestinales resultan de respuestas inmunes adversas a antígenos dietéticos (8).

- Síntomas respiratorios podemos encontrar manifestaciones respiratorias de vías altas o vías bajas. Dentro de las vías altas, la rinitis aguda con prurito e hidrorrea, acompañándose o no de conjuntivitis, que inicialmente se manifiesta como aumento de la secreción lagrimal o franco lagrimeo e hiperemia conjuntival. La aparición de éstos debe ser una indicación de suspensión de la ingestión del alimento y tratamiento de la reacción. En cuanto a manifestaciones respiratorias de vías bajas, el asma (9).

- Anafilaxia como reacción multisistémica, con afectación de al menos 2 órganos, y un cuadro de gravedad variable.

Al contrario, la hipersensibilidad no mediada por IgE, desarrolla enfermedades como las gastroenteropatías eosinofílicas y las gastroenteropatías inducidas por proteínas de la dieta o la enfermedad celíaca.

Las gastroenteropatías inducidas por proteínas de la dieta dan lugar a una enteropatía, enterocolitis (enfermedad conocida como *Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome* (FPIES) la cual desarrollaremos más en profundidad), o proctocolitis alérgica. Éstas provocan síntomas gastrointestinales variados, trastornos clínicos en general transitorios, más frecuentes en el lactante, por la inmadurez de los componentes de su barrera intestinal y de su sistema inmunológico, que hace que el organismo el niño se encuentre más desprotegido frente a los alérgenos alimentarios.

Los alimentos más frecuentes en este tipo de gastroenteropatías son las proteínas de la leche de vaca, la soja, el huevo, cereales como arroz o trigo, pollo, pescado, y otros.

Las gastroenteropatías eosinofílicas como esofagitis, gastroenteritis y proctocolitis eosinofílica, provocan síntomas variables según afecten al esófago, estómago o intestino delgado y según el grado de inflamación, pudiendo dar lugar a disfagia, reflujo gastroesofágico, náuseas, vómitos, diarrea o sangrado en heces.

La enfermedad celíaca es una enteropatía (enfermedad intestinal por malabsorción) crónica. Tiene una base inmune pero no es una enfermedad IgE mediada. La provoca el gluten, proteína contenida en la harina de trigo, cebada, centeno, avena y triticale.

Como síntomas produce cuadros de diarrea, pérdida de peso, distensión abdominal y disminución de la absorción de los alimentos. No hay que confundir esta patología con la alergia IgE mediada al gluten, que se manifiesta como cualquier otra alergia a alimentos. El enfermo celíaco tiene manifestaciones digestivas de tipo no inmediato y no mediadas por IgE. (10)

En menos de medio siglo, la alergia que era percibida como una enfermedad rara, se ha convertido en una importante amenaza para la salud pública. En la actualidad, afecta a más de 60 millones de personas en Europa. Por tanto, supone un impacto en los presupuestos de los sistemas públicos de salud. Su prevalencia puede ir en aumento debido a ciertos factores como los cambios ambientales y el estilo de vida que acompaña al proceso de globalización. (11)

OBJETIVOS

El objetivo central de esta revisión es la realización de una búsqueda bibliográfica sobre el funcionamiento del sistema inmunitario en las reacciones alérgicas provocadas por alimentos. Dentro de estas, desarrollaré el síndrome de enterocolitis inducida por alimentos, FPIES (*Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome*).

Podemos desglosar el objetivo central en dos objetivos específicos:

- Conocer el proceso de las enterocolitis FPIES por la ingesta de pescado en la población pediátrica.
- Revisar el funcionamiento de la enterocolitis FPIES inducida por proteínas presentes en la leche.

MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología empleada para la revisión de este trabajo se ha basado en la búsqueda de libros especializados en el área de la Inmunología y Alergia, y artículos científicos obtenidos de la base de datos Medline a través del buscador Pubmed y Google Académico.

Para conseguir la información, la estrategia de búsqueda ha consistido en el uso de descriptores, palabras clave que nos permiten localizar la información específica. A través de la base de datos Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS) se han introducido palabras clave en español, obteniendo el descriptor equivalente en inglés: Medical Subject Headings (MeSH), y éstos fueron los descriptores utilizados en la base de datos Pubmed.

Una vez obtenidos dichos descriptores, se añadieron filtros de fechas de publicación, tipo de publicación y tipos de artículos.

También se añadieron criterios de inclusión y criterios de exclusión para conseguir una búsqueda correcta de los artículos a incluir en el trabajo.

Criterios de inclusión en artículos científicos:

- Revisiones que se centren en FPIES y no en otros síndromes relacionados.
- Estudios científicos basados sólo en seres humanos.

Criterios de exclusión:

- Artículos que no contengan las palabras clave.
- Estudios en una población diferente a la que buscamos, ya que hemos basado nuestros objetivos principales en población pediátrica.

MeSH terms (palabras clave):

- food protein-induced enterocolitis síndrome
- FPIES
- child
- humans
- enterocolitis/inmunology
- Hypersensitivity/epidemiology*
- Food Hypersensitivity*/diagnosis
- Food Hypersensitivity*/prevention & control
- Food Hypersensitivity*/therapy
- Milk Hypersensitivity/complications
- Milk Hypersensitivity/immunology
- Solid food/ fish
- Dendritic cells

RESULTADOS

Entre las manifestaciones gastrointestinales no mediadas por IgE se reconocen aquellas reacciones derivadas de la ingestión de alimentos, caracterizadas por ser reproducibles y las cuales producen una reacción tipo IV, es decir, mediada por linfocitos T. En este grupo encontramos entre otras, la enterocolitis asociada a proteínas de la dieta comúnmente llamada FPIES (*Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome*).

El sistema gastrointestinal se caracteriza por tener un sistema inmune asociado denominado GALT (*Gut Associated Lymphoid Tissue*), formado por un sistema linfático organizado: las placas de Peyer en el intestino delgado y en el colon, y los ganglios linfáticos. Un sistema linfoide difuso que se encuentra en la lámina propia y en el epitelio intestinal, y constituido principalmente por linfocitos T, B y NK, macrófagos, mastocitos y eosinófilos, cuyas estructuras tienen unas características adaptadas para separar el organismo de la agresión del medio externo. La mucosa digestiva actúa como primera barrera de defensa para proteger de la entrada de patógenos y prevenir la activación de reacciones inmunes inadecuadas frente a los antígenos de la dieta. Los antígenos atraviesan esta barrera mediante endocitosis/exocitosis en las que desempeñan un papel importante los lisosomas intracelulares. El enterocito puede actuar como célula presentadora de antígeno mediante su membrana basolateral, interaccionando así con los receptores específicos de las células T. En el interior del enterocito, las proteínas sufren cambios (carboxilaciones, desaminaciones, etc.) que disminuyen su potencial antigénico. No obstante, en ocasiones este proceso transforma las proteínas en antígenos que desencadenan la activación de este sistema inmune local y el inicio de la alergia gastrointestinal, por lo que la liberación de mediadores inflamatorios condiciona la aparición de las respuestas subagudas y crónicas en el tracto gastrointestinal, que caracterizan las sensibilizaciones a alimentos no mediadas por IgE.

FPIES, es una entidad que se presenta en los primeros 12 meses de vida y su clínica más común suele ser diarrea progresiva, vómitos, sangrado rectal, irritabilidad, anemia y retraso en el crecimiento. Las proteínas de la dieta se introducen de forma ordenada en la alimentación, por tanto, los alimentos implicados en la alergia no mediada por IgE están relacionados con la edad de aparición del cuadro clínico. En los lactantes, la leche de vaca suele ser el alimento que primero se introduce, por lo que son éstas las proteínas implicadas con reacciones alérgicas que abarcan el 40% de los casos en lactantes y niños pequeños. En edades avanzadas los alimentos implicados suelen ser trigo, arroz, huevo, pollo o pescado mientras que adultos se desarrolla por la ingesta de marisco, especialmente con los moluscos (12)(13).

En la mayoría de los casos, el diagnóstico es clínico. Se basa en la historia, los síntomas clínicos, y se descarta otra patología. Se realiza una prueba de punción cutánea conocida como SPT (*skin prick test*), que consiste en una prueba para identificar la sustancia que puede desencadenar la reacción alérgica. Para ello se introduce en la piel una cantidad ínfima del posible agente causante, pero suficiente como para identificar la sustancia que provoca alergia. También se realiza una prueba de provocación alimentaria conocida como “*oral food challenge (OFC)*” para hacer un diagnóstico preciso de las reacciones adversas inmediatas y tardías a los alimentos. Un resultado negativo en la prueba indica la introducción de los alimentos en la dieta, mientras que un resultado positivo requiere seguir excluyendo los alimentos implicados. (14,15)

A veces mediante una endoscopia con biopsia se observa el aumento de las células inflamatorias. En el intestino delgado se puede observar edema, inflamación aguda y atrofia moderada de las vellosidades.

El tratamiento de la enterocolitis consiste en la eliminación del antígeno causante en la dieta, durante un intervalo de meses o años. En el caso de la leche, se debe tener en cuenta la gran frecuencia con que se presenta, por lo que se prefieren los hidrolizados de caseína y la mayoría de los pacientes responden. (12)

En general, en el 50% de los pacientes la hipersensibilidad se resuelve a los 18 meses de vida y, en el 90%, a los 36 meses. (16)

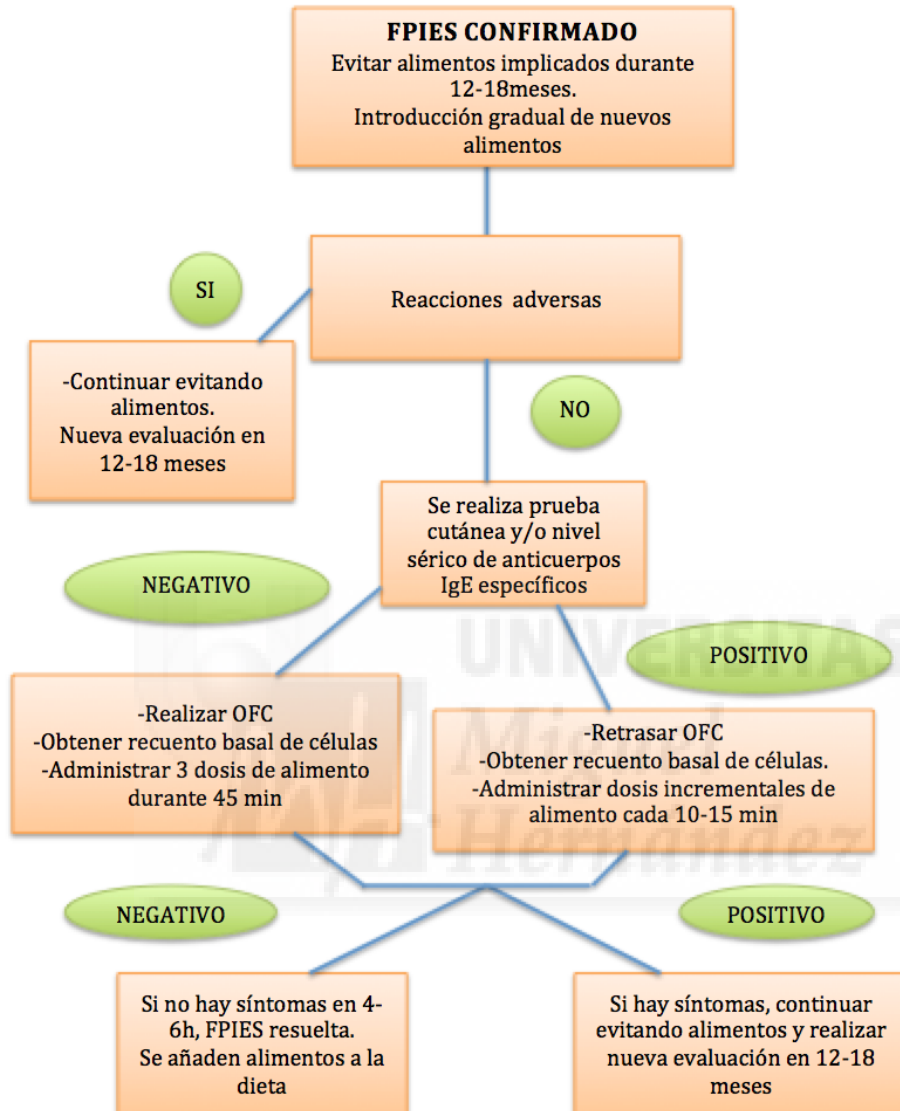


Figura 2. Manejo Empírico de FPIES en niños. Nowak-Wegrzyn A, Konstantinou G. Curr Pediatr Rep, 2014.

De los estudios revisados nos centramos en destacar dos de los más significativos, y que exploran el papel del sistema inmunitario específicamente en FPIES.

ESTUDIO DE FPIES POR LA INGESTA DE PESCADO EN LA POBLACIÓN PEDIÁTRICA

Entre los alimentos sólidos que más comúnmente están implicados en FPIES encontramos el pescado. Uno de los estudios realizados por *González-Delgado P et al. 2016*, fue el seguimiento durante un periodo de 9 años con 16 niños en el hospital general de Alicante, para evaluar los síntomas gastrointestinales después de la ingestión de pescado. (17)

Para comenzar el estudio, se realizó en los niños el SPT en la primera visita realizando la prueba del prick con extractos de diferentes especies de pescados como: merluza, lenguado, dorada, salmón, rape, anchoa y atún. También se realizó la prueba APT (*atopy patch test*) con los mismos extractos que para la prueba anterior, se introdujeron en cámaras finn y se colocaron en la espalda hasta la retirada 48 horas después. El eritema sólo no se consideró positivo, sin embargo, dio resultado positivo el eritema con infiltración, pocas pápulas, varias pápulas y vesículas siguiendo la clasificación EAACI/GA2LEN (18).

Se realizó también una prueba de provocación alimentaria (OFC) con el pescado, la cual consistía en administrar por vía intravenosa una dosis de 0,3g de proteína, dividida en dos dosis: primero un 25% de la cantidad total y dos horas más tarde el resto de la dosis. Se mantuvo en observación durante 4 horas y se obtuvo un recuento sanguíneo total antes y después de la prueba si era positiva. Para determinar la resolución de la prueba se siguieron los criterios de Powell (19).

Para el estudio se extrajo sangre de donantes sanos (grupo control) y pacientes alérgicos al pescado con diagnóstico confirmado. Se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (0.5×10^6 células/ml) con extractos de pescado (0,5mg/ml) o fitohemaglutinina (PHA) a una concentración de 100 ng/ml como grupo de control positivo. Las PBMC se dejaron durante 48 horas para activarse y los sobrenadantes se mantuvieron congelados hasta la cuantificación de citocinas. Se midieron las citoquinas IL-2, IL-4, IFN-g, IL-10,

IL-6, and TNF-a mediante el test ELISA (técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta en sangre mediante un anticuerpo). (20)

De los 16 pacientes con FPIES, 7 eran hombres y 9 eran mujeres. Trece de los 16 fueron amamantados durante al menos 3 meses y la edad media en la que empezaron los primeros síntomas fue a los 10 meses. El tiempo entre la ingestión de pescado y aparición de los síntomas fue de 2-4 horas y el diagnóstico se estableció después de una media de 4 reacciones. Doce pacientes fueron tratados de emergencia por vómitos profusos y dos pacientes ingresaron en la unidad de cuidados intensivos debido a deshidratación, hipotensión, y acidosis metabólica. Sólo un niño presentó síntomas de FPIES por marisco con una edad de 3 años.

La merluza y la pescadilla fueron los pescados más implicados, en la evaluación inicial las APT fueron positivas 6/16 con al menos cuatro especies de pescado implicadas, las más comunes: merluza, lenguado, rape y gallo. Cuando los niños fueron reevaluados dos años más tarde, sólo dos de seis niños dieron positivo en APT, y cuatro dieron negativo mientras que la prueba de OFC en estos cuatro niños fue positiva. La prueba de SPT y la IgE específica en el pescado dio lugar a resultados negativos en todos los casos. Se realizó una prueba de OFC para confirmar el diagnóstico y 22 para determinar la tolerancia. El recuento de neutrófilos después del resultado positivo mostró un aumento de 1250 células/mm³.

Se hizo seguimiento a los pacientes durante 9 años con la prueba de OFC cada 18-24 meses y actualmente sólo 3 niños tienen regularidad con el pescado después de conseguir la tolerancia en 4 años y medio.

Se midió la producción de citoquinas en el sobrenadante de las células mononucleares de sangre periférica de pacientes y grupo control después de la incubación con extractos de pescado usando como control positivo PHA. Los pacientes mostraron una respuesta más alta y significativa en la producción de TNF-a que el grupo control, y también una leve inducción de IL-6. Las demás citoquinas no mostraron cambios importantes.

Después de realizar este estudio, se ha podido concluir que FPIES comienza con la introducción de leche de vaca, pero que también tienen gran importancia alimentos sólidos como el pescado (21). En el estudio realizado se comprueba que la edad promedio de síntomas por pescado fue a los 9,8 meses lo que refleja la sucesión temporal de introducción de alimentos en la dieta (22). Trece de los 16 niños fueron amamantados por lo que se cree que la lactancia materna es un papel protector en FPIES o tiene efecto de retrasar la aparición de FPIES, pero no se puede confirmar con este estudio (23). Todos los niños presentaron síntomas con al menos dos especies de pescado, y la mayoría con tres, lo más comunes en la introducción de la dieta (merluza, pescadilla y lenguado). Con respecto a la edad de tolerancia sólo 3 niños consiguieron tolerar y consumir pescado antes de cumplir 5 años, ya que el 50% de los pacientes siguieron con síntomas después de los 6 años de edad, algunos incluso hasta los 9 años según otros estudios (23).

Además, según *González-Delgado P et al* en este estudio, el aumento de TNF- α por las células mononucleares de sangre periférica podría indicar una alteración de la respuesta inmune provocada en estos pacientes después de la ingesta de pescado y por tanto, funcionar como un biomarcador potencial para el diagnóstico (17).

ESTUDIO SOBRE LA POBLACION PEDIATRICA CON EL SÍNDROME FPIES INDUCIDO POR PROTEÍNAS ALIMENTARIAS A LA LECHE.

Se ha comprobado que la FPIES es predominante en niños que han recibido lactancia con leche de vaca, mientras que la lactancia materna previene dicho síndrome (24). Se ha sugerido que la IgA de la leche materna ya sea sola, o formando parte de un complejo de antígenos secretados, puede tener papel protector minimizando la antigenicidad de estas proteínas lácteas durante los primeros meses de vida. (25).

Para el estudio realizado por *Konstantinou GN et al., 2014* (26), un conjunto de niños previamente diagnosticados con FPIES por proteínas de la leche se sometieron a una prueba OFC en la Unidad de Investigación clínica de Mount Sinai. Durante esta prueba la proteína de la leche (0.06-0.6 g/kg de peso corporal basada en la gravedad de las reacciones en el hospital) se administró a los niños en tres dosis iguales durante una hora. En los casos en los que la OFC era positiva se cumplían tres requisitos: vómitos, diarrea y aumento del recuento de leucocitos en sangre (>3500 células/mm³) (27), éstos estuvieron en tratamiento y observación durante 6 horas hasta darles de alta. En los casos en los que la OFC fue negativa, la observación duró 4 horas. Se obtuvieron muestras de sangre antes de la prueba y después de ella, y además se incluyeron tres grupos control: niños con FPIES a otros alimentos distintos de la leche, niños con alergia a la leche mediada por IgE, y niños atópicos que nunca tuvieron alergia a la leche ni antecedentes de FPIES a ningún alimento (controles negativos).

A continuación, se midieron los niveles de IgE específicos de caseína (0.1-100 kUA/l), IgG (0.02-2 mgA/ml) e IgG4 (0-300 IgA/l). La concentración de IgA en suero e IgA específico de caseína se determinaron mediante el test ELISA (20). Se recubrieron placas Immulon 4HBX de 96 pocillos durante una noche a 4°C con un anticuerpo específico anti-IgA humana con 2 µg/ml para generar la curva estándar y para mediciones de IgA total, y con caseína a 5 µg/ml para detección y medición de IgA específico de caseína, todo diluido en un tampón carbonato-bicarbonato 0,05 mol/l (pH 9,6). Después del lavado con solución salina tamponada, las placas se bloquearon a 31°C durante 60 minutos. Anticuerpos monoméricos de IgA y muestras de suero preparadas en diluciones dobles en tampón de bloqueo a partir de 1:40 para IgA específica y 1:16x10⁴ para IgA total, se pipetearon y se incubaron a 31°C durante 2 horas. Se realizó otro lavado y se dejó desarrollar de nuevo a la misma temperatura durante 60 minutos.

Además, se realizó un ensayo de proliferación y estimulación de caseína en células mononucleares de sangre periférica con las muestras que se

obtuvieron después de la OFC. Se llevó a cabo la centrifugación y tinción con éster succinimidílico de diacetato de carboxifluoresceína durante 10 minutos. Se cultivaron un total de 2×10^6 células mononucleares durante 7 días con caseínas alfa, beta y k sin endotoxinas y en presencia de IL-2 a 37°C. Después de la centrifugación a 300 rpm durante 5 minutos, los sobrenadantes se almacenaron a -80°C hasta su uso.

Seguidamente, se llevó a cabo la realización de un bioensayo de determinación de TGF- β , utilizando la línea celular de fibroblastos de ratón, donde dichas células se sembraron en placas de cultivo de fondo plano de 96 pocillos y se cultivaron durante 24 horas a 37°C. Posteriormente, las células se lavaron dos veces y se incubaron durante 2 horas donde las muestras se diluyeron de 1:2 a 1:16 para medir el TGF- β bioactivo y de 1:16 a 1:128 para medir el TGF- β latente. Los sobrenadantes de cultivo se recogieron 24 horas después.

En cuanto a los resultados del estudio de *Konstantinou GN et al., 2014*, de los 31 niños con diagnóstico de FPIES que estuvieron asociados a una dieta restringida de leche antes de la OFC, 26 de ellos reaccionaron durante la prueba de OFC a la leche (FPIES a la leche), y 5 no reaccionaron (tolerantes a la leche). Como grupo control se incluyeron 12 niños con FPIES a otros alimentos diferentes a la leche y 6 niños atópicos sin antecedentes de FPIES a ningún alimento (controles negativos), donde los dos grupos ingerían leche de forma regular en su dieta. También se añadieron 12 niños con alergia a la leche mediada por IgE.

Los niveles séricos de anticuerpos IgG de caseína (cslgG), cslgG4, y cslgA fueron más altos en el grupo de niños con FPIES a otros alimentos en comparación con el grupo de niños con FPIES a la leche y el grupo de niños tolerantes a leche. Los niveles de IgA específicos de caseína fueron significativamente más altos en los controles negativos que en el grupo de niños con FPIES a la leche.

Se midió TGF- β bioactivo y latente en los sobrenadantes de las células mononucleares de sangre periférica estimuladas con caseína de 6 niños con

FPIES a la leche y 4 niños tolerantes a la leche, con muestras de sangre. No hubo respuestas de TGF- β bioactivas ni latentes en los sobrenadantes, mientras que TGF- β latente fue significativamente mayor en el grupo de niños tolerantes a la leche que los que poseían FPIES a la leche.

En el estudio de *Shek et al., 2005* (28), se muestran los detalles sobre IgA específica de la leche en pacientes y controles, en el que 11 niños con FPIES a la leche tenían niveles de anticuerpos séricos alfa, beta y k cslgA similares a niños tolerantes a la leche. En dicho estudio, los niños con FPIES a la leche tenían los niveles de anticuerpo séricos alfa, beta y k cslgG4 más bajos que los niños tolerantes.

Los niveles bajos de cslgG4 y cslgA en niños con FPIES a la leche, podrían explicar las reacciones que ocurren en FPIES debido a la capacidad de neutralización del microambiente intestinal.

Por otro lado, las células mononucleares de sangre periférica de niños con FPIES a la leche mostraron respuestas deficientes de TGF- β tras la estimulación con caseína en el estudio descrito.

Se ha demostrado que el TGF- β regula la integridad del epitelio intestinal manteniendo y recuperando la función de la barrera de los enterocitos humanos. Es así, que una interrupción de la función de la barrera epitelial, el antígeno potenciado a la submucosa y la posterior activación de linfocitos específicos de antígeno podrían explicar las respuestas deficientes de TGF- β . (29,30)

En conclusión a este estudio, según *Konstantinou GN et al, 2014*, los niños con FPIES a la leche tienen bajos niveles séricos de cslgA, cslgG y cslgG4 y las células mononucleares de sangre periférica de los mismos pacientes muestran respuestas deficientes de TGF- β tras la estimulación con caseína, que pueden desempeñar un papel importante en la fisiopatología de FPIES y podrían usarse como un biomarcador potencial de niños con FPIES a la leche.

DISCUSIÓN

La enterocolitis mediada por alimentos como la leche de vaca, afecta hasta a un 40% de la población infantil. Como se ha explicado, se manifiesta con vómitos, letargia, diarreas que pueden llevar a deshidrataciones o pérdida de peso y retraso en el crecimiento. En la mayoría de los casos se resuelve entre los tres y cinco años de edad. (13)

Después de analizar los dos estudios específicos podemos observar que el pescado es uno de los alimentos más propensos a inducir enterocolitis. También se plantea que el aumento de la citoquina TNF- α debido a las células mononucleares de sangre periférica podría actuar como biomarcador potencial para la detección de FPIES.

Un estudio realizado en Italia sobre enterocolitis por pescado (31), demostró que el lenguado y el bacalao fueron los principales pescados involucrados en la inducción de FPIES en niños, y un pequeño grupo fue diagnosticado también con enterocolitis por marisco. Por lo general, el marisco se añade tarde a las dietas de los niños, por lo que es aconsejable realizar una OFC antes de añadir dicho alimento a la dieta.

Según varios estudios, la cantidad mínima desencadenante de la reacción es muy difícil de establecer, ya que puede ser muy variable. En el estudio italiano el valor medio fue de 30 gramos, mientras que en el de Bansal *et al*, 2012, (32) el valor fue de 5 gramos en la primera reacción. Otro de los estudios (33) informó que dos de los pacientes desarrollaron síntomas después de la primera dosis, por lo que la cantidad de pescado o marisco no parece correlacionarse con la gravedad de los síntomas, pero estos datos no son el resultado de una investigación prospectiva y no pueden tomarse como ciertos.

Miceli Sopo S *et al*, 2015, añade que el sujeto que ha tenido una reacción adversa después de ingerir un tipo de pescado en su dieta no necesariamente excluye todos los tipos de pescados, al igual que ocurre con los mariscos. Se

aconseja realizar una OFC antes de ingerir este tipo de alimento, al menos hasta que se pueda demostrar la tolerancia al pescado implicado.

En cuanto a la leche de vaca se podría explicar que es el alimento más predominante a desarrollar FPIES mientras que la lactancia puede suponer un papel protector en los niños. En el caso de la leche de vaca, la deficiencia de TGF- β tras la estimulación con caseína podría usarse como biomarcador potencial.

Ya que la prevalencia de FPIES con la leche de vaca es relativamente alta, según un estudio de Katz Y *et al*, 2011, se sugiere que los pediatras conozcan bien esta afección para evitar hospitalizaciones innecesarias, y añadan a los criterios de diagnóstico los vómitos repetitivos en lugar de vómitos o diarreas. Se ha comprobado también en este estudio que la leche de soja podría ser una alternativa alimenticia razonable cuando hay enterocolitis por la leche de vaca.

(34)

CONCLUSIONES

Tras las distintas búsquedas de las publicaciones referentes al trabajo realizado mediante una revisión bibliográfica sobre papel inmunológico en la alergia alimentaria y específicamente detallado en FPIES, se puede concluir que:

- El sistema inmunológico tiene un papel fundamental en el desencadenamiento de la respuesta de hipersensibilidad, en este caso FPIES.
- Los niños alimentados con pescado y leche de vaca, tienen una probabilidad más alta de padecer enterocolitis. La citocina TNF- α podría

utilizarse como biomarcador para el diagnóstico de FPIES por pescado y TGF-b se postula como un biomarcador para FPIES por leche de vaca.

- La lactancia materna podría suponer un papel protector a padecer FPIES por la inmunización inherente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gaitano García, A. Alergia para enfermería. Manual básico de alergología. ACADI [Online] Barcelona; 2010.
2. Zubeldia J. M, Baeza, Ma L, Jáuregui I. Libro de las enfermedades alérgicas de la fundación BBVA [Online] Madrid; 2012.
3. Ira Fox S. Fisiología humana. 10^a Edición. Madrid: McGraw Hill-Interamericana; 2008.
4. Fernández J. Alergia elemental. 1ra.Edición. Universidad Miguel Hernández, España.
5. Johansson S. G. O, Hourihane J O'B, Bousquet J, Brujnzeel-Koomen, C. Dreborg S, Haahtela T, et al. A revised nomenclature for allergy. Allergy 2001; 56:813–24.
6. Brujnzeel-Koomen C, Ortolani C, Aas K, Bindslev-Jensen C, Bjorkstén B, Moneret-Vautrin D, et al. Adverse reactions to food. Position paper. Allergy 1995; 50:623-35
7. Burks W. Skin Manifestations Of Food Allergy. Pediatrics. 2003;111:1617-24.
8. Sicherer S. Clinical aspects of gastrointestinal food allergy in childhood. Pediatrics. 2003;111:1609-16.

9. James JM, Bernhisel-Beoadbent J, Sampson HA. Respiratory reactions provoked by double-blind food challenge in children. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;149:59-64.
10. Tejada Yábar, M. *Alergias alimentarias ¿y ahora qué?* 2da edición. International Marketing and Communications; 2011
11. Papadopoulos NG, Agache I, Bavbek S, Bilo BM, Braido F, Cardona V, et al. Research needs in allergy: an EAACI position paper, in collaboration with EFA. *Clin Transl Allergy.* 2012 Nov 2; 2(1):21.
12. De la Hoz Caballer M.B, Ibáñez Sandín M.D.P, Camarero Salces C, Martínez Gómez M.J, Diéguez Pastor M.C. Hipersensibilidad a los alimentos no mediada por IgE. Capítulo 52. En: Dávila González I.J, Peláez Hernández A. *Tratado de alergología. Tomo II.* Ergon.Majadahonda (Madrid). 2007
13. Nowak-Wegrzyn A, M.D. Food protein-induced enterocolitis syndrome and allergic proctocolitis. *Allergy Asthma Proc.* 2015 May-Jun; 36(3): 172–184
14. Nowak-Wegrzyn A, Assaad AH, Bahna SL, Bock SA, Sicherer SH, Teuber SS; Adverse Reactions to Food Committee of American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. Work Group report: oral food challenge testing. *J Allergy Clin Immunol.* 2009 Jun;123(6Suppl):S365-83.
15. Nowak-Wegrzyn A, Katz Y, Mehr SS, Koletzko S Non-IgE-mediated gastrointestinal food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2015 May;135(5):1114-24
16. Sampson HA, Anderson JA. Summary and recommendations: classification of gastrointestinal manifestations due to immunologic reactions to foods in infants and young children. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2000; 30: S87-S94
17. Gonzalez-Delgado P, Caparros E, Moreno MV, Clemente F, Flores E, Velasquez L, et al. Clinical and immunological characteristics of a pediatric population with food protein-induced enterocolitis syndrome (FPIES) to fish. *Pediatr Allergy Immunol* 2016; 27: 269–275.

18. Turjanmaa K, Darsow U, Niggemann B, Rance F, Vanto T, Werfel T. EAACI/ GA2LEN Position paper: present status of the atopy patch test. *Allergy* 2006; 61: 1377–84.
19. Sicherer SH. Food protein-induced enterocolitis syndrome: case presentations and management lessons. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 149–56.
20. Medline Plus. Artículo 3332. Test Elisa.
21. Mehr S, Kakakios A, Frith K, Kemp S. Food protein induced enterocolitis syndrome: 16 year experience. *Pediatrics* 2009; 123: e459–64.
22. Guibas GV, Tsabouri S, Makris M, Priftis KN. Food protein-induced enterocolitis syndrome: pitfalls in the diagnosis. *Pediatr Allergy Immunol* 2014; 257: 622–9.
23. Caubet JC, Ford LS, Sickles L, et al. Clinical features and resolution of food protein-induced enterocolitis syndrome: 10-year experience. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134: 382–9
24. Monti G, Castagno E, Liguori SA, et al. Food protein-induced enterocolitis syndrome by cow's milk proteins passed through breast milk. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 679–80.
25. Lake AM. Food-induced eosinophilic proctocolitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30Suppl: S58–60.
26. Konstantinou GN, Bencharitiwong R, Grishin A, Caubet JC, Bardina L, Sicherer SH, et al. The role of casein-specific IgA and TGF- β in children with food protein-induced enterocolitis syndrome to milk. *Pediatr Allergy Immunol* 2014.
27. Feuille N, Nowak-Wegrzyn A. Food Protein-Induced Enterocolitis and Enteropathies. En: Metcalfe DD, Sampson HA, Simon RA. *Food Allergy: Adverse Reactions to Foods and Food Additives*, 4th ed. Malden MA, 2008; 195–210.

28. Shek LP, Bardina L, Castro R, Sampson HA, Beyer K. Humoral and cellular responses to cow milk proteins in patients with milk-induced IgE-mediated and non IgE-mediated disorders. *Allergy* 2005; 60: 912–9
29. Planchon SM, Martins CA, Guerrant RL, Roche JK. Regulation of intestinal epithelial barrier function by TGF-beta 1. Evidence for its role in abrogating the effect of a T cell cytokine. *J Immunol* 1994; 153: 5730–9.
30. Suenart P, Maerten P, Van Assche G. Effects of T cell-induced colonic inflammation on epithelial barrier function. *Inflamm Bowel Dis* 2010;16: 1322–31.
31. Miceli Sopo S, Monaco S, Badina L, Barni S, Longo G, Novembre E, et al. Food protein-induced enterocolitis syndrome caused by fish and/or shellfish in Italy. *Pediatr Allerg Immunol*. 2015
32. Bansal AS, Bhaskaran S, Bansal RA. Four infants presenting with severe vomiting in solid food protein-induced enterocolitis syndrome: a case series. *J Med Case Rep* 2012; 6:160.
33. Zapatero Remón L, Alonso Lebrero E, Martín Fernández E, Martínez Molero MI. Foodprotein-induced enterocolitis syndrome caused by fish. *Allergol Immunopathol* 2005; 33:312-6.
34. Katz Y, Goldberg M, Rajuan N, Cohen A, Leshno M. The prevalence and natural course of food protein–induced enterocolitis syndrome to cow’s milk: A large-scale, prospective population-based study. *American Academy of Allergy, Asthma & Immunology* 2011; 127:647–653.