



VNiVERSiDAD D SALAMANCA

DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA, GINECOLOGÍA Y PEDIATRÍA

**SENSIBILIZACIÓN A LAS PROTEÍNAS DE LA LECHE DE VACA
Y DEL HUEVO: ESTUDIO DESCRIPTIVO, EVOLUTIVO Y
GENÉTICO DE UNA POBLACIÓN INFANTIL**

Memoria presentada por Doña Eva María Macías Iglesias para optar al grado de Doctor

El Prof. Dr. D. Félix Lorente Toledano, la Prof^a. Dra. Doña. María Isidoro García y el Prof. Dr. D. Ignacio J. Dávila González,

CERTIFICAN:

Que el trabajo titulado “Sensibilización a las proteínas de la leche de vaca y del huevo: estudio descriptivo, evolutivo y genético de una población infantil”, que presenta la licenciada en Medicina y Cirugía Doña Eva María Macías Iglesias ha sido realizado bajo nuestra dirección en el Departamento de Obstetricia, Ginecología y Pediatría y reúne, a nuestro juicio, originalidad y contenidos suficientes para que sea presentado ante el Tribunal correspondiente y optar al grado de Doctor por la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste y a los efectos oportunos, expedimos el presente certificado en Salamanca a de de 2009.

Fdo: Dr. Félix Lorente Toledano

Fdo: Dr. Ignacio J. Dávila González

Fdo: Dra. María Isidoro García

Dedico este trabajo a Antonio, mi marido, mi vida.

Quiero expresar mi agradecimiento a todos aquellos que han estado a mi lado en la consecución de este trabajo:

Al Dr. Félix Lorente Toledano, director de esta Tesis, porque ha sido mi Maestro, por todo lo que me ha permitido aprender de él, por su estímulo y su gran interés en que este trabajo saliera adelante.

A la Dra. María Isidoro García, codirectora de esta Tesis, por su apoyo, su ilusión y sus ánimos continuos, y por su completa dedicación en este trabajo, que ha hecho posible que salga adelante.

Al Dr. Ignacio Dávila González, codirector de esta Tesis, por la confianza que me ha demostrado desde el primer día que llegué al Servicio de Alergología, y por sus sabios consejos, tanto en lo profesional como en lo personal.

Al Dr. Carmelo Ávila Zarza, del Departamento de Estadística de la Universidad de Salamanca por su ayuda en el análisis de los resultados y, sobre todo, por el análisis multivariante.

A la Dra. Catalina Sanz Lozano y a Marién Pascual de Pedro, por tantos consejos en el laboratorio, y a David y a Laura, por esas confianzas y risas que te alegran tantas horas de trabajo, por esos buenos ratos que son los que nunca se olvidan.

A todo el Servicio de Alergología del Hospital Universitario de Salamanca por su apoyo, principalmente a María José por su total dedicación a los niños que participan en esta Tesis.

A Olalla, Cristina y Yolanda, por su paciencia y comprensión, por estar siempre a mi lado.

Y un especial agradecimiento a mi padre, porque pisé mi primer laboratorio de su mano a los 4 años, porque ha sido el mejor ejemplo que ha podido darme la vida, y porque sin él nada de esto hubiera sido posible.

“Lo que es alimento para algunos, es veneno para otros”

LUCRECIO, Sobre la naturaleza de las cosas

TABLA DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 PROTEÍNAS DE LA LECHE DE VACA.....	4
1.2 HIPERSENSIBILIDAD A LAS PROTEÍNAS DE LA LECHE DE VACA.....	5
1.3 ALERGIA A LAS PROTEÍNAS LÁCTEAS DE ORIGEN BOVINO MEDIADA POR INMUNOGLOBULINA E.....	6
1.3.1 Epidemiología y prevalencia.....	6
1.3.2 Factores de riesgo y patogenia.....	7
1.3.3 Alérgenos y naturaleza del antígeno.....	8
1.3.4 Diagnóstico.....	11
1.3.5 Tratamiento.....	20
1.3.6 Pronóstico, evolución y prevención.....	28
1.3.7 La leche como fuente de alérgenos ocultos.....	29
1.4 ALERGIA A LAS PROTEÍNAS LÁCTEAS DE ORIGEN BOVINO NO MEDIADA POR INMUNOGLOBULINA E.....	31
1.5 PROTEÍNAS DEL HUEVO.....	32
1.5.1 Epidemiología y prevalencia.....	32
1.5.2 Factores de riesgo y patogenia.....	33
1.5.3 Alérgenos y naturaleza del antígeno.....	34
1.5.4 Diagnóstico.....	37
1.5.5 Pronóstico, evolución y prevención.....	43
1.5.6 El huevo como fuente de alérgenos ocultos.....	45
1.5.7 Tratamiento.....	47

1.6 SENSIBILIZACIÓN A HUEVO Y/O LECHE COMO MARCADOR DE ATOPIA.....	49
1.7 ALERGIA ALIMENTARIA Y GENÉTICA.....	50
1.7.1 Gen <i>LTC4S</i>	53
1.7.2 Gen <i>CYSLTR1</i>	56
1.7.3 Gen <i>PTGDR</i>	59
2 HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	61
3 OBJETIVOS.....	65
4 MATERIAL Y MÉTODOS.....	69
4.1 POBLACIÓN ESTUDIADA.....	71
4.1.1 Pacientes.....	71
4.1.2 Controles.....	71
4.2 VARIABLES DEL ESTUDIO.....	73
4.2.1 Datos básicos y antecedentes.....	73
4.2.2 Datos clínicos.....	75
4.2.3 Estudio sobre la sensibilización a la leche y al huevo.....	80
4.2.4 Tratamiento.....	83
4.3 CUESTIONARIO.....	84
4.4 ANÁLISIS MOLECULAR.....	84
4.4.1 Extracción de ADN.....	84
4.4.2 Reacción en cadena de la polimerasa.....	86
4.4.3 Visualización.....	87
4.4.4 Purificación de los fragmentos de ADN amplificados.....	88
4.4.5 Secuenciación automática del ADN.....	89
4.4.6 Análisis bioinformático de las secuencias.....	90
4.4.7 Control de calidad del laboratorio.....	91

4.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	91
4.5.1 Análisis descriptivo.....	91
4.5.2 Análisis bivalente.....	92
4.5.3 Análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas.....	92
4.5.4 Estudios de interacción entre genes.....	93
4.5.5 Correlación canónica no lineal.....	95
5 RESULTADOS.....	97
5.1 ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA.....	99
5.1.1 Características de la población de estudio.....	99
5.1.2 Antecedentes personales y familiares de interés.....	101
5.1.3 Factores ambientales.....	104
5.1.4 Manifestaciones clínicas en los niños con sensibilización a las proteínas lácteas de origen bovino.....	106
5.1.5 Manifestaciones clínicas de los niños con sensibilización a las proteínas del huevo.....	107
5.1.6 Tratamientos previos recogidos en la primera visita.....	108
5.1.7 Evaluación alergológica de los pacientes con SPLOB en la primera visita.....	109
5.1.8 Evaluación de los pacientes con sensibilización a las proteínas del huevo en la primera visita.....	110
5.1.9 Evolución de los pacientes con sensibilización a las PLOB y a las proteínas del huevo.....	112
5.1.10 Evaluación alérgica tras alcanzar la tolerancia en los pacientes con SPLOB.....	114
5.1.11 Evaluación alérgica tras la tolerancia en los pacientes con sensibilización a las proteínas del huevo.....	115
5.1.12 Seguimiento evolutivo de los pacientes con SPLOB.....	116
5.1.13 Seguimiento evolutivo de los pacientes con sensibilización a las proteínas del huevo.....	120
5.1.14 Estudio descriptivo de los grupos: sensibilización exclusiva a las proteínas de la leche y sensibilización exclusiva a las proteínas del huevo.....	124
5.2 ESTUDIO DE COMPARACIÓN DE VARIABLES.....	125
5.2.1 Antecedentes personales y familiares.....	125

5.2.2	Antecedentes en relación con el ambiente.....	127
5.2.3	Ingesta de ácido fólico durante el embarazo.....	128
5.2.4	Sensibilización a la leche y al huevo y posterior desarrollo de sensibilizaciones y patología alérgica.....	131
5.2.5	Tolerancia a los alimentos.....	133
5.2.6	Estudio en pacientes con evolución superior a 5 años.....	134
5.2.7	Estudio <i>in vitro</i>	135
5.3	ESTUDIO DE ASOCIACIÓN GENÉTICA.....	136
5.3.1	<i>LTC4S</i>	136
5.3.2	<i>CYSLTR1</i>	138
5.3.3	<i>PTGDR</i>	140
5.4	ANÁLISIS MULTIVARIANTE DE CORRELACIÓN CANÓNICA NO LINEAL.....	141
5.4.1	Control de consistencia.....	157
6	DISCUSIÓN	163
7	CONCLUSIONES	199
8	BIBLIOGRAFÍA	205
9	ANEXOS	225
9.1	ANEXO 1.....	227
9.2	ANEXO 2.....	239

TABLA DE ABREVIATURAS

aa: aminoácido

AAS: ácido acetil-salicílico

ADN: ácido desoxirribonucleico

ALA: alfa-lactoalbúmina

APLOB: alergia a proteínas lácteas de origen bovino

BLG: beta-lactoglobulina

BSA: seroalbúmina bovina

Cols: colaboradores

CON: conalbúmina

COX: ciclooxigenasa

CSA: albúmina sérica de pollo

CYSLTR1: gen del receptor de tipo 1 de los leucotrienos cisteinílicos

DA: dermatitis atópica

DT: desviación típica

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

FEV1: volumen espirado forzado en el primer segundo

IC: intervalo de confianza

IgE: inmunoglobulina E

IL: interleucina

ITSL: inmunoterapia sublingual

Lf: lactoferrina

LOAEL: nivel más bajo con efecto adverso observado

LT: leucotrieno

LTC4S: gen de la sintasa del leucotrieno C4

MTHFR: metilentetrahidrofolato reductasa

NOAEL: nivel sin efecto adverso observado

OR: *odds ratio*

OVA: ovoalbúmina

OVM: ovomucoide

Pb: pares de bases

PC: pruebas cutáneas

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

PEF: flujo espiratorio máximo

PG: prostaglandina

PGDS: prostaglandina D2 sintetasa

PLOB: proteínas lácteas de origen bovino

PODCCP: provocación oral doble ciego controlada con placebo

PTGDR: gen del receptor de la prostaglandina D2

RI: rango intercuartílico

SNP: polimorfismo de un único nucleótido

SPINK5: gen del inhibidor de la serín proteasa Karzal tipo 5

SPLOB: sensibilización a proteínas lácteas de origen bovino

TGF-β1: Factor de crecimiento tumoral beta 1

VPN: valor predictivo negativo

VPP: valor predictivo positivo

χ^2 : Chi cuadrado

1. INTRODUCCIÓN



1. INTRODUCCIÓN.

Los alimentos de origen animal constituyen una fuente importante de elementos necesarios para el crecimiento y desarrollo del organismo humano. Poseen un elevado contenido nutricional y aportan cantidades importantes de vitaminas, minerales y proteínas de un alto valor biológico, al poseer todos los aminoácidos esenciales para el hombre. En circunstancias normales, el sistema inmunitario de las mucosas es capaz de diferenciar los nutrientes de los agentes patógenos, produciendo una respuesta de tolerancia frente a los primeros y defensiva frente a los segundos. Sin embargo, en determinados individuos los nutrientes se pueden convertir en una fuente antigénica frente a la que el organismo desarrolla una respuesta inmunológica dependiente o independiente de la inmunoglobulina E (IgE). Además, pueden producir reacciones no inmunológicas que pueden simular reacciones alérgicas, dificultando así el diagnóstico.

Por su parte, la IgE específica puede reconocer estructuras antigénicas de proteínas procedentes de fuentes diferentes que presenten cierto grado de similitud entre sí. Este fenómeno, denominado reactividad cruzada es responsable de la detección, en un mismo individuo, de IgE específicas dirigidas frente a alérgenos de diferentes especies con los que puede que incluso nunca haya tenido contacto y que, al exponerse a ellos, podría o bien desarrollar una reacción alérgica o bien presentar tolerancia clínica. La tolerancia, en estos casos, suele estar en relación inversa con la proximidad taxonómica de las diferentes especies de animales.

1.1. PROTEÍNAS DE LA LECHE DE VACA.

La leche constituye el alimento fundamental de todos los mamíferos recién nacidos, siendo cualitativa y cuantitativamente distinta según las diferentes especies. La leche de mujer es el alimento más adecuado para el ser humano recién nacido y aporta no sólo los nutrientes en una composición adecuada, sino también factores tróficos y factores que influyen sobre el desarrollo del neonato. Sin embargo, en ocasiones y por distintas circunstancias es preciso recurrir a una lactancia artificial. El problema viene porque, desde el punto de vista de la composición proteica, la leche de vaca, habitualmente empleada como alternativa a la leche humana, contiene un 80% de caseína y un 20% de proteínas séricas, frente al 40% de caseína y al 60% de proteínas séricas que contiene la leche de mujer. Además, en la leche de vaca está presente la beta-lactoglobulina (BLG), ausente en la leche de mujer, y una de las proteínas implicadas con mayor frecuencia en las reacciones alérgicas a la leche de vaca (Figura 1).

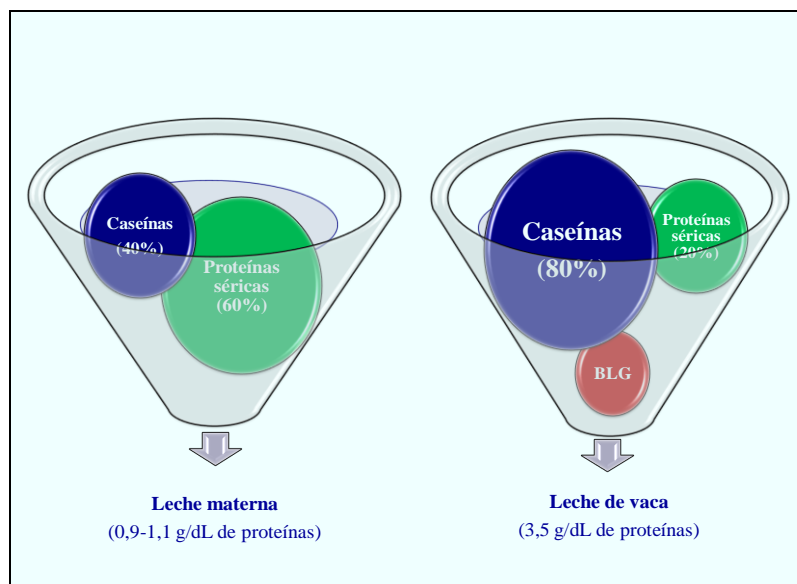


Figura 1. Diferencias en la composición proteica entre la leche materna y la leche de vaca.

Las fórmulas de leche de vaca utilizadas para la lactancia artificial tienen un aminograma semejante al de la leche humana, con la particularidad de que la BLG se encuentra sobrerrepresentada en las fórmulas infantiles en comparación con la leche de vaca que consumen los adultos. La introducción de proteínas extrañas durante los primeros meses de vida, cuando se están estableciendo los mecanismos de tolerancia inmunológica, tiene como consecuencia una elevada frecuencia de reacciones adversas. Las reacciones alérgicas a las proteínas de la leche de vaca son reacciones adversas de mecanismo inmunológico con frecuencia mediadas por IgE^{1,2}.

1.2. HIPERSENSIBILIDAD A LAS PROTEÍNAS DE LA LECHE DE VACA.

Según la Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica (EAACI), la hipersensibilidad a las proteínas de leche de vaca se define como una reacción adversa que causa síntomas objetivamente reproducibles tras la exposición a este alimento, a dosis que son bien toleradas por sujetos normales³. Si se demuestra o existe evidencia de un mecanismo inmunológico de cualquier tipo se denominará alergia; en caso contrario pasa a denominarse hipersensibilidad no alérgica, que se corresponde con algunos de los cuadros anteriormente referidos como intolerancia.

Con estos criterios, lo que se denomina alergia a la leche de vaca o, con mayor precisión, alergia a las proteínas lácteas de origen bovino (APLOB), comprendería tanto los cuadros mediados por IgE como los mediados por otros

mecanismos inmunológicos con clínica predominantemente digestiva, denominados globalmente reacciones alérgicas no mediadas por IgE. No quedan incluidos los cuadros de intolerancia, que pertenecerían a la hipersensibilidad no alérgica a alimentos, entre los cuales el más común es la deficiencia de lactasa.

1.3. ALERGI A LAS PROTEÍNAS LÁCTEAS DE ORIGEN BOVINO MEDIADA POR INMUNOGLOBULINA E.

1.3.1. EPIDEMIOLOGÍA Y PREVALENCIA.

Según datos publicados recientemente en la literatura médica la prevalencia de alergia a la leche de vaca en el primer año de vida alcanza hasta un 3% de la población, afectando sobre todo a los niños menores de tres años, en los que la prevalencia puede llegar a alcanzar el 8%, si bien hasta un 15% de los lactantes pueden presentar síntomas sugestivos de APLOB⁴. En España, durante el primer año de vida la alergia confirmada a este alimento es de hasta un 1,9%^{5,6} y ocupa el tercer lugar después de la alergia al huevo y al pescado^{7,8}.

Casi dos tercios de las reacciones producidas por APLOB se producen en los dos primeros años de vida, en relación con la introducción de las fórmulas adaptadas en los lactantes, siendo excepcional la aparición de la alergia a las proteínas de leche de vaca en la edad adulta⁹.

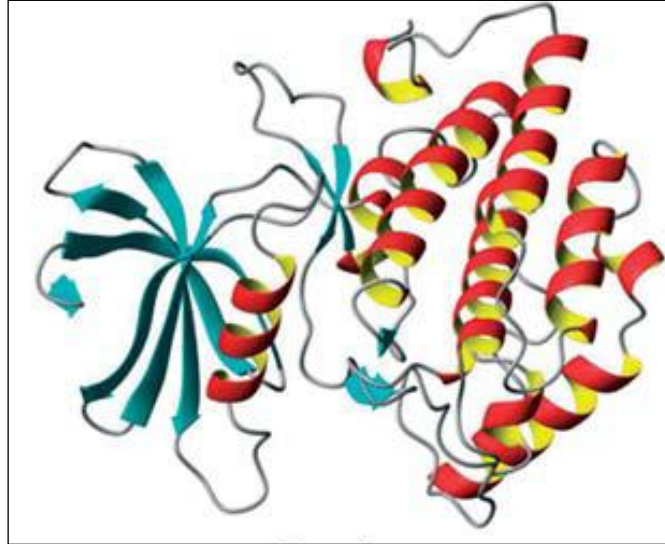


Figura 2. Representación tridimensional de la caseína.

1.3.2. FACTORES DE RIESGO Y PATOGENIA.

La exposición a las PLOB en un contexto favorecedor (factores de riesgo) puede suscitar la producción de IgE específica. El contacto posterior con el alérgeno provocaría la liberación de mediadores que causan la clínica típica de las manifestaciones alérgicas.

Se consideran factores de riesgo para padecer APLOB la carga atópica familiar y su administración intermitente durante la lactancia natural, sobre todo durante las primeras semanas de la vida. Se discute el papel como factor de riesgo de la administración en los primeros días de vida de PLOB con posterior lactancia materna^{10,11} e incluso de la lactancia materna muy prolongada¹², así como el de la sobrecarga antigénica de la madre durante el embarazo y la lactancia y los cambios de la microflora intestinal que favorecerían la prolongación de la situación de predominio Th2 en el feto.

Recientemente se han identificado en el calostro materno factores moduladores, como el factor de crecimiento tumoral beta 1 (TGF- β 1), que algunos autores encuentran disminuido en la leche de las madres de niños con APLOB mediada por IgE¹³. La variación en los contenidos de algunas citocinas, como las interleucinas (IL) IL-4, IL-5 e IL-13, en el calostro humano y su efecto como estimulantes de los linfocitos Th2, podría justificar la controversia sobre los aspectos preventivos de la lactancia materna¹⁴.

1.3.3. ALÉRGENOS Y NATURALEZA DEL ANTÍGENO.

La leche de vaca contiene un total de 3 gramos de proteína por 100 ml, incluyendo al menos 25 proteínas distintas, entre proteínas séricas (se mantienen solubles en el suero tras someter la leche al efecto de enzimas) y caseínas (proteínas que precipitan por acción enzimática)¹⁵, pudiendo actuar todas ellas como antígenos en el caso de la especie humana. La composición proteica de la leche entera se resume en la tabla 1. Las caseínas (Figura 2) constituyen el 80% del total, identificándose tres caseínas básicas caracterizadas de la siguiente manera: (i) los alérgenos Bos d 8 alfa 1 y alfa 2, que representan el 42% del total y cuyas masas moleculares son 23,6 y 25,2 kDa respectivamente; (ii) la beta caseína, de 23,9 kDa, que supone el 28%; y (iii) la caseína kappa de 19 kDa, que supone el 10%. Las proteínas del suero representan el 20% del total y comprenden: (i) la beta-lactoglobulina (BLG) (Figura 3), caracterizada como el alérgeno Bos d 5, de 18,3 kDa y que representa un 9%; (ii) la alfa-lactoalbúmina (ALA), se que corresponde con el alérgeno Bos d 4, de 14,2 kDa, y que representa un 5%; (iii) la inmunoglobulina bovina (BGG) caracterizada como el alérgeno Bos d 7, que supone un 3%; (iv) la albúmina sérica o Bos d 6, de 66,3 kDa, que constituye un 1%; y (v) pequeñas cantidades de lactoferrina (Lf), de 80 kDa, transferrina, lipasa y enterasa, que

suponen hasta un total del 2% de las proteínas totales. Las masas moleculares de las proteínas que componen la leche de vaca se describen en la tabla 1.

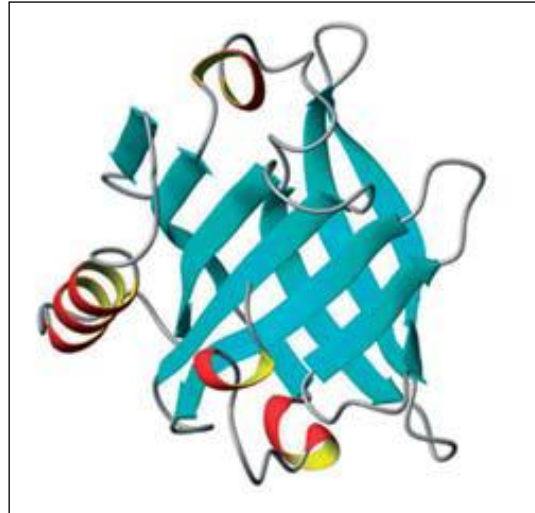


Figura 3. Representación tridimensional de la beta-lactoglobulina (BLG)

Para muchos autores la BLG es la responsable de la mayor parte de las sensibilizaciones¹⁶, ya que se trata de una proteína que no existe en la especie humana y se encuentra en la leche materna en mínimas cantidades debido a los lácteos ingeridos por la madre. Son estas pequeñas cantidades las causantes de que sea la proteína frente a la cual se encuentra un mayor porcentaje de sensibilizaciones; no obstante, para otros autores el alérgeno más relevante sería la caseína¹⁷. La resistencia de la BLG a la hidrólisis ácida y a las proteasas hace posible su absorción a través de la mucosa intestinal^{18,19}, pudiendo encontrarse en la leche de mujer y ser responsable de la sensibilización y de la alergia en el lactante²⁰. Se ha descrito que la presencia de IgE específica dirigida frente a determinados epítomos de la BLG y de la caseína se correlaciona con una persistencia de la alergia a las proteínas lácteas de origen bovino²¹.

La alfa-lactoalbúmina bovina presenta una secuencia de aminoácidos con bastante homología con la alfa-lactoalbúmina humana.

Tabla 1. Composición proteica y alergénica de la leche de vaca.

	PROTEÍNAS	%	ALÉRGENO	PM (kDa)
CASEÍNAS (80%)	α caseína s1	32	Bos d 8 α1	23,6
	α caseína s2	10	Bos d 8 α2	25,2
	β caseína	28		23,9
	κ caseína	10		19
PROTEÍNAS SÉRICAS (20%)	β lactoglobulina	9	Bos d 5	18,3
	α lactoalbúmina	5	Bos d 4	14,2
	inmunoglobulinas	3	Bos d 7	
	albúmina sérica	1	Bos d 6	66,3
	lactoferrina	trazas		80
	lisozima	trazas		
	β2 microglobulina	trazas		
	orosomucoide	trazas		

La leche de otros rumiantes utilizada en la alimentación humana (cabra, oveja) contiene proteínas con estructura y propiedades biológicas semejantes a las de la vaca y presenta reactividad cruzada inmunológica con ésta, que se acompaña frecuentemente de expresión clínica²². Esto ocurre en menor medida con la leche procedente de otras especies (yegua, burra, camella)²³. Con respecto a la carne de vaca y de otros mamíferos la reactividad cruzada que existe con la leche de vaca no suele acompañarse de reactividad clínica. Afectaría sólo, según algunos investigadores, al 3% y aún menos (2%) si el alimento se ingiere muy cocinado, ya que la proteína responsable, la

seroalbúmina bovina (BSA), es termolábil^{24,25} y su alergenicidad se pierde en la carne cocinada.

1.3.4. DIAGNÓSTICO.

El diagnóstico de la alergia a las proteínas de leche de vaca se basa en la sospecha clínica, las pruebas cutáneas, la determinación de IgE sérica específica y, en los casos en que sea necesario, en la prueba de provocación (Figura 4). Debido a que la sensibilización en la infancia es transitoria en muchos casos, el diagnóstico debe ser revisado periódicamente. Normalmente, la primera reacción tras la que se realiza un estudio completo al paciente suele ocurrir en el primer semestre de vida. Posteriormente, se realizan revisiones semestrales hasta los 3 años y, finalmente, se continúa con un estudio anual hasta la tolerancia.

A. MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

El inicio de los síntomas suele coincidir con la introducción de la fórmula adaptada en la alimentación, tras un periodo de lactancia materna. Puede aparecer clínica en la primera o en tomas sucesivas, aunque el intervalo entre la introducción de la fórmula adaptada y la clínica no suele ser superior a una semana. La sintomatología típica casi siempre se desarrolla en un tiempo inferior a 60 minutos tras la ingestión de la leche adaptada, y se expresa con la clínica característica de las reacciones mediadas por IgE. Las reacciones que se inician varias horas o incluso días después de la ingestión de proteínas de leche de vaca no suelen estar mediadas por IgE.

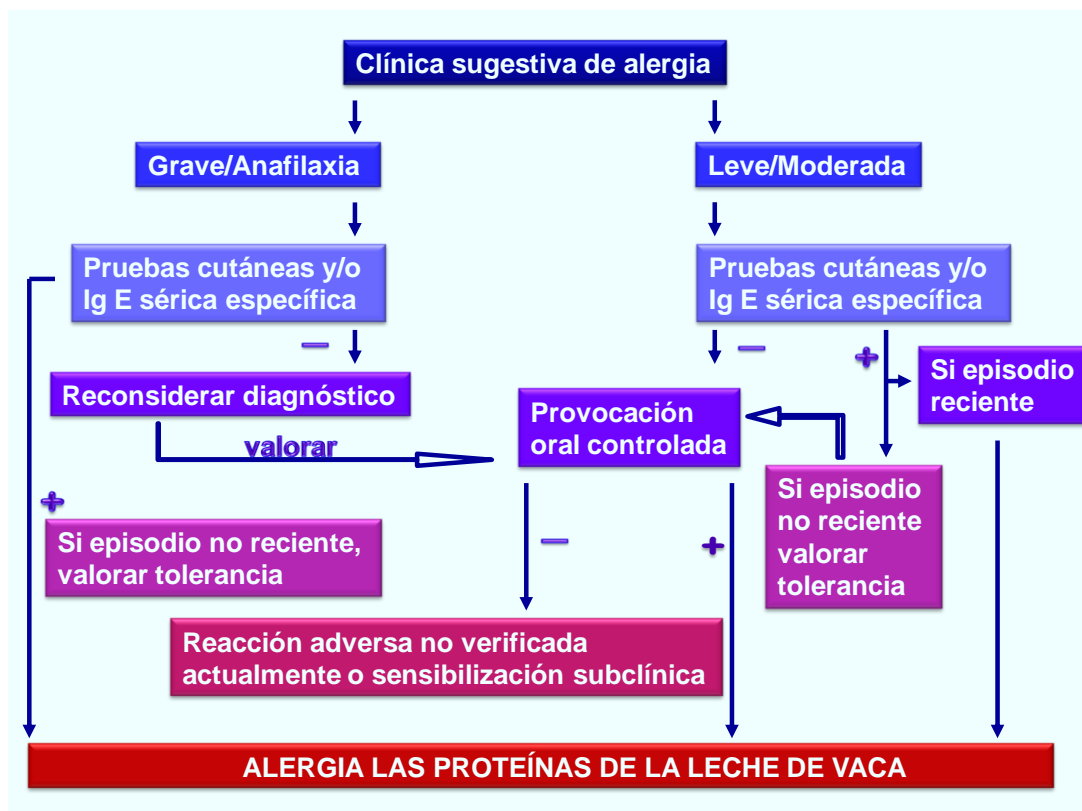


Figura 4. Algoritmo diagnóstico de alergia a PLOB (procedente de Alonso E. y cols.)²⁶

La gravedad de los cuadros de APLOB es variable, desde síntomas cutáneos muy leves hasta anafilaxia, dependiendo del grado de sensibilización y de la cantidad ingerida. En los pacientes poco sensibles puede ser necesario alcanzar una dosis umbral alta, mientras que en los pacientes que sufrieron una anafilaxia pueden aparecer reacciones graves con pequeñas trazas de proteínas lácteas ocultas. La clínica puede aparecer, además de por ingestión, por contacto o por inhalación, y cede con o sin tratamiento, quedando el paciente asintomático hasta un nuevo contacto con las proteínas²⁷.

Por orden de frecuencia, lo más habitual son los síntomas cutáneos (70%), seguidos de los digestivos (13%) o la asociación de ambos (18%). Los síntomas respiratorios y la anafilaxia aparecen en un 1% de los casos²⁸ (Figura 5).

Sintomatología cutánea: La gran mayoría de niños (75-92%) con APLOB presentan más de un síntoma. La sintomatología dermatológica aguda (eritema generalizado, con o sin urticaria aguda, o con componente de angioedema) constituye el cuadro clínico más frecuente, presentándose en algo más del 50% de los pacientes; un 10-15% de los casos presenta sólo síntomas locales de tipo eritema perioral tras la ingestión de la fórmula adaptada. Algunos pacientes desarrollan síntomas con anterioridad a la introducción de la lactancia artificial, manifestándose en forma de eritema o urticaria localizados en las zonas de contacto accidental con la leche. Con cierta frecuencia se observan lactantes con APLOB cuya primera manifestación, incluso a veces única, es el rechazo a la toma de biberón de leche adaptada. La dermatitis atópica, que constituye un problema muy frecuente en los primeros meses de vida, puede ser provocada o exacerbada por la ingestión de PLOB^{29,30}.

Sintomatología digestiva: Las manifestaciones gastrointestinales agudas como los vómitos o la diarrea pueden presentarse solas, pero en el 30% de los casos se asocian a otras manifestaciones clínicas. Los vómitos constituyen una manifestación frecuente de alergia mediada por IgE, pero es excepcional que una sensibilización de tipo inmediato llegue a causar cuadros de diarrea prolongada. En los niños menores de 12 meses se ha descrito la asociación de reflujo gastroesofágico y alergia a las PLOB^{31,32}. El rechazo sistemático del biberón junto con llanto e irritabilidad en un lactante sin otros signos patológicos, pueden ser signos iniciales sugestivos de alergia a las PLOB, aunque luego suelen seguirse de otros más objetivos.

Sintomatología respiratoria: Son excepcionales como síntomas aislados en la lactancia, aunque pueden encontrarse acompañando a manifestaciones sistémicas. Consisten en sibilancias recurrentes, estridor, tos o rinoconjuntivitis. Los cuadros de rinoconjuntivitis aguda con secreción nasal serosa, estornudos y lagrimeo se observan

con frecuencia durante las provocaciones controladas³³, precediendo a la afectación de otros órganos.

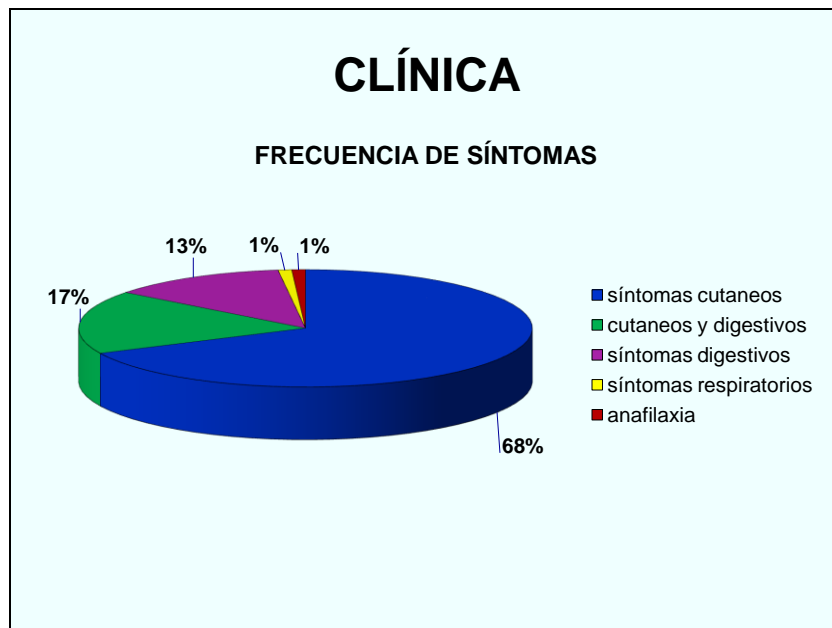


Figura 5. Frecuencia de síntomas en pacientes con APLOB^{4,28}

Anafilaxia: Los síntomas graves, que constituyen en algunas series hasta el 1% de las formas de comienzo, se han relacionado por algunos autores con la muerte súbita³⁴. La clínica de anafilaxia es más frecuente durante el periodo de lactancia que en otras edades, aunque en los pacientes mayores de 4 años con alergia persistente a la leche de vaca la clínica grave puede ser muy frecuente³⁵. No se dispone de datos sobre la incidencia y prevalencia reales de anafilaxia por proteínas de leche de vaca. Los cuadros clínicos de anafilaxia pueden clasificarse en cuadros graves con compromiso vital por edema de glotis o choque anafiláctico, y cuadros generalizados con compromiso de más de un órgano. El edema de glotis se inicia a los pocos minutos de la ingestión y suele acompañarse de urticaria o angioedema facial. El choque anafiláctico se suele iniciar en la primera hora tras la ingestión de PLOB, con una disminución de la

tensión arterial, y puede acompañarse o no de otros síntomas de los ya descritos. Los cuadros generalizados suelen tener un predominio de sintomatología cutánea, con eritema, prurito, urticaria y angioedema, acompañados de vómitos, dolor abdominal agudo o dificultad respiratoria.

Con el tiempo, la gravedad de la sintomatología y el tipo de clínica presentada por el paciente pueden variar, y la mayoría de los niños con alergia a las PLOB tienen una evolución favorable hacia la tolerancia.

B. PRUEBAS CUTÁNEAS INTRAEPIDÉRMICAS (*PRICK*).

Las pruebas cutáneas se realizan mediante punción con leche entera y sus fracciones proteicas: alfa-lactoalbúmina, beta-lactoglobulina y caseína, según técnicas estandarizadas^{36,37}. La sensibilidad de las pruebas cutáneas es muy variable (50-100%)^{38,39} en función de la edad y la sensibilización del paciente, del cuadro clínico y, posiblemente, del extracto empleado, por lo que los resultados no siempre son extrapolables. En nuestro medio, algunos grupos encuentran, en niños menores de 1 año y empleando antígenos comerciales, una sensibilidad del 99% y una especificidad del 38% con un valor predictivo negativo (VPN) del 97% y un valor predictivo positivo (VPP) del 56%⁴⁰. Utilizando antígenos comerciales y en pacientes con dermatitis atópica de diferentes edades, algunos investigadores obtienen una sensibilidad del 94% con una especificidad del 46%⁴¹.

Por lo tanto, una prueba intraepidérmica negativa prácticamente descarta la sensibilización a la leche, pero una positiva tiene menor capacidad de discriminación, sin que se pueda asegurar que un sea paciente alérgico a pesar de su positividad.

La utilidad de realizar un estudio de sensibilización a las fracciones proteicas, tanto en pruebas cutáneas como *in vitro*, radica en la búsqueda de una mayor sensibilidad (beta-lactoglobulina) y de una utilidad pronóstica (caseína).

C. INMUNOGLOBULINA E ESPECÍFICA.

Está en discusión si la magnitud de los valores de la IgE guarda relación con la gravedad de la sintomatología. Los valores iniciales no permiten predecir la tolerancia^{42,43}, pero ésta se suele acompañar de un descenso en los títulos de IgE específica⁴⁴. En un estudio realizado por Sampson y colaboradores, en el que analizaban los valores de IgE específica frente a determinados alimentos y el riesgo de presentar una provocación oral positiva en una población de niños y adolescentes, los autores concluyeron que el descenso de la IgE específica frente a la BLG y la caseína se relacionaba con el desarrollo de tolerancia⁴⁵.

Otro grupo de trabajo está tratando de determinar la relación entre las provocaciones positivas con leche de vaca y los niveles de IgE específica frente a la misma, concluyendo, hasta el momento actual, que existe una asociación inversa entre los niveles de IgE y las dosis de leche con la que se obtiene una provocación positiva, por lo que en la APLOB la positividad de la prueba de tolerancia oral dependerá de los niveles de IgE específica frente a la leche, si bien los autores advierten que la edad de los pacientes puede ser otro factor determinante⁴⁶.

D. PRUEBAS EPICUTÁNEAS.

En los pacientes con dermatitis atópica algunos autores encuentran útiles y de gran rendimiento diagnóstico las pruebas epicutáneas realizadas con leche en polvo⁴⁷⁻⁴⁹, que se realizan mediante la colocación de parches según la técnica convencional⁵⁰. Sin embargo, para otros investigadores son inespecíficas, irritantes y poco discriminativas⁵¹. La prueba del parche consiste en una exposición de la piel a un alérgeno en condiciones especiales y limitada local y temporalmente. El alérgeno está situado en contacto con una zona de piel normal, habitualmente en la parte superior de la espalda, y se mantiene utilizando unos dispositivos adecuados, generalmente oclusivos. Si el paciente está sensibilizado al alérgeno, se producirá una reacción localizada de hipersensibilidad del tipo IV⁴⁷. Majamaa y colaboradores⁴⁹ realizaron un estudio con 143 niños en el que encontraron una asociación entre las respuestas a los alimentos en la provocación oral y el resultado de las pruebas epicutáneas con leche de vaca. Así, mientras que las reacciones inmediatas se asociarían con una respuesta positiva en la prueba intraepidérmica y en la determinación de IgE específica, en las reacciones tardías (exacerbación de la dermatitis atópica, síntomas digestivos tardíos) la rentabilidad de las pruebas epicutáneas sería buena (sensibilidad en torno al 75% y especificidad del 95%).

Del mismo modo, de Boissieu y colaboradores⁵² proponen las pruebas epicutáneas como herramienta diagnóstica útil en el caso de APLOB no mediada por IgE, pero sólo presentan dos casos clínicos.

Por otro lado, Vanto y colaboradores⁵³, en un estudio realizado con 301 niños no observaron una asociación significativa entre el resultado de las pruebas epicutáneas y el resultado de la provocación, ni tampoco pudieron determinar una relación entre los resultados de los parches y una respuesta inmediata, tardía o negativa en la prueba de

provocación. Este grupo apuntó que las diferencias con respecto al estudio de Majamaa y colaboradores⁴⁹ podrían deberse a una población con una edad media menor y a la diferente definición o interpretación de la reacción tardía. Además, encontraron también respuestas irritantes. Hay que comentar que las pruebas epicutáneas falsamente negativas se han observado ya en estudios previos con población pediátrica⁴⁷.

E. OTRAS PRUEBAS.

En los últimos años se está planteando la utilización de otras técnicas de aproximación clínica como complemento a las referidas. La provocación labial y la prueba de contacto cutáneo o de frotamiento (*rubbing-test* o *Skin Application Food Test*, SAFT) son métodos útiles, rápidos, seguros y con un elevado valor predictivo negativo⁵⁴.

F. PROVOCACIÓN ORAL CON LECHE.

Aunque la prueba de provocación o tolerancia es la única prueba definitiva para el diagnóstico de alergia a los alimentos, no siempre resulta necesaria. En los pacientes con una reacción grave o con reacciones leves inmediatas, repetidas y recientes en relación con la ingestión o el contacto con leche de vaca, la demostración de IgE específica elevada puede ser suficiente para confirmar el diagnóstico^{55,56,57} (Figura 4). La prueba de provocación oral, por lo tanto, debe realizarse cuando sea necesaria para confirmar el diagnóstico, para el seguimiento, y con fines de investigación. La provocación abierta es la utilizada habitualmente en los niños en la práctica clínica. Además la prueba de provocación no está indicada en el primer año ante los casos

siguientes²⁶: Clínica anafiláctica con estudio alergológico positivo, clínica sugestiva, repetida, con estudio alergológico positivo y con un intervalo inferior a tres meses desde el primer episodio o mientras se continúe con la lactancia materna.

La prueba de provocación debe realizarse siempre en el medio hospitalario. En los lactantes se utilizará siempre una fórmula adaptada, a la concentración habitual (5 gramos en 30 ml de agua), comenzando con 5 ml y aumentando a intervalos de 30 minutos hasta llegar a la dosis que le corresponda para su edad. En los niños mayores de un año la prueba de provocación puede realizarse con leche de vaca entera.

Un grupo de investigación de nuestro país ha realizado estudios para determinar los niveles umbrales de reactividad en pacientes alérgicos a la leche, estableciendo el NOAEL (nivel sin efecto adverso observado) y el LOAEL (nivel más bajo con efecto adverso observado), mediante provocación oral doble ciego controlada con placebo (PODCCP) con leche liofilizada pasteurizada. Los autores emplearon un rango de dosis de 3 µg a 3 g de proteína administradas en 9 dosis separadas por intervalos de 20 minutos, siendo la dosis acumulada al final de la provocación de 4,5 g de proteína. La conclusión hasta el momento en que el LOAEL en la alergia a la leche fue de 3 mg y el NOAEL de 0,3 mg⁵⁸.

Tras observarse la tolerancia en la consulta, debe continuarse la administración de la fórmula en el domicilio. No se considerará que se haya alcanzado la tolerancia hasta confirmar que el niño haya tolerado durante una semana leche en cantidad normal para su edad⁵⁹.

1.3.5. TRATAMIENTO.

A. DIETAS DE SUSTITUCIÓN.

Una vez efectuado el diagnóstico de certeza de alergia a las proteínas de la leche de vaca, debe instaurarse una dieta exenta de estas proteínas; esta dieta debe ser estricta, ya que pequeños aportes de proteínas de leche de vaca favorecen el mantenimiento de la sensibilización. En la actualidad, éste es el único tratamiento realmente eficaz (Figura 6), dejando aparte los métodos de inducción de tolerancia.

Para los lactantes y niños de hasta 2 años de edad se recomienda que, si se encuentran recibiendo aún lactancia materna continúen con ella. Si, por el contrario, precisan continuar con lactancia artificial se recurrirá a fórmulas adaptadas, como las citadas a continuación y resumidas en las tablas 2 y 3:

- Fórmulas con hidrolizados de proteínas de leche de vaca: comprenden hidrolizados de proteínas séricas, de caseína, o de ambas en la proporción 40/60, y un hidrolizado de colágeno de cerdo y soja:
 - Hidrólisis parcial o de bajo grado: la masa molecular de sus proteínas debe ser inferior a 20.000 Daltons (Da) y la composición del resto de los nutrientes (grasa y lactosa) semejante a la de las fórmulas convencionales. Estos preparados no están indicados en el tratamiento de los lactantes con alergia comprobada, pues mantienen una actividad antigénica residual.

- Hidrólisis de alto grado: sus proteínas deben estar constituidas por péptidos de masa molecular menor de 5.000 Da.
- Fórmulas semielementales: fórmulas con un grado elevado de hidrólisis que no contienen lactosa.
- Fórmulas elementales: sus proteínas son aminoácidos de síntesis y los hidratos de carbono que contienen son polímeros de glucosa o dextrinomaltosa. Tienen el inconveniente del sabor desagradable y el alto coste. Producen cambios en las deposiciones (color verdoso y consistencia semilíquida) y pueden originar diarrea osmótica si poseen glucosa.
- Fórmulas de soja: constituidas por proteínas de soja sometidas a tratamientos físicos dirigidos a aumentar su digestibilidad y reducir la actividad de los inhibidores de la tripsina. Incorporan L-metionina, L-carnitina y taurina. No contienen lactosa. Además de que el sabor es bueno, el coste es menor y no guardan relación antigénica con las proteínas lácteas. Aunque la soja es una leguminosa con potencial sensibilizante, en la práctica los pacientes alérgicos a la leche la toleran muy bien⁶⁰.

En el caso de los niños mayores de 2 años y adultos, aunque no es estrictamente necesario el aporte lácteo a la dieta, por cultura gastronómica se sustituye la leche por productos organolépticamente semejantes. Pueden indicarse fórmulas para lactantes, pero tienen mal sabor y su precio suele ser elevado. Muchos pacientes prefieren utilizar sucedáneos de leche comercializados en forma de batidos de soja (producto en gran expansión actualmente) y almendra. Nunca deben administrarse a los lactantes en sustitución de las fórmulas especiales.

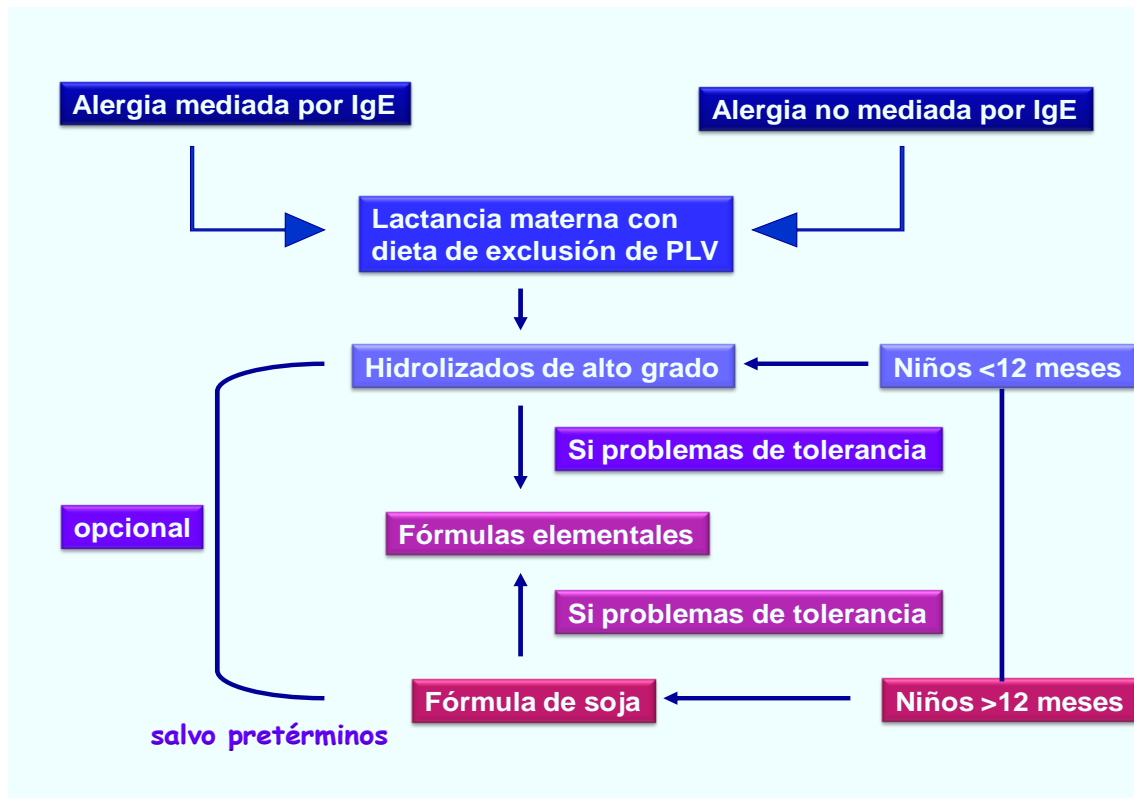


Figura 6. Algoritmo de tratamiento de la alergia a las PLOB. (Procedente de Alonso E y cols.)²⁶

Como fórmulas de sustitución se emplean aquellas en las que las PLOB se han modificado por hidrólisis química y/o enzimática, o bien las fabricadas a partir de proteínas de soja o de aminoácidos de síntesis (Tablas 2 y 3).

En el caso de síntomas crónicos como la dermatitis atópica y la urticaria crónica, si el estudio alérgico es positivo se indicará una dieta estricta exenta de leche y sus derivados. Si el paciente está recibiendo lactancia materna se recomendará a la madre que realice dieta durante un periodo de tiempo que no supere las 3 semanas. Si los síntomas desaparecen o se produce una clara mejoría clínica se considerará que la dieta ha sido efectiva. Si esto no ocurre se introducirá de nuevo la leche en la dieta materna. Si con la dieta el paciente mejora debe realizarse una prueba de provocación, que se

considerará diagnóstica si aparece clínica aguda o una clara exacerbación de la dermatitis. Si la provocación es negativa se introducirá el alimento en la dieta, continuando el paciente en observación unos días.

Tabla 2. Características de las distintas fórmulas de sustitución de PLOB. (Reproducido de Pedrón y colaboradores)⁶¹.

	FÓRMULA DE SOJA	HIDRÓLISIS EXTENSA HIPOALERGÉNICOS EFH	HIDRÓLISIS PARCIAL HIPOANTIGÉNICOS PFH	FÓRMULAS DE AMINOÁCIDOS F. ELEMENTALES
ALERGENICIDAD	+	+	+++	-
SABOR	+++	+	++	-
COSTE	+	+++	++	++++
VALOR NUTRICIONAL	++	++	+++	++
LACTOSA	-	-/+*	+	-

*Las fórmulas altamente hidrolizadas que no contienen lactosa se denominan FORMULAS SEMIELEMENTALES.

Tabla 3. Componentes de las distintas fórmulas de sustitución de PLOB. (Reproducido de Pedrón y colaboradores)⁶¹.

	FÓRMULAS INICIO	FÓRMULAS SEMIELEMENTALES	FÓRMULAS EXTENSAMENTE HIDROLIZADAS	FÓRMULAS ELEMENTALES
PROTEÍNAS	Caseína/ seroproteína 40/60	Alto grado de hidrólisis.	Alto grado de hidrólisis.	Aminoácidos sintéticos.
GRASAS	LCT*	MCT**/LCT	LCT	MCT/LCT o LCT
HIDRATOS DE CARBONO	Lactosa.	Polímeros de glucosa, almidón, sacarosa.	Preferentemente lactosa.	Polímeros de glucosa, almidón, sacarosa.

*LCT: triglicéridos de cadena larga. **MCT: triglicéridos de cadena corta.

B. INDUCCIÓN DE TOLERANCIA.

Se están realizando cada vez más estudios de inducción de tolerancia, que es un proceso activo de desensibilización que convierte al paciente sensible en tolerante. El proceso se basa en administrar a dosis crecientes y luego de manera continuada el alérgeno al paciente sensible, por lo que este desarrolla una tolerancia reversible a dicho alérgeno. Si se interrumpe la administración del alérgeno el paciente vuelve a presentar manifestaciones clínicas. Su inicio precisa una estrecha observación del paciente por los riesgos que conlleva, especialmente en los casos de reacciones alérgicas inmediatas graves⁶².

La inducción de tolerancia oral se basa en la experiencia obtenida de las pautas de desensibilización oral con medicamentos, y plantea la posibilidad de que la administración de forma progresivamente creciente de un alimento hasta la dosis total del mismo que se pretenda sea tolerada, para, manteniendo su administración de forma ininterrumpida, pueda conseguirse que se llegue a tolerar dicho alimento. En el caso de alimentos que en nuestro medio se suelen tomar diariamente, como es el caso de la leche, la ingestión diaria no sería un problema. Se han comunicado experiencias concretas de inducción de tolerancia⁶²⁻⁶⁷ sin que se plantee de momento su utilización salvo en circunstancias excepcionales.

El grupo italiano de Patriarca⁶⁴ fue el primero en publicar pautas de desensibilización con alimentos. En su primera publicación en 1998 utilizaron una pauta de desensibilización oral con leche de 4 meses de duración en pacientes con alergia a la leche de vaca mediada por IgE. Cuatro de los 6 pacientes incluidos completaron con éxito la desensibilización y 2 la abandonaron. Los 4 niños toleraron leche durante todo el periodo de seguimiento de 3-6 años. Utilizando una pauta similar, aunque modificada

de la previa, los mismos autores consiguieron inducir tolerancia a leche de vaca en 19 de 29 (65%) pacientes con APLOB. Cinco pacientes no finalizaron la pauta de desensibilización por presentar reacciones adversas y otros 5 la abandonaron por motivos que no especificaron. Félix y colaboradores⁶⁸ indujeron tolerancia a la leche utilizando la pauta de Patriarca y colaboradores en dos niños altamente sensibilizados a las proteínas de la leche de vaca (IgE >100 kU/L), observando que únicamente presentaron urticaria y eritema perioral con algunas dosis durante el procedimiento. Un año después estos pacientes toleraban la leche sin problemas.

Recientemente, Meglio y colaboradores⁶⁹ han publicado los resultados de la aplicación de un protocolo de desensibilización en 21 niños de 5 a 10 años de edad con alergia grave a la leche de vaca mediada por IgE. La pauta duró al menos 6 meses y concluyó con éxito en 15 de los 21 niños (71%). Tres abandonaron la pauta por presentar síntomas con dosis mínimas y otros 3 llegaron a tolerar entre 40 y 80 ml de leche. Las pautas de desensibilización empleadas por los autores anteriores son largas, de 4 a 6 meses.

En 1999 Bauer y colaboradores⁶² publican la inducción de tolerancia clínica en una paciente de 12 años con alergia a la leche de vaca mediante una pauta rápida de desensibilización oral que se completó con éxito en 5 días. Martorell y colaboradores han publicado la aplicación de la pauta de desensibilización rápida propuesta por Bauer y colaboradores⁶² a 4 niños de 18 meses a 5 años de edad con alergia a la leche de vaca. Todos los pacientes completaron con éxito la pauta aunque algunos presentaron reacciones adversas como eritema y exantema perioral, que se resolvieron sin tratamiento, y otro presentó tos y sibilancias con 16 ml, pero pudo continuar la pauta. A los 3 años de seguimiento los 4 pacientes toleraban normalmente la leche, las pruebas

cutáneas se habían negativizado en 2 pacientes y en otros 2 disminuyeron de tamaño. La IgE específica frente a caseína disminuyó progresivamente⁷⁰.

Otros autores españoles han conseguido inducir tolerancia en series más numerosas de niños de 3 a 12 años utilizando pautas de desensibilización más cortas alcanzando dosis final de 200-250 ml. Zapatero y colaboradores⁶⁷, obtuvieron buenos resultados con un protocolo de desensibilización que duró de 9 a 36 semanas, ya que 16 de los 18 niños incluidos en el estudio acabaron tolerando 200-250 ml de leche de vaca, otro solo toleró 40 ml y otro continuó con dieta exenta. Un año después este mismo grupo de trabajo⁷¹ empleó un protocolo de duración media de 13 semanas que finalizó con éxito en 30 de los 32 pacientes incluidos (93,5%). El 66% de los pacientes que terminaron la pauta presentó alguna reacción adversa leve-moderada. Con la pauta empleada por Ojeda y colaboradores⁷² 10 de los 14 pacientes incluidos alcanzaron la tolerancia total (71%). La pauta tenía una duración mínima de 54 días y no produjo reacciones adversas graves.

En el Hospital Niño Jesús se indujo tolerancia a la leche de vaca en 13 pacientes de 2 a 13 años que presentaban alergia a la leche de vaca mediada por IgE, empleando una pauta de al menos 18 semanas (Ibáñez MD, comunicación personal). De los 10 pacientes que terminaron la pauta de desensibilización, 2 pacientes presentaron sibilancias y tos frecuente durante el procedimiento que se controlaron con corticoides y broncodilatadores inhalados. Otro paciente presentó vómitos, abdominalgias y asma con el ejercicio, pero terminó adecuadamente la pauta de desensibilización. Un paciente abandonó la pauta por decisión familiar por presentar de forma repetida conjuntivitis, vómitos y síndrome oral.

Aunque los resultados de los trabajos publicados son prometedores, son necesarios más estudios para determinar la seguridad y eficacia de este tratamiento, sus indicaciones, factores de riesgo, factores que pueden influir en sus resultados, parámetros inmunológicos, evolución de los enfermos sometidos a desensibilización, y lo más importante, conseguir pautas de desensibilización estandarizadas.

C. INMUNOTERAPIA SUBLINGUAL.

Actualmente es bien sabido que la inmunoterapia con aeroalérgenos y venenos de himenópteros es eficaz, sin embargo los estudios con alérgenos alimentarios son todavía experimentales^{73,74} y uno de los propósitos en el momento actual es crear protocolos de tratamiento bien establecidos.

Recientemente, De Boissieu y Dupont⁷⁵ han publicado su experiencia con un tratamiento de inmunoterapia sublingual (ITSL) en 8 niños mayores de 6 años alérgicos a las proteínas de la leche de vaca. A todos ellos se les realizó provocación oral con leche antes y después de tratamiento con ITSL con el fin de determinar la dosis de leche que les producía síntomas de alergia. La pauta de ITSL con leche comenzaba el día después de la primera provocación y se mantenía durante 6 meses. El paciente mantenía la leche debajo de la lengua durante dos minutos (0,1 ml/día durante las dos primeras semanas, aumentando en 0,1 ml cada 15 días hasta llegar a 1ml/día). Un paciente abandonó la ITSL porque presentaba síndrome oral cuando tenía la leche de vaca en la boca, y otro no cumplió correctamente el tratamiento. Ninguno de los 6 pacientes que completaron la ITSL presentó reacciones adversas. La media de dosis de leche capaz de producir una reacción alérgica en la primera provocación fue de 39 ml (rango 4-106 ml). En la segunda provocación la media de la dosis que produjo síntomas fue de 143

ml (rango 44-200 ml) ($p < 0,01$). Tres pacientes toleraron bien 200 ml sin presentar reacciones adversas, por lo que pudieron normalizar su dieta. Un paciente presentó dolor abdominal tras la ingestión de 150 ml de leche, por lo que se suspendió la provocación, pero posteriormente introdujo progresivamente la leche en su domicilio hasta poder realizar una dieta normal a los 3 meses. La dosis de leche capaz de producir síntomas alérgicos aumentó en los otros dos pacientes que completaron bien el tratamiento y no varió en el que cumplió mal la inmunoterapia. Según este estudio, la pauta de ITSL utilizando dosis de leche de vaca por debajo de la dosis que produce síntomas es segura, fácil y aumenta el umbral de cantidad de leche necesaria para producir una reacción alérgica, por lo que puede ser una buena alternativa a la dieta de exclusión. Sin embargo, se necesitan más estudios que puedan confirmar estos resultados e investiguen la evolución de la alergia a la leche de vaca tras la suspensión de la ITSL.

1.3.6. PRONÓSTICO, EVOLUCIÓN Y PREVENCIÓN.

En la primera infancia la APLOB tiende a remitir a corto o medio plazo. Al año de vida se ha establecido la tolerancia en el 50-60% de los niños, a los 2 años en el 70-75%, y a los 4 años en el 85%^{4,28,76}. Es por este motivo por lo que se recomienda realizar revisiones anuales hasta los 4 años de edad, que posteriormente se espaciarán a cada 2 años, dado que la evolución a la tolerancia es menos probable. Se estima que después de los 6-7 años la APLOB persiste en un 10% de los casos, constituyendo los pacientes un grupo con riesgo de desarrollar reacciones anafilácticas por ingestión de la leche como alérgeno oculto⁷⁷. Son datos de mal pronóstico la persistencia de la reactividad clínica a los 5 años de edad⁷⁸, la existencia de niveles elevados de IgE frente

a leche de vaca y caseína^{44,79,80} y la presencia de IgE frente a determinados epítomos alérgicos de las proteínas de la leche⁸¹. La evolución en la edad adulta es desconocida. La gravedad de la sintomatología inicial no tiene valor pronóstico respecto a la evolución a la tolerancia ni al tiempo en que ésta se instaure.

La asociación entre APLOB y la sensibilización a otros alimentos o el desarrollo de otras enfermedades alérgicas es frecuente. Para algunos autores, la sensibilización a la leche es, tras la sensibilización al huevo, el marcador más temprano de futuras enfermedades atópicas⁸². En el primer año de vida la asociación con alergia al huevo ocurre hasta en un 50% de los casos⁸³ y al menos el 50% de los individuos con APLOB llegan a desarrollar rinoconjuntivitis y asma con sensibilización a aeroalérgenos⁸⁴.

Las estrategias de prevención que se plantean a través de las dietas de exclusión, generalmente amplias y para los alimentos más alérgicos (leche, huevo, pescados y frutos secos) durante el embarazo y durante la lactancia materna, no han demostrado un efecto protector⁸⁵. Otras medidas, como el mantener a la madre con una dieta sin lácteos mientras dura el periodo de lactancia y luego introducir fórmulas de hidrolizados extensos, la utilización de fórmulas hipoalérgicas, o la introducción directa y continuada de fórmulas adaptadas desde el nacimiento, no han demostrado resultados objetivos⁸⁶.

1.3.7. LA LECHE COMO FUENTE DE ALÉRGENOS OCULTOS.

Debido a los hábitos gastronómicos de nuestro medio, las PLOB se encuentran presentes en multitud de alimentos. Además de su ingestión directa como leche o sus derivados (queso, yogur, mantequilla, nata), se emplean prácticamente en todos los

productos de repostería y en muchas preparaciones culinarias de uso habitual, que deben ser cuidadosamente evitadas por los pacientes alérgicos. Para la mayoría de estos productos es necesario alcanzar una cierta dosis para que induzcan una reacción, pero los pacientes con una elevada sensibilización pueden reaccionar ante mínimas cantidades de alérgeno oculto en otros alimentos en forma de aditivos, contaminantes e incluso por inhalación o por contacto⁸⁷. En la tabla 4 se resumen las fuentes ocultas de proteínas lácteas de origen bovino.

Tabla 4. Algunos ejemplos de PLOB como fuente de alérgenos ocultos.

PROTEÍNAS DE LA LECHE COMO FUENTE DE ALÉRGENOS OCULTOS	
ALIMENTOS QUE CONTIENEN LECHE	ALÉRGENOS OCULTOS EN LAS ETIQUETAS
Embutidos	H 4511 caseinato cálcico
Margarinas	H 4512 caseinato sódico
Batidos vegetales	H 4513 caseinato potásico
Pan	E-270 ácido láctico
Sopas preparadas	E-325 lactato sódico, E-585 lactato ferroso
Horchatas	E-326 lactato potásico, E-327 lactato cálcico
Conservas de legumbres	E-966 lactitol
Chocolate puro	E-472b ésteres lácticos del mono y diglicéridos de los ácidos grasos
Cubitos de caldo	E-478 ésteres mixtos de ácido láctico y ácido graso alimenticio con glicerol propilenglicol
Cefalópodos congelados	E-480 estearoil-2-lactílico ácido
Caramelos	E-481 estearoil-2-lactilato sódico
Productos cosméticos	E-482 estearoil-2-lactilato cálcico
Medicamentos	E-575 glocono-delta-lactona
Guantes de látex	E-234 nisina

Tanto los pacientes que hayan sufrido episodios anafilácticos como sus familias deben ser advertidos de los riesgos del contacto con alérgenos ocultos y entrenados en el tratamiento con adrenalina autoinyectable. En el caso de los niños, esta actitud debe extenderse a las personas al cuidado habitual con el paciente, como los miembros de la familia o los profesores, entre otros.

Los pacientes con menor sensibilización deben estar instruidos en los pasos que deben de seguir en caso de ingestión accidental de leche, acudiendo posteriormente a la consulta médica para conocer el tratamiento sintomático y tener la medicación siempre preparada.

1.4. ALERGI A LAS PROTEÍNAS LÁCTEAS DE ORIGEN BOVINO NO MEDIADA POR INMUNOGLOBULINA E.

Bajo esta entidad se agrupan todas las reacciones adversas a las proteínas de la leche de vaca en las que no se ha comprobado la existencia de IgE frente a las mismas. Entre estas entidades se encuentran: la colitis hemorrágica, la proctocolitis, la colitis alérgica o eosinofílica o proctitis benigna, la enterocolitis por proteínas de la leche de vaca, la enteropatía por PLOB, la esofagitis y gastroenteritis eosinofílicas, el cólico del lactante y la hemosiderosis pulmonar o Síndrome de Heiner. No se profundiza en su descripción al tratarse de un tema que no es objeto de investigación en el presente trabajo.

Es importante, no obstante, la distinción entre la alergia a las proteínas de la leche de vaca mediada y no mediada por IgE, ya que su diferente patogenia es la base de unas sintomatología y evolución propias de cada una de ellas y, por lo tanto, de la

posibilidad de actuación mediante medidas terapéuticas y preventivas distintas en cada caso.

1.5. PROTEÍNAS DEL HUEVO.

Los huevos de las aves, y entre ellos el huevo de gallina (*Gallus domesticus*), que es el que se consume preferentemente en la alimentación humana, constituyen una fuente importante de proteínas de alto valor plástico y de vitaminas del complejo B con bajo coste económico. Esto y la capacidad alérgica de sus proteínas hacen que sea una de las causas más comunes de alergia a los alimentos⁸⁸.

1.5.1. EPIDEMIOLOGÍA Y PREVALENCIA.

El huevo es uno de los alimentos que más frecuentemente causa alergia en los niños menores de dos años. En España, las reacciones adversas al huevo constituyen el 44% de las consultas por alergia a los alimentos en los menores de 5 años y el 10% en los mayores de 5 años⁷. La prevalencia estimada de la alergia al huevo oscila, según las fuentes, entre el 0,5% y el 2,7% de la población general durante los primeros años de vida⁸⁹, aunque la sensibilización al huevo, expresada únicamente en forma de pruebas cutáneas o determinación de IgE positivas, puede alcanzar hasta el 5%^{90,91}. En nuestro medio este alimento se introduce en la dieta alrededor de los 12 meses de edad, por lo que el inicio de la clínica suele coincidir sobre esta edad. En los pacientes con dermatitis atópica es frecuente la sensibilización a las proteínas del huevo, con o sin clínica

relacionada^{29,30}. En los niños con alergia a la leche la prevalencia de alergia al huevo puede llegar al 60%^{28,83}.

1.5.2. FACTORES DE RIESGO Y PATOGENIA

Los factores de riesgo para presentar alergia al huevo son la carga atópica familiar, la alergia previa a la leche de vaca y la dermatitis atópica.

En el lactante se ha demostrado la posibilidad de desarrollar una sensibilización al huevo antes de que éste sea introducido en la dieta⁹², bien mediante la vía intrauterina, o bien por contactos inadvertidos o por la exposición a las proteínas del huevo a través de la lactancia materna. En estos casos pueden aparecer síntomas desde la primera ingestión^{93,94}.

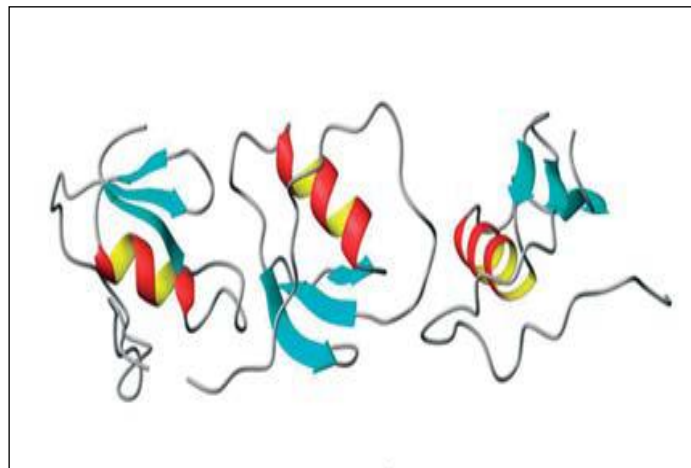


Figura 7. Representación tridimensional del ovomucoide (OVM).

1.5.3. ALÉRGENOS Y NATURALEZA DEL ANTÍGENO

El peso medio de un huevo de gallina es de unos 60 gramos, de los cuales la clara representa aproximadamente el 60%, y la yema el 30%, correspondiendo el 10% restante a la cáscara de protección y a las membranas. El contenido en agua es alto (75%). Tanto la yema como la clara contienen proteínas que pueden provocar sensibilización alérgica, pero son las proteínas de la clara las que con mayor frecuencia producen patología. Se han determinado por inmunolectroforesis cruzada al menos 24 proteínas diferentes⁹⁵⁻⁹⁷ (Tabla 5). El ovomucoide (OVM), Gal d 1, constituye el 11% del peso (Figura 7); la ovoalbúmina (OVA), Gal d 2, el 54% (Figura 8); la ovotransferrina o conalbúmina, Gal d 3, el 12%; la lisozima, Gal d 4, el 3,5%; la ovomucina el 1,5% (en dos fracciones, soluble e insoluble); además hay un 18% de otras proteínas peor conocidas entre las que se encuentran la avidina, el ovoinhibidor, la catalasa y distintas flavoproteínas.

La OVA y el OVM son parcialmente termoestables y mantienen su inmunogenicidad tras 20 minutos de cocción, por lo que están descritos como los alérgenos más relevantes del huevo. Para algunos autores la sensibilización al OVM, más resistente al calor que la OVA, se relaciona con la persistencia de la clínica y se puede emplear como factor predictivo de la tolerancia al huevo cocido⁹⁸. Además, algunos autores han demostrado que los niños con alergia persistente al huevo tienen niveles más elevados de IgE específica frente a la ovoalbúmina y el ovomucoide que los que desarrollan una alergia transitoria al mismo⁹⁹. Estos autores observaron como los anticuerpos IgE específicos de los niños con alergia persistente al huevo reconocían 4 secuencias epitópicas principales de la IgE específica frente al ovomucoide, mientras que los de los niños que tenían alergia transitoria no reconocían ninguna. Este estudio

sugiere que la presencia de anticuerpos IgE específicos frente a epítomos secuenciales del OVM se asocia con un mayor riesgo de presentar alergia persistente al huevo, por lo que sería útil como marcador de persistencia clínica de alergia al huevo y para predecir la tolerancia al huevo cocido^{98,100}.

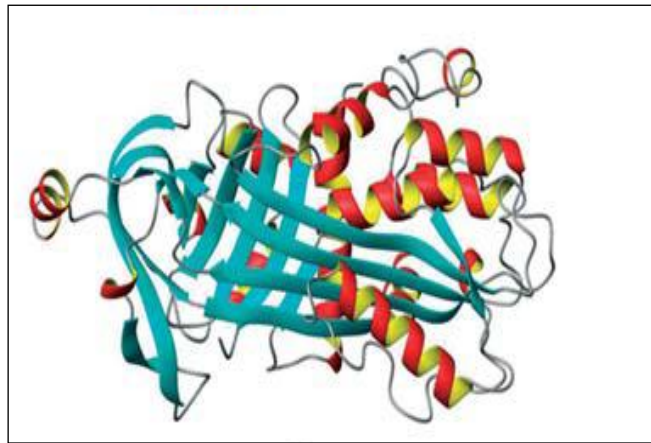


Figura 8. Representación tridimensional de la ovoalbúmina (OVA).

La conalbúmina y la lisozima son más sensibles al calor, por lo que son antígenos más débiles, pero no dejan de ser importantes¹⁰¹, ya que la lisozima se puede encontrar como alérgeno oculto en otros alimentos, como por ejemplo algunos quesos, y también en algunos medicamentos¹⁰².

En la yema se encuentran tres principales fracciones proteicas capaces de unir IgE, que se identifican como gránulos, livetinas y lipoproteínas de baja densidad⁹⁵ (Tabla 6). Entre las lipoproteínas tienen importancia la apovitelina I, de masa molecular baja y la apovitelina VI, de gran tamaño y derivada de la apoproteína sérica. Las apovitelinas podrían considerarse como los antígenos mayoritarios, aunque las livetinas

desempeñan un papel importante en los síndromes de alergia a las plumas asociados con alergia a la yema del huevo¹⁰³.

Tabla 5. Proteínas de la clara del huevo.

PROTEÍNAS
GRÁNULOS
LIPOPROTEÍNAS DE BAJA DENSIDAD: <ul style="list-style-type: none"> • Apovitelina I • Apovitelina VI
LIVETINAS: <ul style="list-style-type: none"> • α-livetina o albúmina sérica de la gallina (Gal d 5)

La α -livetina se corresponde con la albúmina sérica del pollo (CSA), Gal d 5, que está presente en las plumas, carne y huevo de gallina, lo que explica la aparición del “síndrome ave-huevo”. Este síndrome consiste en el que el paciente experimenta manifestaciones clínicas cuando inhala las partículas de las plumas o ingiere huevo o carne de gallina¹⁰⁴⁻¹⁰⁶. Quirce y colaboradores han podido demostrar la presencia de partículas aerotransportadas de albúmina sérica de ave, que es termolábil, en el ambiente doméstico de los pacientes; los autores observaron que tras su calentamiento durante 30 minutos a 90°C la reactividad de la IgE se reducía en un 88%¹⁰⁷. Existe reactividad cruzada entre las proteínas séricas de diversas especies de aves¹⁰⁸, y entre los huevos de diversas aves (gallina, pavo, pato, gaviota), aunque hay excepciones¹⁰⁹. Esta reactividad cruzada explica que en el síndrome ave-huevo la sensibilización inicial pueda producirse por aeroalérgenos procedentes de otras aves, como los loros, canarios y periquitos.

En los individuos alérgicos a la clara de huevo se observa, a menudo, en las pruebas cutáneas, sensibilización a la carne de pollo con buena tolerancia a su ingestión; la reactividad cruzada con relevancia clínica entre el huevo y la carne de pollo es menor del 5%^{110,111}. Aunque es mucho menos frecuente, también es posible padecer alergia exclusiva con síntomas cutáneos y respiratorios al comer carne de pollo o inhalar algunas de sus proteínas procedentes de su cocción¹¹².

Tabla 6. Proteínas de la yema del huevo.

PROTEÍNA	% DEL TOTAL PROTEICO DE LA CLARA	PESO MOLECULAR (kDa)	Nº DE AMINOÁCIDOS
OVOALBUMINA (Gal d 2)	54	45	385
OVOTRANSFERRINA O CONALBÚMINA (Gal d 3)	12	77	686
OVOMUCOIDE (Gal d 1)	11	28	186
LISOZIMA (Gal d 4)	3,5	14,3	129
OVOMUCINA	1,5		
OTRAS: • AVIDINA • OVOINHIBIDOR • FLAVOPROTEINAS • CATALASA	18	-	-

1.5.4. DIAGNÓSTICO.

El diagnóstico se basa en la sospecha clínica y se confirma o descarta mediante la realización del estudio alergológico, que incluye pruebas cutáneas, determinación sérica de IgE específica y, en los casos en los que fuere necesario, una provocación oral controlada.

A. CLÍNICA.

Para el diagnóstico clínico es esencial elaborar una anamnesis detallada en la que se debe recoger la edad de la primera reacción, la cantidad y forma de preparación culinaria del huevo que produjo la reacción, el tiempo de latencia entre la toma de huevo y la aparición de los síntomas, el tipo de síntomas presentados, el tratamiento requerido, la repetición de la reacción si la hubiere habido y la fecha de la última reacción. Todo ello orientará sobre el tipo de reacción sufrida, bien sea de una reacción de hipersensibilidad inmediata o de una intolerancia, así como de la gravedad del cuadro.

En los pacientes alérgicos, los síntomas típicos provocados tras la ingestión o el contacto con el huevo son fundamentalmente cutáneos. Según distintos autores, entre un 77 y un 98% de las reacciones alérgicas al huevo afectan a la piel, del 36 al 60% desarrollan síntomas digestivos y del 7 al 40%, síntomas respiratorios de vías altas y/o bajas, mientras que la anafilaxia está presente en un 3% de algunas series^{113, 114}. En un estudio retrospectivo²⁸, que consideró todos los motivos de estudio de alergia al huevo, la sintomatología inicial fue cutánea en el 39,6% (23,6% generalizada y 16% local), digestiva en el 7,5%, y se produjo afectación simultánea de 2 o más órganos en el 16%.

Como un caso especial debe considerarse la dermatitis atópica, entidad en la que muchos autores^{29,30,51,115} reconocen una implicación de los alérgenos del huevo. En este caso, los periodos de latencia están mal definidos y la sensibilidad de la historia clínica es baja, pero los pacientes presentan, con frecuencia, pruebas cutáneas e IgE específica positivas frente al huevo.

En líneas generales, la sintomatología suele aparecer con la toma de huevo completo, aunque no es rara la tolerancia previa de la yema, que suele introducirse antes

y por separado de la clara, y casi siempre cocida. El tiempo de latencia entre la ingestión y los síntomas suele ser inferior a 60 minutos, como resulta habitual en la alergia alimentaria mediada por IgE. La sintomatología clínica de la sensibilización al huevo puede desencadenarse, además de por la ingestión, por el contacto directo o indirecto con el alimento, o por su presencia frecuente en otros alimentos como alérgeno oculto. Ante una clínica sugerente de etiología alérgica en un lactante, una vez descartados los otros alimentos que esté consumiendo, y aunque aparentemente no haya tomado nunca huevo debe realizarse un estudio con este alimento, ya que no es excepcional un debut a través de trazas de huevo contenido, bien en la leche materna, bien en otros alimentos (papillas de frutas, purés) que, tras su manipulación, pueden arrastrar pequeñas cantidades de huevo.

En la infancia, el diagnóstico de alergia al huevo, al igual que el de la alergia a la leche, debe ser periódicamente revisado, ya que la sensibilización es transitoria en la mayor parte de los casos.

B. PRUEBAS CUTÁNEAS.

Los antígenos empleados en las pruebas cutáneas pueden ser extractos comerciales de huevo completo, de clara y yema por separado, de los alérgenos más relevantes o de otros alérgenos sospechosos. Los extractos alergénicos comerciales de huevo son generalmente muy sensibles para el diagnóstico.

Las pruebas intraepidérmicas tienen una elevada sensibilidad, entre el 73 y el 100% según diversos autores y una menor especificidad, entre el 46 y el 71%. El VPP oscila entre el 61 y el 92%, y su VPN es muy alto, entre el 86 y el 91%, por lo que la

negatividad de las pruebas cutáneas realizadas con un extracto adecuado prácticamente excluye la alergia al huevo^{33,41,116,117}. La especificidad es muy variable a causa de factores como la edad y el tipo de reacción. Los resultados respecto a la especificidad y VPP no son trasladables entre distintas edades o distintos grupos de población.

C. DETERMINACIÓN DE INMUNOGLOBULINA E ESPECÍFICA.

El VPP de la IgE específica frente a las proteínas del huevo varía según la enfermedad (dermatitis atópica, urticaria, anafilaxia...) y su prevalencia^{45,118}. En nuestro medio, algunos investigadores están trabajando en la búsqueda de un punto de corte para la IgE específica que permita orientar acerca de la aparición de tolerancia y realizar pruebas de provocación controlada minimizando riesgos. Según los resultados de las investigaciones de un grupo de autores de nuestro medio, estas cifras de IgE (por CAP) estarían situadas, en los 24 primeros meses de vida, por debajo de 0,35 kU/L¹¹⁹. Es decir, una IgE específica positiva en cualquier grado en un paciente con un cuadro clínico inequívoco que haya tenido lugar en un tiempo igual o menor a los 12 meses previos, resultaría diagnóstica en el 94% de los casos en los niños menores de 2 años. Otro grupo de investigación, también en nuestro medio, está realizando estudios para determinar los niveles umbral en los pacientes alérgicos al huevo, estableciendo el NOAEL y el LOAEL. Para ello realizaron a todos los pacientes una PODCCP con huevo liofilizado pasteurizado con un rango de dosis de 3 µg a 3 g de proteína. La provocación se realizó en 9 dosis consecutivas separadas en intervalos de 20 minutos, y la dosis acumulada al final de la provocación era de 4,5 g de huevo, concluyendo hasta el momento que, en nuestra población, el LOAEL en la alergia al huevo es de 30 mg y el NOAEL es de 3 mg⁵⁸.

D. PROVOCACIÓN DIAGNÓSTICA.

La prueba de provocación oral es la definitiva para el diagnóstico etiológico de la alergia al huevo, aunque no sería necesario llevarla a cabo en niños menores de dos años con síntomas inmediatos, cutáneos, digestivos o respiratorios que hayan ocurrido en el último año, en las dos primeras horas tras la ingestión de huevo y con pruebas cutáneas positivas con clara de huevo y CAP para la clara de huevo $> 0,35$ kU/L (Figura 9), aunque estaría indicado realizarla si la prueba intraepidérmica y el CAP fueran negativos o discordantes¹²⁰. En los pacientes con historia clínica clara y pruebas cutáneas positivas puede ser necesaria una prueba de provocación si ha transcurrido un año desde la última reacción. En la infancia, con un diagnóstico bien establecido de alergia al huevo, la historia natural es de evolución a la tolerancia y la mitad de los niños con alergia lo toleran a los 24-30 meses del episodio inicial. La ausencia de reacciones en los últimos 24 meses, la tolerancia de alimentos cocinados con mínimas cantidades de huevo, y el descenso de los niveles de IgE específica pueden tomarse como indicadores de una posible instauración de tolerancia, que debe comprobarse mediante una prueba de provocación controlada. La anafilaxia grave, aunque no es una contraindicación absoluta, obliga a reevaluar con más precaución el intervalo de tiempo transcurrido desde el primer episodio, ampliándolo, valorando las pruebas cutáneas y las variaciones en los valores de IgE específica. Debe considerarse una contraindicación absoluta la existencia de un cuadro grave reciente (3-4 meses) con historia sugerente y pruebas intraepidérmicas o IgE específica positiva.

Cuando se evalúan síntomas crónicos, antes de realizar la prueba de provocación es recomendable comprobar durante dos semanas de dieta de exclusión de huevo la desaparición o al menos la mejoría de la sintomatología (Figura 10).

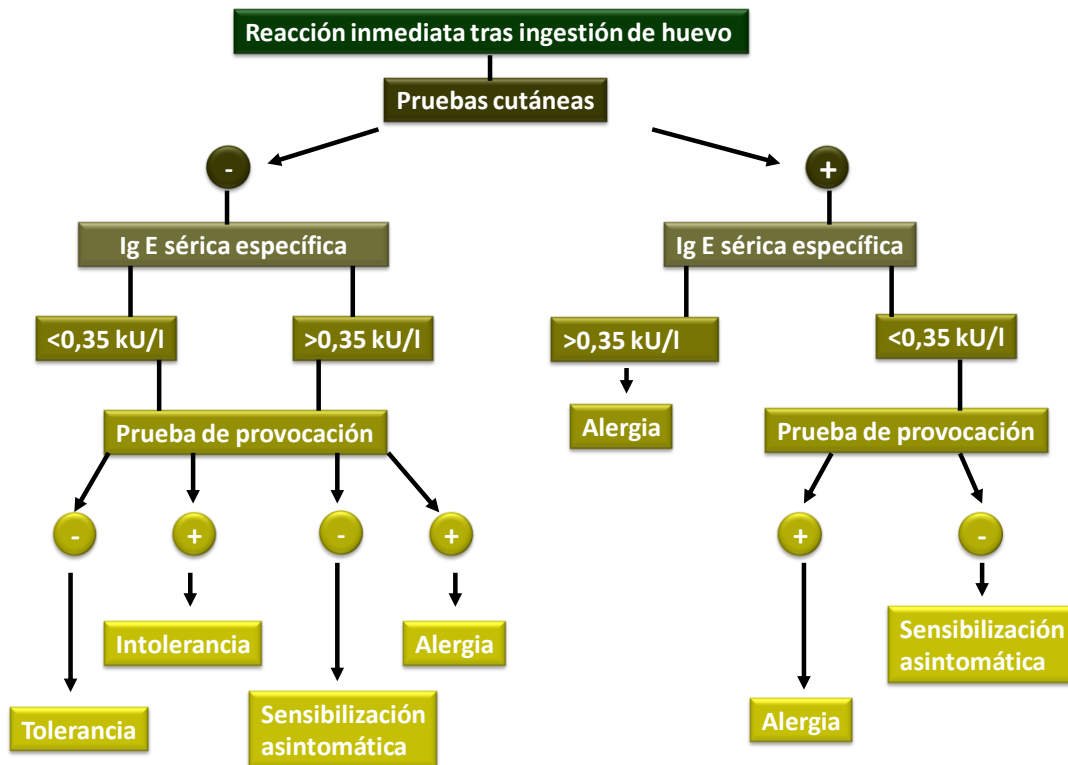


Figura 9. Algoritmo diagnóstico de la alergia al huevo en niños con clínica de tipo inmediato. (procedente de Martorell y cols.)¹²¹

En los niños pequeños y con clínica objetiva puede emplearse, por motivos prácticos, la provocación abierta. En los pacientes adultos o con clínica dudosa, se empleará la provocación a simple o doble ciego.

La prueba de provocación se realizará en días diferentes con yema y clara de huevo, recomendando la mayoría de autores que éste sea cocido. Se administra de forma fraccionada, en cantidades crecientes de forma progresiva hasta completar una yema o una clara completa; si fueran crudas, sería suficiente con media yema y media clara. El

intervalo entre las tomas será de al menos 30 minutos y, en todo caso, superior en 15 minutos al tiempo de latencia de la reacción clínica.

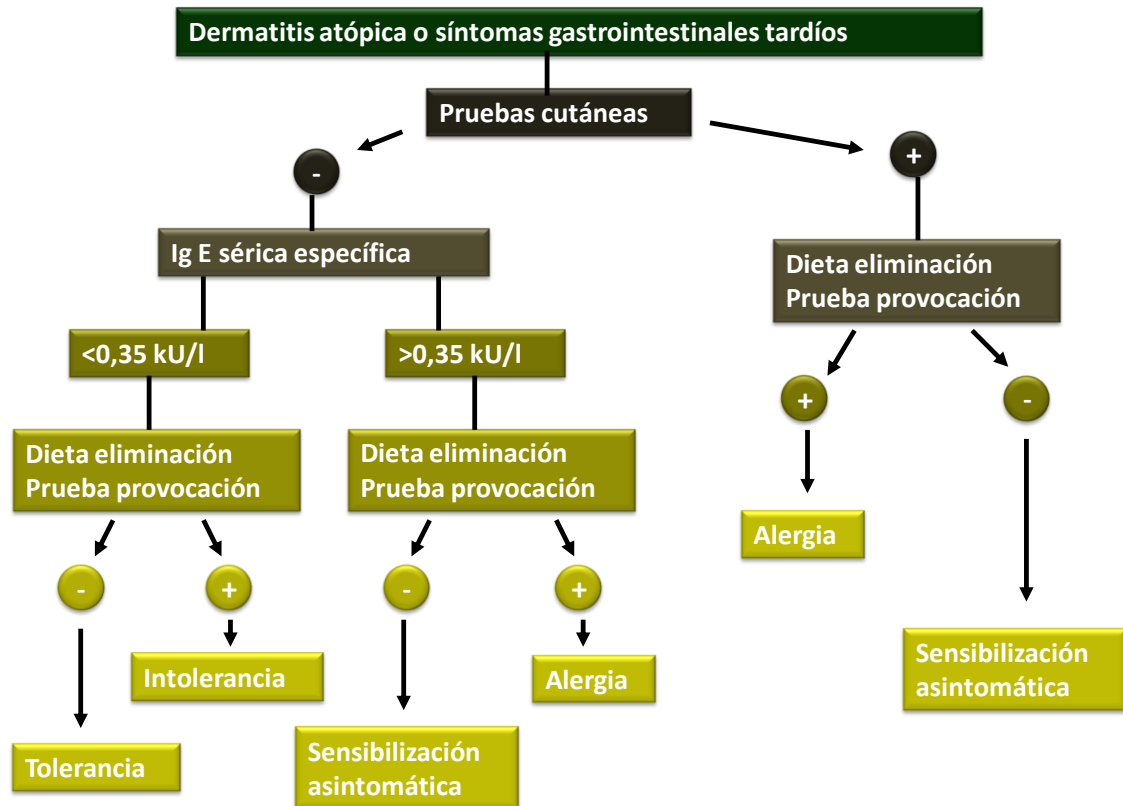


Figura 10. Algoritmo diagnóstico en niños con clínica de dermatitis atópica o síntomas gastrointestinales tardíos. (procedente de Martorell y cols.)¹²¹

1.5.5. PRONÓSTICO, EVOLUCIÓN Y PREVENCIÓN.

La persistencia de los síntomas no se asocia necesariamente con un cuadro grave inicial²⁸ (anafilaxia), pero una clínica grave motiva, con frecuencia, que se posponga la edad de la realización de la prueba de provocación. Como se ha especificado, algunos

autores señalan la implicación de la sensibilización al OVM con una mala tolerancia al huevo cocido⁹⁷.

En la serie de Alonso y colaboradores, publicada en el año 2001, con 106 niños estudiados en el Hospital Niño Jesús²⁸, la evolución hacia la tolerancia se confirmó mediante prueba de provocación controlada en el 71,7% de los niños. A los 2 años toleraban el huevo el 19,7% del total; a los 3 años, el 32,7%; a los 5 años, el 52,7%; y, posteriormente, la evolución a la tolerancia se produjo más lentamente, hasta alcanzar la a los 9 años el 63,6%. Pasada la adolescencia, la aparición de tolerancia al huevo es excepcional, y la evolución del cuadro a lo largo de la vida adulta es desconocida. La media de edad de tolerancia se situó en 55 meses y la mediana en 38 meses. Algunos de los pacientes que fueron diagnosticados sin clínica previa de sensibilización al huevo mediante pruebas cutáneas realizadas por presentar el paciente alergia a la leche o dermatitis atópica, mantuvieron esta sensibilización a largo plazo e, incluso, en algunos pacientes (25% de los diagnosticados inicialmente) no se llegó a alcanzar la tolerancia. Además, en este estudio se asoció una dermatitis atópica en el 64,1% de los casos, con evolución hacia la remisión en la mayoría de ellos. Un 50,9% de los pacientes presentó asma en algún momento, y se comprobó sensibilización a aeroalérgenos con clínica de asma o de rinitis en el 53,8% de los niños. La falta de tolerancia al huevo se asoció significativamente con asma en el 83,3%, y con alergia a aeroalérgenos en el 90%, pero no con dermatitis atópica.

La prevención primaria es la más eficaz pero, a la vez, la más difícil de realizar, ya que consiste en evitar que se produzca la sensibilización al huevo. Ésta puede tener lugar intraútero, y en las revisiones sobre los efectos preventivos de la evitación antigénica durante el embarazo y la lactancia^{85,122} se concluye fundamentalmente que la exclusión del huevo de la dieta de la madre durante la lactancia (combinada con la

exclusión de leche de vaca y pescado) y el retraso en su introducción en la dieta del niño hasta los dos años parece reducir la aparición de dermatitis atópica, pero no modifica la aparición posterior de alergia al huevo ni a otros alimentos ni de otras enfermedades alérgicas. Además, en la mayoría de los trabajos se señala la dificultad de mantener el cumplimiento de estas dietas estrictas y de evitar ingestiones inadvertidas o contactos cutáneos a través de manos, besos, etc...¹²³.

La prevención secundaria consiste en evitar que se desarrolle la enfermedad una vez que el paciente está sensibilizado. Esta práctica sí que se lleva a cabo en los lactantes con alergia a leche en los que se detecta sensibilización al huevo, ya que en estos niños no se introduce el huevo hasta que la sensibilización ha desaparecido o los valores de IgE específica están bajos, y, como se comentó anteriormente, si el lactante está recibiendo lactancia materna se le indica a la madre una dieta con exclusión de huevo.

La prevención terciaria es la que tiene lugar en el niño sensibilizado y que ya ha desarrollado la sintomatología, indicándole unas medidas de evitación de huevo, y tratando de que no aparezcan nuevas manifestaciones clínicas.

1.5.6. EL HUEVO COMO FUENTE DE ALÉRGENOS OCULTOS.

El huevo está incluido entre los alérgenos que es necesario declarar en el etiquetado de los alimentos envasados¹²⁵. Una situación difícil es la evitación de los alimentos envasados que contienen alguna proteína de huevo, que a veces no figura en su etiquetado. El huevo puede ir como alérgeno oculto en algunos alimentos (Tabla 7), por sus propiedades como emulsionante, abrillantador, clarificador y, en otras

ocasiones, por la contaminación de un alimento con proteínas de huevo durante su proceso de elaboración, o incluso por contaminación con utensilios de cocina que habían sido utilizados previamente para manipular huevo. Un tercio de los pacientes alérgicos a este alimento refiere síntomas con el huevo como alérgeno oculto²⁸.

Hay algunos quesos que contienen lisozima, proteína del huevo a la que se encuentra sensibilizado aproximadamente un tercio de los pacientes alérgicos al huevo, por lo que pueden referir síntomas con ellos. También hay algunos medicamentos que contienen dicha proteína y que, aunque no son muy empleados en la infancia, se han descrito reacciones ocurridas con estos medicamentos, así como con cosméticos.

Tabla 7. Algunos ejemplos de proteínas de huevo como fuente de alérgenos ocultos.

PROTEÍNAS DE HUEVO COMO FUENTE DE ALÉRGENOS OCULTOS	
ALIMENTOS QUE CONTIENEN HUEVO	ALÉRGENOS OCULTOS EN LAS ETIQUETAS
Dulces, helados, batidos, turrone, flanes, golosinas	E-322 lecitina, sino es de soja
Productos de pastelería y bollería: galletas, bizcochos	E-1105 lisozima, en algunos quesos y medicamentos
Hojaldres, empanadas, empanadillas	E-161b luteína, pigmento amarillo Albúmina
Consomés, sopas, salsas, algunas margarinas, gelatinas	Globulina
Algunos cereales del desayuno	Coagulante, si no sabemos la procedencia
Pasta de huevo, rebozados, empanados	Ovoalbúmina, ovotransferrina o conalbúmina, ovomucoide
Fiambres, embutidos, salchichas, patés	Ovomucina, ovomacroglobulina, ovovitelina, vitelina
Algunos cafés con crema (capuchino)	Catalasa, Apriteleninas
Algunos vinos (aclarados con clara de huevo)	Fosvitina, livetinas, alfa-livenina

También se sabe que existe la posibilidad de que las vacunas incubadas en embrión de pollo puedan contener pequeñas cantidades de proteínas de huevo, como la triple vírica (sarampión, rubeola, parotiditis), la vacuna antigripal, la de la fiebre amarilla y algunas presentaciones de la de hepatitis A (Epaxal®).

En la bibliografía existen numerosas experiencias y revisiones¹²⁵ que avalan la seguridad de la vacunación con la técnica y preparado convencionales en estos pacientes. Sin embargo, en los pacientes con anafilaxia es prudente realizar una prueba intraepidérmica previa con la vacuna, y si resultare positiva, realizar una administración fraccionada¹²⁶, o bien optar por un preparado en células diploides humanas en los casos en que esté comercializado.

1.5.7. TRATAMIENTO.

A. DIETAS DE ELIMINACIÓN.

El único tratamiento posible hasta el momento actual es la dieta con eliminación de huevo y aquellos alimentos que lo contengan. El huevo no es un alimento esencial en la dieta del niño, ya que puede suplirse fácilmente sin plantear problemas nutricionales, pero se utiliza con mucha frecuencia en alimentos muy atractivos para el niño, como los helados, la repostería o las golosinas, por lo que debe instruirse adecuadamente al niño y a los que le rodean, ya sean familiares, cuidadores, u otro personal, acerca de leer cuidadosamente el etiquetado de los alimentos que lo tengan y se deben extremar las medidas de precaución en los comedores escolares y los restaurantes.

B. INDUCCIÓN DE TOLERANCIA.

Existen experiencias aisladas de desensibilización al huevo, tanto por vía subcutánea como oral, pero se trata de casos aislados, con resultados muy variables, y en el momento actual no es un procedimiento terapéutico recomendado^{64,65}.

C. INMUNOTERAPIA SUBLINGVAL.

Como ya se comentó al hablar de la inmunoterapia como tratamiento para la APLOB, los estudios de ITSL con alérgenos alimentarios son todavía experimentales y se están estudiando nuevos protocolos. Hasta el momento hay publicados escasos estudios con ITSL en pacientes alérgicos a las proteínas del huevo^{127,128} y los resultados obtenidos hasta ahora nos hacen pensar si la tolerancia que adquieren los pacientes es verdadera o va a ser transitoria y los síntomas reaparecerán si se suspende la administración del alimento. En vista de la alta probabilidad de tolerancia espontánea al huevo en el primer año de vida, la ITSL sería mucho más beneficiosa en aquellos pacientes cuya alergia al huevo fuera persistente. En la actualidad, y como ya se especificó con la APLOB, la ITSL no está recomendada como práctica clínica habitual debido a la elevada tasa de efectos adversos^{71,72} y a la ausencia de estudios.

1.6. SENSIBILIZACIÓN AL HUEVO Y/O A LA LECHE COMO MARCADORA DE ATOPIA.

El hecho de presentar IgE específica frente al huevo durante el primer año de vida es un factor predictivo del riesgo de enfermedad atópica. Dong Ki Han y colaboradores publicaron un trabajo en el que concluyeron que el estar sensibilizado a determinados alimentos se relacionaba con padecer dermatitis atópica, pero que, de todos ellos, el alérgeno alimentario con mayor potencia era el huevo¹²⁹. Diversos estudios indican que la reactividad inmunológica al huevo puede ser el principal y más precoz marcador serológico de riesgo de una posterior sensibilización a aeroalérgenos y del desarrollo de patología alérgica respiratoria. Kulig y colaboradores concluyeron que una sensibilización persistente a alérgenos alimentarios combinada con antecedentes familiares de atopia eran factores predictivos para el posterior desarrollo de rinitis y asma⁸². Un año más tarde, este mismo grupo realizó un estudio y concluyó que el marcador más temprano de atopia era el huevo seguido de la leche¹³⁰.

En el primer año de vida, la combinación de una historia familiar positiva (antecedentes de enfermedad atópica en al menos un familiar de primer grado) con una IgE específica frente a la clara de huevo superior a 2 kU/L constituye un marcador de futura sensibilización a aeroalérgenos, con una elevada especificidad (99%) y un elevado VPP (78 %) ¹³¹, y, si la sensibilización persiste más de un año, existe un riesgo elevado de desarrollo de asma (67%) y rinitis (50%) a los 5 años de edad⁸². Si la alergia al huevo se asocia con dermatitis atópica, el riesgo de presentar patología alérgica respiratoria a los 4 años se eleva al 80%².

Helen y colaboradores realizaron un estudio al respecto y concluyeron que el presentar sensibilización a las proteínas de leche de vaca o al huevo durante el primer año de vida constituía un factor predictivo de padecer asma en la edad adulta¹³².

Como se puede observar, son múltiples los trabajos que abordan el tema de la asociación que parece existir entre el tener alergia alimentaria, en especial al huevo, y desarrollar futuras sensibilizaciones a múltiples aeroalérgenos, y por lo tanto presentar a su vez mayor riesgo de patología respiratoria.

1.7. ALERGIa ALIMENTARIA Y GENÉTICA.

La alergia en general y la alergia alimentaria en particular se entienden, en la actualidad, como enfermedades en las que los factores genéticos interactúan con los ambientales para originar un fenotipo concreto. Son enfermedades multifactoriales y heterogéneas con un claro componente hereditario. No se adaptan a un patrón clásico de herencia mendeliana, por lo que se denominan de herencia compleja, y constituyen el resultado de la interacción de múltiples regiones genéticas entre sí y con factores ambientales. Se ha descrito que los pacientes que presentan múltiples mutaciones que predisponen a padecer enfermedades de tipo alérgico necesitan menos exposición a los factores ambientales para desarrollar los síntomas que los individuos que portan pocas mutaciones¹³³. El propósito de las investigaciones sobre este tema sería descubrir un posible “marcador de la alergia”, que ayudara a identificar qué factores predispondrían a determinados individuos a desarrollar sensibilización a determinados alimentos.

Los factores genéticos capaces de influir en el desarrollo de enfermedades complejas como la alergia se pueden estudiar mediante distintas aproximaciones metodológicas. Existen secuencias de ADN que se pueden heredar junto con el gen o genes responsables de la enfermedad y de este modo estudiar su conexión o ligamiento. Tras establecer dicho ligamiento se realizan otros estudios que permiten concretar la localización y así identificar el gen o genes candidatos relevantes para la enfermedad. Otros estudios se orientan a identificar asociaciones de variaciones conocidas de las secuencias del ADN, denominadas mutaciones. Los estudios de asociación permiten encontrar relaciones entre ciertos genes y la enfermedad e identificar las variaciones genéticas que se asocian en este caso al asma. En la actualidad, la mayoría de los estudios combinan distintas estrategias, como los estudios de ligamiento y el mapeo genético a lo largo de todo el genoma, que han permitido identificar regiones en distintos cromosomas 1, 2, 5, 6, 8, 11, 12, 14, 16, 19 y 22^{134,135}.

En el caso del asma se han descrito más de 20 genes implicados, y probablemente se añadirán nuevos genes más. En la actualidad, y en un futuro próximo, los estudios se dirigirán hacia la evaluación de las interacciones entre los genes o epistasia, y entre genes y factores ambientales, sin olvidar que la epigenética parece que tiene un papel relevante.

Una de las estrategias de investigación trata de conocer los polimorfismos genéticos que pueden estar asociados con estas enfermedades alérgicas, ya que parece admitirse que la inmensa mayoría de las variaciones genéticas que contribuyen a las enfermedades genéticamente complejas, como es el caso de la alergia, probablemente representen la contribución de dichos polimorfismos, en concreto de los polimorfismos de un único nucleótido (SNP). Algunos estudios van encaminados a conocer

principalmente los localizados en genes que codifican proteínas con relevancia en su fisiopatología o que modifican la respuesta a fármacos, constituyendo esto último un importante área emergente denominada farmacogenética de las enfermedades alérgicas. De hecho, se han encontrado numerosos polimorfismos en genes que pueden afectar a la respuesta de los fármacos empleados en el tratamiento de las enfermedades alérgicas, como los agonistas beta-2, los glucocorticoides, la teofilina, los antagonistas muscarínicos y los antileucotrienos.

Aunque existen escasos estudios publicados sobre alergia alimentaria y genética, parece interesante abordar ciertos aspectos, como el de la herencia de estas enfermedades. Los estudios realizados en gemelos monocigóticos y dicigóticos han estimado una heredabilidad de las distintas enfermedades alérgicas del 36-79%¹³⁶, es decir, ni siquiera en los gemelos monocigóticos la concordancia es del 100%, lo que implica una penetrancia incompleta de los genes de susceptibilidad. En el año 2000 Sicherer realizó un estudio en el que apuntaba como una prueba más de la base genética en la alergia alimentaria el incremento demostrable en la concordancia de alergia al cacahuete entre hermanos genéticamente no idénticos (6,9%) y gemelos dicigóticos (6,8%) que sobre la población general (1,3%), concluyendo que la influencia genética en la alergia al cacahuete parecía sólida y que esto podía aplicarse a otras enfermedades alérgicas²⁸¹.

Otro aspecto importante sería el estudio de los polimorfismos en determinados genes y su asociación con el desarrollo de alergia alimentaria, aunque son escasos los trabajos publicados hasta la actualidad sobre este tema. Se han descrito asociaciones entre polimorfismos localizados en el gen del inhibidor de la serín proteasa Karzal tipo 5 (*SPINK5*) con la alergia alimentaria¹³⁷. También se ha descrito un polimorfismo del

gen *STAT6*, que se asociaba de manera significativa con un mayor riesgo de padecer alergia a los frutos secos, así como polimorfismos relacionados con el complejo HLA también en pacientes alérgicos a los frutos secos¹³⁸. En concreto, se ha descrito que la presencia de los alelos HLA-DRB1 que pertenecían al grupo “E” confirmaban la susceptibilidad a la alergia a la frutas¹³⁹.

Se ha descrito distintas asociaciones entre SNP de los genes que codifican proteínas implicadas en las vías relacionadas con leucotrienos y prostaglandinas y el desarrollo de asma y atopia, en concreto con los genes *PTGDR*¹⁴⁰⁻¹⁴³, *LTC4S*¹⁴⁴⁻¹⁴⁸, y *CYSLTR1*^{148,149}. A continuación se detallan los aspectos más relevantes relacionados con dichos genes.

1.7.1 GEN *LTC4S*.

El gen *LTC4S* fue clonado por primera vez por Lam y colaboradores en 1994¹⁵⁰. En 1996, Penrose y colaboradores¹⁵¹ también clonaron este gen y establecieron que presentaba cinco exones, que se extendían entre los nucleótidos 71-257 y cuatro intrones, con un total de 2,52 kb. Mediante hibridación *in situ* se localizó el gen en la región cromosómica 5q35 (Figura 11). El brazo largo del cromosoma 5 ha sido relacionado en diversos estudios con el fenotipo de asma, ya que en él se ubican los genes de la IL-3, 4, 9, 13 y de otras citocinas¹⁵².



Figura 11. Localización del gen *LTC4S* en el brazo largo del cromosoma 5.

El gen *LTC4S* codifica la sintetasa del leucotrieno C4. En 1986, Pace-Asciak y colaboradores¹⁵³ habían observado en sus estudios con plaquetas humanas que el LTA4 se transformaba en LTC4 mediante una vía estimulada por glutatión. En 1992, Penrose y colaboradores¹⁵⁴ purificaron por primera vez la sintetasa del leucotrieno C4 (*LTC4S*), que tiene 150 aa, con una masa molecular estimada de 18 kDa (Figura 12). Presenta 94 aa hidrofóbicos y 34 polares. La secuencia de aminoácidos presenta dos residuos de cisteína en las posiciones 56 y 82 y dos lugares de fosforilación de la proteína cinasa C (residuos 28-20 y 111-113).



Figura 12. Representación tridimensional de la *LTC4S*.

La LTC4S forma parte de la envoltura externa de la membrana perinuclear y del retículo endoplasmático¹⁵⁵, habiendo sido purificada en células de la serie hematopoyética (basófilos, eosinófilos, mastocitos y plaquetas) y en los macrófagos alveolares de tejido pulmonar. Actúa conjugando el glutatión reducido al LTA4 en la posición C-6, con lo que se transforma en LTC4, que será transportado al exterior mediante una proteína transportadora (p-1).

Mayatepek y colaboradores¹⁵⁶ describieron dos casos de déficit de LTC4S en niños con antecedentes familiares de consanguinidad, cuya enfermedad se manifestó con hipotonía, retraso del crecimiento y microcefalia, así como con retraso psicomotor y fallecimiento a los 6 meses de vida.

Las regiones promotoras de los genes actúan como regiones reguladoras de su expresión, por lo que las variaciones en las secuencias de dichas regiones podrían producir alteraciones en los niveles de expresión de las proteínas codificadas.

Entre las variantes génicas descritas para LTC4S se encuentra el polimorfismo -444 A>C en la región promotora del gen de la sintetasa de LTC4 (*LTC4S*). Este polimorfismo consiste en el cambio de una adenina por una citosina en la posición -444. Se ha sugerido que este cambio afectaría a los sitios de unión de los factores de transcripción modificando la expresión de LTC4S.

Se ha detectado una asociación del SNP -444 A>C en pacientes con asma en especial con asma grave¹⁵⁷. Nuestro grupo de trabajo¹⁵⁸ evaluó este polimorfismo en una población española y no encontró una asociación estadísticamente significativa con el fenotipo de asma, si bien detectó una tendencia a una mayor presencia del alelo -444 C en especial en los pacientes con asma grave. Otros grupos tampoco confirman la

asociación con susceptibilidad a padecer asma, si bien encuentran asociación con los parámetros de función respiratoria¹⁵⁹.

Desde el punto de vista farmacogenético, Cowburn y colaboradores¹⁶⁰ han observado un aumento de la expresión de la LTC₄ sintasa en pacientes con intolerancia al ácido acetilsalicílico. En este sentido, se ha detectado asociación génica entre el SNP -444 A>C con el asma inducida por aspirina^{157,161} aunque esta asociación no ha sido confirmada por otros autores^{144,158,162}.

En estudios recientes realizados por nuestro grupo de trabajo se observó cómo el sentido de la asociación de los alelos del SNP -444A>C se modificaba dependiendo de combinación con los alelos de otros SNP^{148,163}. Esto, junto con otros factores relacionados con el origen étnico y las peculiares características de los estudios de asociación, podría ayudar a explicar la controversia existente en este ámbito.

Recientemente se ha descrito otro polimorfismo -1702 G>A¹⁶⁴ también en la región promotora del gen de la LTC₄S, pero sus implicaciones farmacogenéticas aún no han sido confirmadas.

1.7.2 GEN *CYSLTR1*.

El gen que codifica el receptor de leucotrienos cistenílicos de tipo 1, *CYSLTR1*, también denominado *HG55*, *CYSLT1*, *CYSLTR*, *CYSLT1R*, *HMTMF81*, *MGC46139* o *LOC10800*, se localiza en el cromosoma X en la posición Xq13.2-21.1 y presenta 57,33 kb (Figura 13). Este gen se expresa en el bazo, los leucocitos, los macrófagos pulmonares y en el músculo liso del tracto respiratorio¹⁶⁵ (Figura 14).

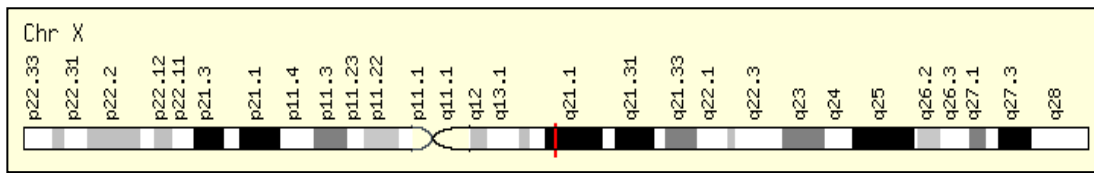


Figura 13. Localización de *CYSLT* en el cromosoma X.

En 1999, Lynch y colaboradores¹⁶⁶ junto con el grupo de Sarau y colaboradores¹⁶⁷, clonaron y caracterizaron el receptor de tipo 1 de leucotrienos cisteinílicos (CysLTR1), que se identificó como un receptor de 337 aa, con siete dominios y una masa molecular de 37 kDa¹⁶⁸. Cuando este receptor se activa por unión del LTD4 se produce un cambio conformacional que conlleva la fijación de una proteína G¹⁶⁹. El receptor CysLTR1 pertenece a la superfamilia de receptores acoplados a proteína G parecidos a la rodopsina, y presenta, al menos, dos tipos de sitios de unión con diferentes grados de afinidad por el ligando, uno de alta afinidad (Kd 0,023 nM), y otro de baja (Kd 230 nM). Este receptor se rige por el modelo de complejo ternario, según el cual, el receptor existe en dos estados de afinidad: (i) unido a la proteína G, que tiene alta afinidad por el agonista, y (ii) el receptor libre, que tiene baja afinidad por el mismo.

La activación del agonista conduce a una disociación del complejo receptor-proteína G unida a GTP, de alta afinidad, con posterior hidrólisis del GTP e inicio de la cascada intracelular lo que produce una conversión al estado de baja afinidad.

Se han descrito recientemente varios polimorfismos en el gen *CYSLTR1*, de los cuales el más estudiado es el 927T>C, descrito por primera vez por Choi y

colaboradores¹⁷⁰. Este polimorfismo consiste en el cambio de una timina por una citosina en la posición 927 del gen. Esta transición no cambia el aminoácido codificado; sin embargo se ha sugerido que pudiera modificar la eficiencia de transcripción, la traducción o estar en estrecho ligamiento con otros polimorfismos que modificaran la función¹⁷⁰.

En este sentido, nuestro grupo ha encontrado una asociación entre el alelo C del polimorfismo 927T>C *CYSLTR1* y el fenotipo de asma en un grupo de niños varones¹⁴⁸. Además, dicho alelo se ha detectado con más frecuencia en pacientes varones con asma alérgica y dermatitis atópica que en los controles de sexo masculino y que en los pacientes varones con asma alérgica pero sin dermatitis atópica¹⁴⁹.

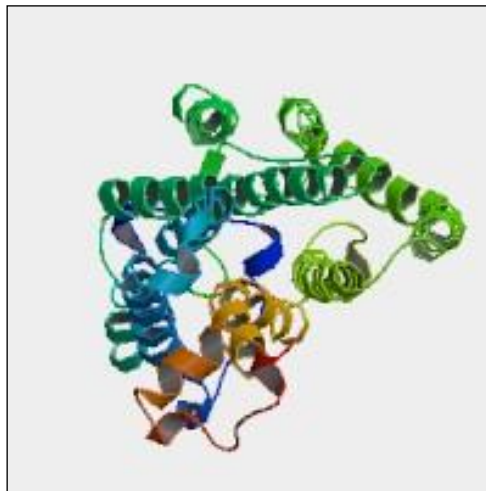


Figura 14. Representación tridimensional de *CYSLTR1*.

Otros de los SNP estudiados en relación con el asma son -434T>C, -275C>A y -136G>A en la región promotora de *CYSLTR1*¹⁷¹. Respecto a los aspectos farmacogenéticos, se ha descrito el SNP -634C>T, relacionado con el asma y con la

urticaria y angioedema producidos por hipersensibilidad al AAS¹⁷². El polimorfismo 927T>C ha sido también estudiado en relación con el asma en pacientes con intolerancia al AAS¹⁷⁰ sin que se hallara una asociación significativa.

1.7.3 GEN *PTGDR*.

El gen *PTGDR* está localizado en el cromosoma humano 14q22.1¹⁷³, una región que se ha relacionado con el asma (Figura 15). Se han descrito 6 exones alternativos y tres isoformas. Codifica un receptor que se asocia a proteína G, denominado receptor de la prostaglandina D2 (PGD2), con un tamaño de 359 aminoácidos y un peso molecular de 40,276 kDa¹⁷³ (Figura 16).



Figura 15. Localización del gen *PTGDR* en el brazo largo del cromosoma 14.

Las prostaglandinas son potentes mediadores derivados del metabolismo del ácido araquidónico que participan en la homeostasis de numerosas funciones biológicas, así como en la inflamación. Son producidas por la actividad catalítica de la ciclooxigenasa (COX) y de la prostaglandina D2 sintetasa (PGDS) en mastocitos, macrófagos y otras células. En relación con su acción en la inflamación, recientes trabajos sugieren que las prostaglandinas actúan modulando el sistema inmunológico. La prostaglandina D2, concretamente, ha sido considerada un marcador de activación de

los mastocitos en el asma, ejerciendo su función biológica principalmente a través de dos receptores transmembrana específicos. El receptor prostanoide D (PTGDR o DP)¹⁷³⁻¹⁷⁵ se expresa de manera ubicua, y el receptor prostanoide D2 (DP2) se expresa en eosinófilos, basófilos y linfocitos Th2¹⁷⁶. La exposición al alérgeno causa un incremento en la producción *de novo* de PGD2 en pacientes con enfermedades alérgicas y se piensa que la PGD2 provoca broncoconstricción, vasodilatación y un incremento en la permeabilidad capilar e incluso producción de moco. Por este motivo, el gen *PTGDR* ha sido relacionado con el asma y atopia^{177,178}. Se ha comprobado que este receptor es necesario para el desarrollo del asma en animales de experimentación ya que, tras la exposición a alérgenos específicos, la respuesta inflamatoria a nivel bronquial se ve inhibida en su ausencia¹⁷⁹.

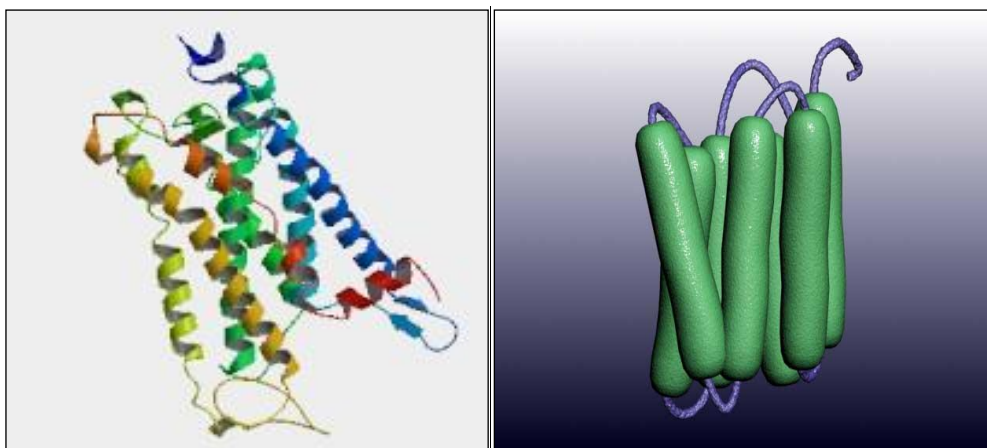


Figura 16. Representaciones tridimensionales de PTGDR.

En los últimos años se han publicado varios estudios de asociación entre los polimorfismos de la región promotora del gen *PTGDR* y diferentes fenotipos de asma^{140-143,180}, pero hasta el momento actual no se ha estudiado en pacientes con alergia alimentaria.

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO



2. HIPÓTESIS DE TRABAJO.

La teoría de la marcha atópica sugiere que los niños con predisposición atópica se sensibilizan inicialmente a los alimentos para desarrollar posteriormente una enfermedad respiratoria alérgica. Por otro lado, la evolución de la alergia a los alimentos es muy diferente de unos niños a otros, llegando a ser tolerados estos alimentos en la mayoría de los casos pero no en todos.

Nuestra primera hipótesis de trabajo se basa en que la sensibilización a la leche o al huevo o ambos podría comportarse como un factor predictivo del desarrollo ulterior de enfermedades atópicas, tanto respiratorias como de trabajo. Como complemento de esta hipótesis nos planteamos que podrían existir diferencias en las variables clínicas que pudieran tener igualmente valor pronóstico, con el fin último de identificar la población de niños alérgicos a la leche o al huevo que tuvieran un mayor riesgo de desarrollar enfermedades alérgicas.

Dado el carácter hereditario de las enfermedades atópicas, nos planteamos una segunda hipótesis de trabajo basada en que la existencia de distintos polimorfismos en determinados genes o en combinaciones de éstos podría asociarse con una mayor probabilidad de desarrollar asma o rinitis alérgicas, en concreto SNP en genes que codifiquen proteínas de las vías de los leucotrienos y las prostaglandinas.

3. OBJETIVOS



3. OBJETIVOS.

1. Realizar un estudio descriptivo de una población de niños alérgicos a proteínas de leche de vaca y/o al huevo, analizando los antecedentes personales, las manifestaciones clínicas, las sensibilizaciones y la evolución a lo largo de un periodo de seguimiento.
2. Determinar las variables epidemiológicas que más influencia puedan ejercer en el desarrollo de nuevas sensibilizaciones o de enfermedades alérgicas en nuestra población.
3. Evaluar si existen diferencias clínicas, biológicas o inmunológicas entre los niños alérgicos a la leche y los alérgicos al huevo respecto al desarrollo de posteriores sensibilizaciones o enfermedades alérgicas.
4. Determinar las variantes génicas de los polimorfismos -444 A>C de *LTC4S*, 927 T>C de *CYSLTR1* y -613 C>T, -549 T>C, -441 C>T y -197 T>C de *PTGDR* en nuestra población y analizar su posible asociación con la sensibilización a las proteínas de la leche de vaca y/o del huevo.

4. MATERIAL Y MÉTODOS



4. MATERIAL Y MÉTODOS.

Este trabajo se ha desarrollado en el Servicio de Inmunología Infantil del Hospital Universitario de Salamanca.

4.1. POBLACIÓN ESTUDIADA.

4.1.1. PACIENTES.

Se recogieron de forma consecutiva, no seleccionada, 205 pacientes que acudieron a la consulta de Inmunología Infantil y que cumplían los siguientes criterios de inclusión:

- Edad comprendida entre de 0 y 14 años.
- Pruebas cutáneas e IgE específica positivas para proteínas de la leche de vaca, huevo, o ambos.

Se solicitó el consentimiento informado a los padres para la realización de los estudios diagnósticos.

4.1.2. CONTROLES.

Los controles se emplearon únicamente para llevar a cabo el estudio genético. Se seleccionaron 201 individuos evaluados en la consulta de alergia de adultos que cumplían los siguientes criterios:

1. Pacientes mayores de 18 años. Se eligió una población adulta ya que con la inclusión, como controles, de una población infantil existía mayor posibilidad de que algunos de ellos, genéticamente predispuestos, desarrollasen asma en un futuro.
2. Sin síntomas o antecedentes de asma bronquial.
3. Sin síntomas o antecedentes de otras enfermedades respiratorias.
4. Sin síntomas o antecedentes de enfermedades dermatológicas crónicas.
5. Sin antecedentes familiares de primer grado de asma o atopia.
6. Con pruebas cutáneas negativas frente a una batería estándar de aquellos aeroalérgenos más frecuentes en nuestro medio (ácaros, pólenes, hongos y epitelios) (ALK-Abelló, Madrid-España, Bial-Aristegui, Bilbao-España y Laboratorios Leti, Barcelona-España) (Tabla 8)

Tabla 8. Batería de aeroalérgenos empleados.

ÁCAROS	<i>Dermatophagoides pteronissynuss, Dermatophagoides farinae, Lepidoglyphus destructor, Tirophagus putrescentiae, Euroglyphus maynei, Acarus siro, Glycyphagus domesticus.</i>
PÓLENES	Mezcla de gramíneas, mezcla de árboles, <i>Parietaria judaica, Chenopodium album, Artemisia vulgaris Plantago lanceolata, Olea europea, Cupressus arizonica, Platanus acerifolia.</i>
HONGOS	<i>Alternaria alternata, Cladosporium herbarum, Penicillium notatum, Aspergillus fumigatus.</i>
EPITELIOS	Perro, gato, hámster, caballo y mezcla de plumas.
OTROS	Mezcla de cucaracha.

4.2. VARIABLES DEL ESTUDIO.

Se recogieron 317 variables para cada uno de los 205 pacientes. Los datos se recogieron en el momento de la consulta, y cuando fue necesario también mediante entrevista telefónica, en ambos casos empleando un cuestionario estructurado. Todos ellos fueron recogidos por la misma persona.

4.2.1. DATOS BÁSICOS Y ANTECEDENTES.

A. DATOS BÁSICOS.

Se recogieron datos de identificación como el nombre, los apellidos, el número de historia clínica y el teléfono. Se registró la edad, el sexo y la fecha de nacimiento, así como el lugar de residencia y la fecha de consulta. Asimismo, se procedió a la recogida del peso y la talla y de sus respectivos percentiles. En la base de análisis, los datos personales identificativos se disociaron de los resultados.

B. ANTECEDENTES PERSONALES.

Se recogieron datos sobre la evolución del embarazo y del parto, sobre el nacimiento, y si habían padecido sufrimiento fetal, distrés respiratorio o necesidad de ventilación.

Se investigó si existían antecedentes de bronquiolitis, sibilancias precoces transitorias, y sibilancias persistentes, tanto atópicas como no atópicas, diagnosticadas

por un médico; si existían antecedentes de otras enfermedades importantes, así como el padecimiento de infecciones graves o enfermedades otorrinolaringológicas como otitis, amigdalitis o sinusitis de repetición. Asimismo se interrogó acerca de posibles intervenciones quirúrgicas y sobre las vacunaciones recibidas.

También se indagó si el niño había recibido lactancia materna exclusiva o mixta, el número de meses que había durado, así como si había recibido tomas aisladas de leche de vaca durante el periodo de lactancia materna, lo que coloquialmente se denomina “biberón pirata”. Se recogieron también los meses a los que se les había ido introduciendo la alimentación complementaria.

Según los percentiles de los pacientes se estudió también si tenían retraso pondero-estatural.

En la primera visita se recogió específicamente si los niños habían padecido algún tipo de enfermedad alérgica, como conjuntivitis, rinitis o asma, así como si habían padecido episodios de urticaria y angioedema agudo o crónico, dermatitis atópica o infecciones con sibilancias además de si estaban sensibilizados a algún aeroalérgeno (pólenes, ácaros, hongos o epitelios), a cucaracha, látex o *Anisakis simplex*, como se detallará más adelante al hablar sobre los datos clínicos.

C. ANTECEDENTES FAMILIARES.

En relación con los antecedentes familiares se recogió si existían, en los familiares de primer y segundo grado, antecedentes de enfermedades alérgicas, asma, dermatitis atópica o alergia alimentaria.

D. FACTORES DE RIESGO AMBIENTAL.

Se interrogó acerca de si la madre había tomado ácido fólico durante el embarazo, si había fumado durante el mismo y sobre la exposición del niño al humo del tabaco dentro del domicilio, la presencia de humedad en los mismos, la cercanía del domicilio a ríos, la existencia de plantas de interior y el contacto frecuente con animales. Se registró si residían en medio rural o urbano, y si habían acudido a la guardería, desde qué edad y durante cuánto tiempo. También se preguntó si el paciente había tomado suplementos vitamínicos.

4.2.2. DATOS CLÍNICOS.

A continuación se detallan los criterios de diagnóstico y de clasificación de cada una de las enfermedades que se van a tener en cuenta a lo largo del estudio.

A. DERMATITIS ATÓPICA.

Para el diagnóstico de dermatitis atópica se siguieron los criterios diagnósticos del Consenso de la Academia Americana de Dermatología de 2003¹⁸¹ (Tabla 9).

Tabla 9. Criterios diagnósticos del Consenso de la Academia Americana de Dermatología de 2003.

CRITERIOS ESENCIALES (DEBEN ESTAR PRESENTES)	<ul style="list-style-type: none"> • Prurito. • Cambios eccematosos con patrones específicos: Eccemas en cara, cuello y superficie extensora de miembros en lactantes y niños. Lesiones en flexuras previas o presentes a cualquier edad. Respeto de pliegues axilares/inguinales. • Curso crónico, recidivante.
CRITERIOS IMPORTANTES (AVALAN EL DIAGNÓSTICO)	<ul style="list-style-type: none"> • Edad de comienzo temprana. • Atopia (historia personal o familiar). Hiperreactividad mediada por IgE. • Xerosis.
CRITERIOS ASOCIADOS (SUGIEREN EL DIAGNÓSTICO)	<ul style="list-style-type: none"> • Queratosis pilaris. Ictiosis vulgaris. Hiperlinearidad palmar. • Respuestas vasculares atípicas (ej. palidez facial, dermatografismo blanco...). • Acentuación perifolicular/liquenificación/prúrigo. • Cambios oculares/periorbitarios. • Lesiones periorales/periauriculares.

B. URTICARIA.

Su diagnóstico se basó en los datos obtenidos durante la anamnesis y la exploración física, considerando la urticaria como crónica cuando había persistido más de seis semanas.

C. RINOCONJUNTIVITIS.

El diagnóstico de rinoconjuntivitis se basó igualmente en los datos clínicos obtenidos durante la anamnesis y la exploración, y su clasificación se basó en los criterios del documento ARIA (*Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma*)¹⁸².

D. BRONQUIOLITIS/BRONQUITIS ESPÁSTICAS.

Uno de los principales retos diagnósticos en la infancia es etiquetar correctamente al niño menor de tres años que presenta episodios recurrentes de sibilancias. Casi la tercera parte de los niños menores de dos años presentan sibilancias en algún momento de su vida, generalmente en el contexto una infección vírica¹⁸³. Así, en un estudio de prevalencia de síntomas respiratorios realizado en más de 7.000 niños de 1 a 5 años se observó que el 32% había presentado síntomas recurrentes de tos, disnea o sibilancias¹⁸⁴. En muchas ocasiones, estos episodios de sibilancias se corresponden con un cuadro de bronquiolitis propiamente dicho. La bronquiolitis es una enfermedad infecciosa de las vías respiratorias inferiores que afecta fundamentalmente a niños menores de tres años¹⁸⁵. Aunque no existe un consenso sobre el concepto de bronquiolitis, quizás el más extendido sea el propuesto por McConnochie¹⁸⁶, quien la define como “el primer episodio agudo de sibilancias, precedido de un cuadro respiratorio de origen viral que afecta a niños menores de dos años de edad”. Por lo tanto, nos enfrentamos con un importante problema a la hora de realizar un correcto diagnóstico en este tipo de pacientes, ya que en muchas ocasiones hay que basarse en la historia clínica que refieren los padres, y los tres síntomas que relatan con mayor frecuencia son “ruidos al respirar”, tos y episodios de dificultad respiratoria, siendo muy difícil saber qué es lo que entienden los padres por respiración ruidosa cuando cuentan los síntomas de su hijo¹⁸⁷. Debido a este problema, y a que en la mayoría de las ocasiones los padres desconocen si la patología que sufrió su hijo fue o no una bronquiolitis, y mucho menos cuál fue el virus causante, se decidió recoger como antecedente personal de bronquiolitis y/o bronquitis espástica toda patología que cumpliera las siguientes características: síntomas de obstrucción de las vías respiratorias inferiores en niños menores de tres años con recurrencia de los mismos y sospecha de

infección concomitante o confirmación de la misma mediante su pediatra o médico de urgencias.

E. ASMA: DIAGNÓSTICO Y GRAVEDAD.

Son considerables las peculiaridades de la enfermedad inherentes a cada tramo de edad, en especial en los primeros años de vida (0-5 años) en los que el diagnóstico del niño con disnea y sibilancias resulta difícil, ya que las características del asma del lactante y del niño pequeño son diferentes de las del niño mayor. En especial en las edades más tempranas de la vida, donde la fisiopatología del asma es en buena parte desconocida, la definición más adecuada para la enfermedad podría ser la del “Tercer Consenso Pediátrico Internacional sobre Asma” que la define como “sibilancias recurrentes y/o tos persistente en una situación en la que el asma es probable y otras enfermedades menos frecuentes se han descartado”¹⁸⁸. Además, en estas edades tan tempranas en la mayoría de los centros existe la imposibilidad de realizar estudios de función pulmonar, lo que complica enormemente el diagnóstico, que acaba basándose fundamentalmente en la historia clínica y, cuando es posible, en la observación del paciente durante las crisis. La reiteración de los síntomas y su regresión espontánea o en respuesta al tratamiento, así como la exclusión de otros posibles diagnósticos asientan el diagnóstico de asma. La anamnesis permite también clasificar el tipo y la gravedad del asma y controlar la respuesta al tratamiento, con el concurso secundario de las pruebas complementarias, que aportan indicios indirectos. Hacia los 3 años el asma se hace progresivamente más definitiva y, a partir de los 6-7 años, ya pueden aplicarse las definiciones fisiopatológicas más estrictas de los consensos generales. En nuestro caso se analizó la gravedad del asma utilizando la clasificación del Consenso de 2004 de la

Sociedad de Neumología Pediátrica y de Alergia e Inmunología Pediátrica¹⁸⁹ (Tabla 10), que es el mismo que recomienda emplear la Guía Española para el Manejo del Asma (GEMA) 2003¹⁹⁰ y que, básicamente, se ha mantenido en la revisión por la GEMA 2009¹⁹¹. El diagnóstico de asma se basó en una historia clínica compatible con asma bronquial y, en aquellos casos en los que el paciente era capaz de colaborar, en una espirometría basal siguiendo las normas de la *American Thoracic Society* (ATS) de 1995¹⁹². Se consideró una prueba de broncodilatación positiva si se producía un aumento $\geq 12\%$ del FEV1. Para estas pruebas se utilizó un espirómetro Datospir 500 (Barcelona, España).

Tabla 10. Clasificación del asma en niños.

	EXACERBACIONES	SÍNTOMAS CON EL EJERCICIO	FUNCIÓN PULMONAR
EPISÓDICA OCASIONAL	Infrecuentes. Uno cada 4-6 semanas o menos.	Sibilancias leves ocasionales tras ejercicio intenso.	FEV1 $\geq 80\%$ Variabilidad PEF $< 20\%$
EPISÓDICA FRECUENTE	Frecuentes. Más de uno cada 4-6 semanas.	Sibilancias > 1 vez a la semana tras ejercicio moderado.	FEV1 $\geq 80\%$ Variabilidad PEF $< 20\%$ Prueba ejercicio positiva.
PERSISTENTE MODERADA	Frecuentes. Síntomas frecuentes en intercrisis que afectan a la actividad normal diaria y al sueño.	Sibilancias > 1 vez a la semana tras ejercicio mínimo.	FEV1 $> 70\%$ y $< 80\%$ Variabilidad PEF $> 20\%$ y $\leq 30\%$
PERSISTENTE GRAVE	Frecuentes. Síntomas continuos. Ritmo y actividad habitual y sueño muy alterados.	Sibilancias Frecuentes ante ejercicio mínimo.	FEV1 $< 70\%$ Variabilidad PEF $> 30\%$

4.2.3. ESTUDIO SOBRE LA SENSIBILIZACIÓN A LA LECHE Y AL HUEVO.

A. DATOS CLÍNICOS.

Se recogió si el paciente había presentado clínica relacionada con la ingestión de leche de vaca, si era así, la edad a la que había ocurrido la reacción, si sucedió con la primera toma aparente o si había habido tolerancia previa y por cuánto tiempo las había tolerado. También se indagó sobre el periodo de latencia y el número de reacciones que el paciente había experimentado. A continuación se recogieron los datos sobre las manifestaciones clínicas de la reacción, que podían ir desde rechazo o clínica de síndrome oral hasta reacciones con riesgo vital, como se puede apreciar en el cuestionario de recogida de datos.

B. EVALUACIÓN ALERGOLÓGICA MEDIANTE PRUEBAS CUTÁNEAS.

Posteriormente se procedió a la realización del estudio alergológico. Éste consistió en el estudio de la existencia de sensibilización alérgica, valorándose para ello la positividad de las pruebas intraepidérmicas, que se realizaron de acuerdo con las recomendaciones de la Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica (EAACI)^{193,194}, para lo que se empleó una batería estándar (ALK-Abelló, Madrid-España, Bial-Aristegui, Bilbao-España y Laboratorios Leti, Barcelona-España) con proteínas de leche (leche de vaca, alfa-lactoalbúmina, beta-lactoglobulina y caseína) y de huevo (huevo, clara de huevo, yema de huevo, ovoalbúmina y ovomucoide). Se utilizaron lancetas estandarizadas con una punta de 1 mm, que se introducían en la epidermis de modo perpendicular a través de una gota de cada extracto alergénico y de

una gota de las soluciones de control positivo y negativo. La lectura del resultado se realizó a los 15 minutos. Se utilizó suero salino como control negativo e histamina (10 mg/ml) como control positivo. Se consideró un resultado positivo si se producía una pápula igual o superior a 3 mm de diámetro, una vez descontado el diámetro del control negativo. Para la realización de las pruebas cutáneas se interrumpió la toma de antihistamínicos u otros fármacos capaces de interferir con el resultado, si el paciente los estaba utilizando, durante el tiempo recomendado por la EAACI^{193,194}.

Se realizaron también las pruebas cutáneas intraepidérmicas con la misma batería de aeroalérgenos anteriormente citada y, cuando fue necesario, con otros trofoalérgenos implicados.

C. EVALUACIÓN ALERGOLÓGICA MEDIANTE DETERMINACIÓN DE INMUNOGLOBULINA E.

Así mismo se analizaron mediante fluoroenzimoinmunoanálisis los niveles de IgE total e IgE específica frente a todas las proteínas de la leche (leche de vaca, alfa-lactoalbúmina, beta-lactoglobulina y caseína) y del huevo (huevo, clara de huevo, yema de huevo, ovoalbúmina, ovomucoide y conalbúmina) (*Phadia Cap System*, Phadia, Uppsala, Suecia) siguiendo las indicaciones del fabricante, en las muestras de suero de los pacientes, así como los niveles de IgE específica frente a otros alérgenos sugeridos durante la anamnesis. En esta técnica se utiliza el *InmunoCap*, que es una estructura de celulosa activada con bromuro de cianógeno que facilita la reacción antígeno-anticuerpo. El alérgeno, unido de manera covalente al *InmunoCap*, reacciona con la IgE específica del suero estudiado. Se añaden anticuerpos anti-IgE marcados con la enzima β -galactosidasa (anticuerpos monoclonales de ratón), con lo cual se forma un

inmunocomplejo: Alérgeno + IgE específica + Anticuerpos anti-IgE marcados. Después de la incubación los restos de enzima no unidos son eliminados mediante otro lavado y el complejo final es posteriormente incubado con la solución de desarrollo. Después de parar la reacción se determina la fluorescencia del eluido en un lector. La fluorescencia detectada es proporcional a la cantidad de IgE específica del suero del paciente estudiado.

D. PRUEBA DE TOLERANCIA ORAL.

Después se estudió qué pacientes habían sido expuestos a una prueba de tolerancia oral con leche, huevo o ambos, y el resultado de la misma, detallando, en el caso de que ésta hubiera sido positiva, la clínica que había experimentado en la reacción. En los pacientes con una reacción grave o con reacciones leves inmediatas, repetidas y recientes en relación con la ingestión o el contacto con leche de vaca, la demostración de IgE específica elevada puede ser suficiente para confirmar el diagnóstico^{26,55-57}, por lo que la prueba de provocación oral sólo se realizó para probar tolerancia, no como método diagnóstico, ya que las pruebas *in vivo* e *in vitro* positivas fueron suficiente para llegar al diagnóstico de sensibilización a las proteínas de la leche y/o del huevo, que es lo que queríamos demostrar en nuestro estudio. Si la prueba era negativa se anotó a qué edad habían tolerado la leche o el huevo y se les repitieron las pruebas cutáneas y los valores de IgE específica ya en tolerancia.

E. EVOLUCIÓN.

Se recogió también si los pacientes presentaban sensibilización a la leche, al huevo o a ambos alimentos, así como si habían tolerado dichos alimentos o no y también la evolución de dichos pacientes, que consistió en estudiar si habían desarrollado, durante el transcurso del estudio, clínica de rinoconjuntivitis y/o asma (así como la gravedad de las mismas), urticaria y/o angioedema o dermatitis atópica. También se estudió si habían desarrollado sensibilizaciones posteriores tanto a aeroalérgenos (pólenes, ácaros, hongos y epitelios) como a trofoalérgenos (pescados, mariscos, legumbres, frutos secos, cereales y frutas/verduras).

Se decidió establecer un criterio llamado “mala evolución según criterios de atopia”, que se dio por positivo si el paciente presentaba sensibilización a algún aeroalérgeno y/o rinoconjuntivitis y/o asma alérgicas.

4.2.4 TRATAMIENTO.

Se les preguntó a todos los pacientes que habían experimentado reacción con los alimentos, bien con leche, huevo, o con ambos, si habían precisado tratamiento y con qué fármaco. También se les preguntó sobre la medicación que estaban utilizando en el momento de la anamnesis y la utilizada durante el año anterior, especialmente sobre el uso de fármacos β 2-agonistas de acción corta, corticoides inhalados, asociaciones de fármacos β 2-agonistas de larga acción y corticoides inhalados, antileucotrienos, antihistamínicos, cromonas y corticoides orales.

4.3. CUESTIONARIO.

El cuestionario utilizado para recoger las variables referidas se presenta en el anexo 1. Se rellenó siempre mediante la entrevista al padre o madre del paciente. Algunos datos clínicos se constataban, además de con la anamnesis a los padres, con la entrevista al propio paciente.

4.4. ANÁLISIS MOLECULAR.

Tanto en los pacientes como en los controles se analizaron los polimorfismos -444 A>C del promotor del gen de la sintetasa del LTC₄ (*LTC4S*), ubicado en cromosoma 5q13; 927 T>C del gen del receptor de tipo 1 de los leucotrienos cisteínicos (*CYSLTR1*) cuyo gen se encuentra en el cromosoma X; y -613 C>T, -549 T>C, -441 C>T y -197 T>C de la región promotora del gen del receptor de la prostaglandina D₂ (*PTGDR*), que se localiza en el cromosoma 14q22.

4.4.1 EXTRACCIÓN DEL ADN.

La extracción de sangre periférica se realizó mediante una venopunción antecubital. Todas las muestras de sangre periférica para estudio del ADN fueron recogidas en tubos con EDTA. La conservación de las mismas se realizó a una

temperatura de 4°C hasta que se realizó la extracción del ADN, generalmente en el mismo día de la extracción.

La obtención del ADN a partir de las muestras de sangre periférica se llevó a cabo en nuestro laboratorio de Inmunología utilizando el *kit* comercial DNAPURE “SSS” proporcionado por la casa comercial GeneDan S.L. (Santa Coloma de Gramanet, España). La obtención de ADN oscila entre 15-45 µg/ml de sangre total, obteniéndose libre de inhibidores de la PCR y otras reacciones enzimáticas.

El protocolo implica, como primer paso, una separación de los eritrocitos de las células que contienen ADN, que son selectivamente lisados mediante la adición de una solución de lisis (Solución de lisis RBC). Tras un tiempo breve de incubación y centrifugación, se elimina el sobrenadante.

En el siguiente paso, mediante la adición de un detergente aniónico (Solución de lisis), se lisaron las células nucleadas y se solubilizaron los componentes celulares. Posteriormente, se eliminaron las proteínas celulares y nucleares mediante una precipitación salina con una solución de precipitación proteica.

El sobrenadante, que contenía el ADN, se traspasó a un nuevo microtubo para conseguir su precipitación con Isopropanol, y se añadió etanol del 70% con el fin de lavar el ADN. Finalmente, se añadió agua estéril para hidratar y se conservaron las muestras a -20°C.

4.4.2 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA.

La amplificación mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del ADN de las regiones en las que se localizan los polimorfismos de los genes objeto de estudio (*PTGDR*, *CYSLTR1* y *LTC4S*) se llevó a cabo utilizando el *kit* comercial PCR-Máster Mix (Promega, Wisconsin, EE.UU.). Cada reacción fue preparada añadiendo 12,5 µL de Mástermix (22mM Tris-HCl (pH 8,4), 55 mM KCl, 1,65mM MgCl₂, 220µM dNTPs, 22U Taq ADN polimerasa), 100ng de ADN genómico y 0,2 µg de cada oligonucleótido. El volumen final de reacción fue en todos los casos de 25µL y siempre se preparó una reacción sin ADN como control negativo. La reacción de amplificación se llevó a cabo en un termociclador de *MWG-BIOTECH*. (Ebersberg, Alemania).

Los oligonucleótidos utilizados en las reacciones de PCR convencional, que se detallan en la tabla 11, fueron PTGDR-F y PTGDR-R para la amplificación de la región promotora de 642 pares de bases del gen *PTGDR* en la que se localizan los polimorfismos -613C>T, -549T<C, -441C<T y -197T<C; CYSTTR1F y CYSTTR1R para amplificar la región genómica de 501 nucleótidos del gen *CYSLTR1* en la que se localiza el polimorfismo 927T<C y LTC4SF y LTC4SR para amplificar la región promotora de 300 pares de bases del gen *LTC4S* en la que se localiza el polimorfismo -444A<C.

Tabla 11. Oligonucleótidos empleados en el presente trabajo.

NOMBRE	SECUENCIA
PTGDR-F	5'-CTCAGTTTCCTCGCCTATGC-
PTGDR-R	5'-AC 5'-CCCTGGAAGCCTACAACCTGCAT-
CYSLTR1F	5'-AT 5'-AAATCATGTTTTGGTCTTGC-
CYSLTR1R	5'-AT 5'-ATTTTCATTGGTTTIGACTG-
LTC4SF	5'-CT 5'-CTCCATTCTGAAGCCAAA-
LTC4SR	5'-A 5'-AGACCGCCTCACCATT-

El programa de amplificación utilizado se detalla a continuación:

- 94°C, 5 min. (x1 ciclo)
- 94°C, 1 min.; 60°C, 1 min.; 72°C, 1 min. (x40 ciclos)
- 72°C, 10 min. (x1 ciclo)

4.4.3 VISUALIZACIÓN.

Para la visualización de las bandas de ADN se empleó la técnica de electroforesis en gel de agarosa de alta resolución al 2% en solución TAE al 0,5% visualizadas mediante tinción con bromuro de etidio. Como marcador de tamaño se utilizó pBR322 ADN-MspI digest (New England Biolabs, EE.UU.) (Figura 17).

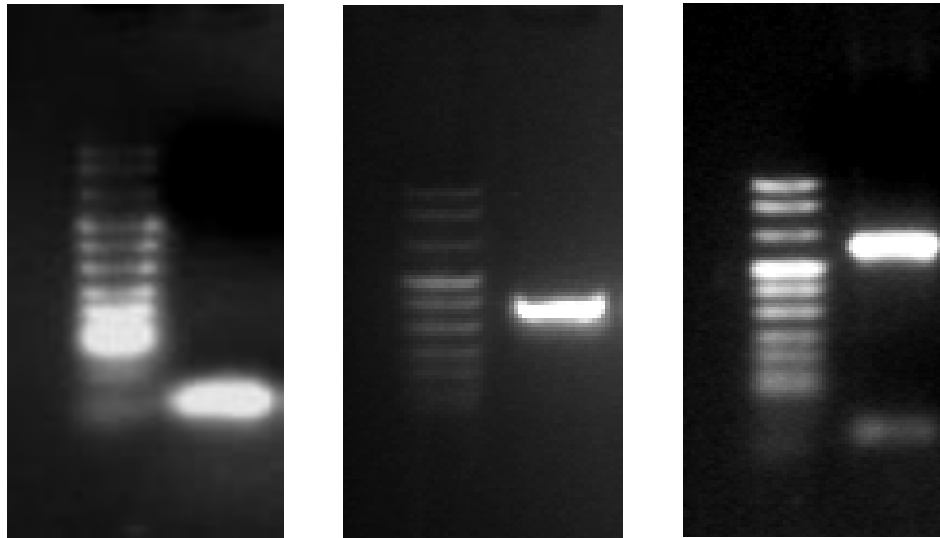


Figura 17: La primera columna en cada una de las imágenes representa el marcador y la segunda representa las bandas de LTC4S, CYSLTR1 y PTGDR respectivamente.

4.4.4 PURIFICACIÓN DE LOS FRAGMENTOS DE ADN AMPLIFICADOS.

La purificación del ADN se llevó a cabo mediante el *kit* comercial GeneClean turbo (BIO 101 Systems, Reino Unido), que permite separar fragmentos de ADN de entre 0,1Kb y 300Kb (Figura 19).

El procedimiento se basa en una extracción en fase sólida. El hecho de que el ADN se una a un filtro de sílice a elevadas concentraciones de sal y eluya a bajas concentraciones salinas hace de este método un procedimiento rápido y eficaz de purificación del ADN. La purificación del ADN se llevó a cabo siguiendo las recomendaciones del fabricante.

El primer paso consiste en añadir 5 volúmenes de GENE CLEAN[®] Turbo Salt Solution, que consigue unir el ADN al filtro situado en el GENE CLEAN[®] Turbo Cartridge, descartando el sobrenadante. A continuación, se añaden 500µl del buffer

GENECLEAN[®] Turbo Wash, una solución de elevada concentración de etanol, con el fin de lavar el ADN unido. El sobrenadante se descarta. En el último paso se añaden sobre el filtro 30 μ l de GENECLEAN[®] Turbo Elution Solution colocado sobre el GENECLEAN[®] Turbo Catch Tube con el fin de eluir el ADN unido en la membrana. El ADN purificado queda en esta disolución.

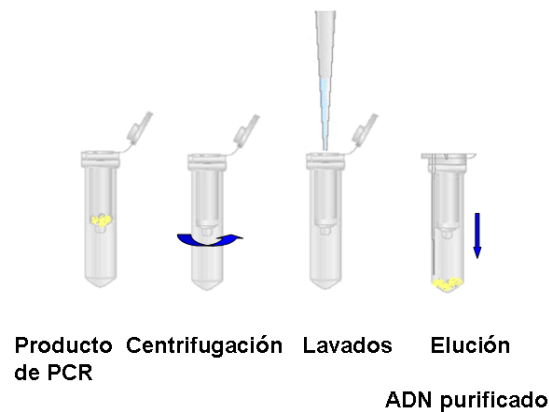


Figura 19. Representación esquemática del proceso de extracción en fase sólida.

4.4.5. SECUENCIACIÓN AUTOMÁTICA DEL ADN.

La secuenciación automática de los fragmentos de ADN procedentes de la amplificación por PCR del ADN genómico, se llevó a cabo en un secuenciador automático modelo ABI PRISM 310 Genetic Analyser y ABI PRISM 377 ADN Sequencer (Applied Biosystems, Inc) usando el cebador específico correspondiente, así como terminadores marcados con cromóforos fluorescentes y la enzima Taq polimerasa (Perkin Elmer), según las instrucciones recomendadas por el fabricante.

Las reacciones de secuenciación se prepararon con 5µL del producto de la PCR purificada que contenía la secuencia de interés y con 3µL de cebador de la cadena 3'-5' de concentración 1µM, todo ello en un volumen final de 8µL.

4.4.6. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE LAS SECUENCIAS.

El análisis de las secuencias obtenidas se llevó a cabo mediante el programa informático Chromas.Pro versión 1.32 (Technelysium Ptv. Ltd. 1998-2004) mediante la comparación de dichas secuencias con las depositadas en las bases de datos para los genes objeto de estudio. Los números de referencia del GENE BANK para las secuencias de los genes *PTGDR*, *CYSLTR1* y *LTC4S* son AL355833.4, AY242130 y U62025 respectivamente. En la figura 20 se muestra un ejemplo de los resultados de secuenciación analizados con el programa Chromas.Pro.

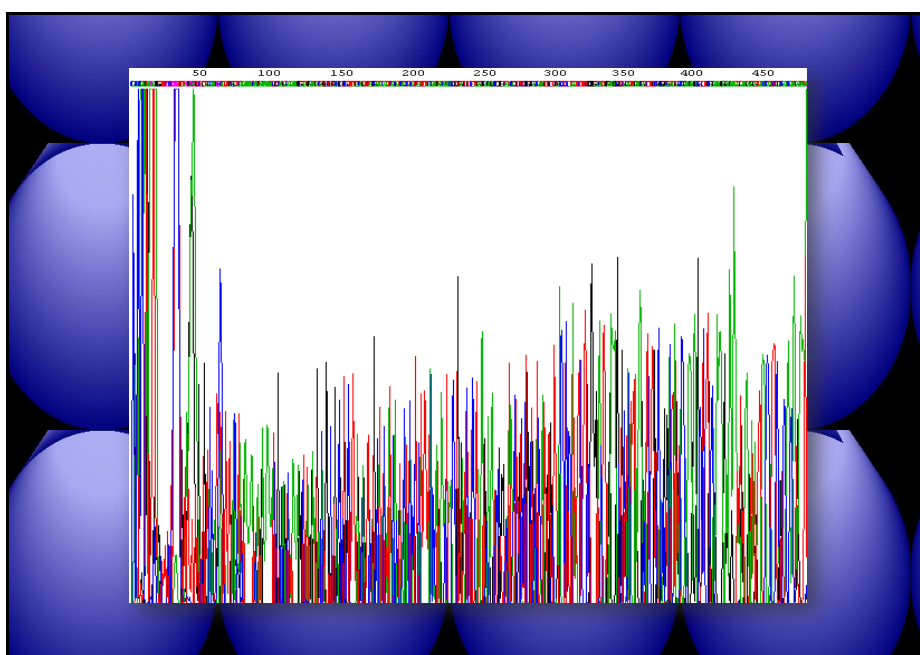


Figura 20. Ejemplo de análisis de Secuenciación con el programa “Chromas.Pro”.

4.4.7. CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO.

Durante la realización de este trabajo se siguieron las normas de control de calidad de la European Genetics Quality Network.

Las normas de control de calidad llevadas a cabo en el laboratorio comenzaron con la adecuada recepción de las muestras y su almacenamiento. La extracción del ADN se realizó siempre minimizando el riesgo de contaminación de las muestras. Se habilitó un área aislada para realizar las PCR en cabina de flujo laminar y las pipetas utilizadas para dicho proceso contenían filtros para evitar posibles contaminaciones.

En el estudio se utilizaron controles negativos y marcadores de peso molecular apropiados. Las muestras procedentes de sujetos control y de pacientes se trataron conjuntamente desconociendo el grupo al que correspondían las muestras durante su tratamiento en el laboratorio.

4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

4.5.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO.

En el análisis descriptivo de la muestra se emplearon porcentajes para las variables cualitativas, y, para las variables cuantitativas, medidas de tendencia central (media y/o mediana cuando existía asimetría o dispersión grande) y de dispersión (desviación típica). Se utilizó para ello el programa informático SPSS versión 15.0. (Chicago, Illinois, EE.UU.).

4.5.2 ANÁLISIS BIVARIANTE.

- Comparación de variables categóricas. Para comparar la distribución de las variables categóricas se emplearon las pruebas de χ^2 y OR (*odds ratio*, razón de posibilidades) con los correspondientes intervalos de confianza. Se aplicaron las pruebas exactas de Fisher y Pearson. Los resultados fueron dados empleando la p de Monte Carlo (10^4 simulaciones), y en el caso de que la prueba no permitiera obtenerla, se empleaba la p de Fisher.
- Comparación de variables categóricas y continuas. El análisis de la varianza (ANOVA) se utilizó para comparar las diferentes variables a través de las diferentes categorías.

Se realizó una transformación logarítmica de los niveles de IgE para obtener una distribución normal de los mismos.

- Significación estadística. Un valor de p menor de 0,05 se consideró estadísticamente significativo.

4.5.3. ANÁLISIS DE LAS FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS.

Las frecuencias alélicas y genotípicas fueron comparadas en las poblaciones estudio y control. Se realizó el estudio del equilibrio de Hardy-Weinberg, que es un modelo teórico de la genética de poblaciones que se utiliza para predecir la relación entre las frecuencias genotípicas y las frecuencias alélicas. La situación de equilibrio se analizó mediante la prueba de χ^2 .

4.5.4. ESTUDIOS DE INTERACCIÓN ENTRE GENES.

Para el estudio de la interacción entre los genes *LTC4S* y *CYSLTR1* se utilizó el programa estadístico SHEsis¹⁹⁵ que permite analizar los dos polimorfismos simultáneamente, estudiando la combinación de los cuatro alelos. Este estudio estadístico se basa en la comparación de cada una de las combinaciones alélicas calculadas frente a todas ellas globalmente consideradas. Este estudio permite determinar las frecuencias de las combinaciones alélicas en los casos y los controles y detectar las posibles diferencias. El análisis se realiza considerando aquellas combinaciones con una frecuencia superior al 1%, empleando la simulación de Monte Carlo, la prueba de χ^2 y la *odds ratio*.

En este trabajo se han utilizado diferentes programas estadísticos:

- **SPSS** versión 15.0. Chicago, Illinois, EE.UU.
- **Shesis**. <http://www.nhgg.org/analysis>¹⁹⁵.
- **Johnp**¹⁹⁶ para el poder estadístico, <http://statpages.org/proppowr.html>.
- **Wacholder**, programa que aplica el método descrito en Wacholder et al.¹⁹⁷

Las pruebas que se han realizado en este estudio se muestran a continuación:

- *Determinación de la frecuencia alélica y genotípica*: Las frecuencias alélicas y genotípicas de los pacientes fueron comparadas con las de los individuos considerados como control, para el estudio tipo caso-control.

- *Equilibrio de Hardy-Weinberg*: El equilibrio de Hardy-Weinberg fue valorado mediante el test χ^2 , asimismo se calculó la p de Pearson
- χ^2 : Las variables dicotómicas se analizaron mediante el test χ^2 , en tablas de contingencia para comparar la distribución de las variables categóricas
- *Prueba exacta de Fisher*: se utiliza para calcular la probabilidad exacta de obtener el resultado observado.
- *Simulación de Monte Carlo*: este procedimiento agrupa una serie de procedimientos que analizan distribuciones de variables aleatorias usando simulación de números aleatorios.
- *Odds Ratio*: con intervalo de confianza al 95% para el cálculo del riesgo
- *ANOVA*: El test de ANOVA se utilizó para analizar las variables continuas y categóricas.
- *Regresión logística*: el análisis multivariante se realizó mediante Regresión Logística ajustada por sexo y edad.
- Determinación del *poder estadístico* para el tamaño muestral
- *FPRP*: Probabilidad de emitir un resultado falso positivo, para lo que se empleó el programa **Wacholder**¹⁹⁷.

4.5.5. CORRELACIÓN CANÓNICA NO LINEAL.

Se ha realizado también un análisis de los datos mediante una técnica denominada **Análisis de Correlación Canónica no lineal** (también conocido como Análisis de correlación canónica categórico mediante escalamiento óptimo, u **OVERALS**), una de las técnicas pertenecientes al sistema Gifi, 1981 (GIFI, A. 1981. *Nonlinear multivariate analysis*. Leiden. Países Bajos).

Se trata de una técnica estadística multivariante de reducción de la dimensionalidad. Esta técnica, eminentemente descriptiva, se realiza mediante la cuantificación de los datos (asignando valores numéricos a las categorías de cada variable), lo que permite posicionar los individuos (“*objetos*” en la terminología de GIFI, 1991. GIFI, A. (1991). *Nonlinear Multivariate Análisis*, Chichester: Wiley.) en un plano factorial, de forma que los individuos que presentan valores similares para una misma categoría aparezcan próximos entre sí y los individuos de categorías diferentes estén alejados los unos de los otros. Ello permite, además, establecer, si es que ello es posible, una tipología de los pacientes en estudio a partir de los valores que toman para las variables. Las representaciones gráficas en los planos factoriales solución, revela los patrones de los objetos del análisis, permite encontrar agrupaciones –de existir-, incluso puede revelar sujetos atípicos, entre otras posibilidades.

Se ha seleccionado esta técnica estadística por diversas razones relativas al presente estudio; en primer lugar, porque permite trabajar con el tipo de datos de los que se partía en este trabajo, es decir, con datos obtenidos de variables escaladas a diferente nivel (numérico, ordinal o nominal); en segundo lugar, porque esta técnica posibilita analizar las relaciones no lineales existentes entre esta mezcla de variables; incluso, porque tal y como se han obtenido y recogido los datos, esta técnica considera el hecho

de que las variables estén estructuradas en K grupos y realiza el análisis de acorde a esta realidad. Mediante la utilización de esta técnica, además, se pretende determinar la similitud e influencia, en relación con la tipología que presentan nuestros pacientes, entre los conjuntos de variables categóricas analizadas.

El Análisis de Correlación Canónica No Lineal constituye el modelo más general del sistema Gifi, todos los demás modelos (Análisis de Correspondencias Múltiples, Componentes Principales Categóricos) pueden verse como casos particulares de éste, ya que no impone límite al escalado de las variables ni al número de grupos de las estas. De ahí el acrónimo inglés OVERALS; la primera parte de dicho acrónimo (OVER) procede de la generalidad de la técnica; la segunda parte del acrónimo (ALS) hace referencias al acrónimo inglés formado con las siglas del algoritmo utilizado para su solución (*Alternating Least Squares*) que utiliza Mínimos Cuadrados Alternados.

Esta técnica se encuentra implementada en el programa estadístico SPSS 17 (SPSS Inc. Headquarters, 233 S. Wacker Drive, 11th floor. Chicago, Illinois, EE.UU.), formando parte del módulo “categorías” programado por el grupo de investigación DTSS (Data Theory Scaling System group perteneciente a la Universidad holandesa de Leiden), y que utiliza el escalamiento óptimo para analizar datos mixtos (difíciles o imposibles de analizar mediante los procedimientos estadísticos estándar). Para ello se sirve del algoritmo OVERALS, concebido por De LEEUW, 1973 (Canonical analysis of categorical data, Leiden, Psychological Institute).

5. RESULTADOS



5. RESULTADOS.

Se recogieron 317 variables para cada uno de los 205 pacientes incluidos en el estudio, por lo que en total se han analizado 64.985 datos.

5.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA.

5.1.1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.

En este estudio se han incluido 205 niños con sensibilización a las proteínas del huevo y/o proteínas de la leche de vaca. La media de edad al finalizar el estudio era de 6,61 años (DT= 4,01) (Figura 21). En el análisis de los diferentes ítems se proporcionarán los datos correspondientes a la edad. En cuanto al sexo predominó el masculino (67,3%).

Para el estudio genético se incluyeron 201 controles adultos, con una edad media de 46,74 años (DT=18,87) y con predominio del sexo femenino (62,2%).

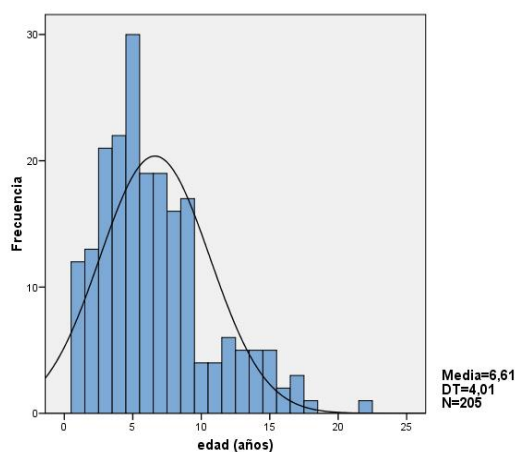


Figura 21: Histograma de edad de los casos.

La distribución del peso y la talla de los niños con sus correspondientes percentiles se muestran en la tabla siguiente:

Tabla 12: Percentiles de peso y talla de los pacientes.

	Percentil de peso	Percentil de talla
N	205	205
Media	52,31	54,96
Mediana	50	50
DT	19,87	18,19
Mínimo	3	3
Máximo	97	98
RI	0	4

El seguimiento medio de los pacientes fue de 4,86 años (DT=2,97) con una mediana de 4 años.

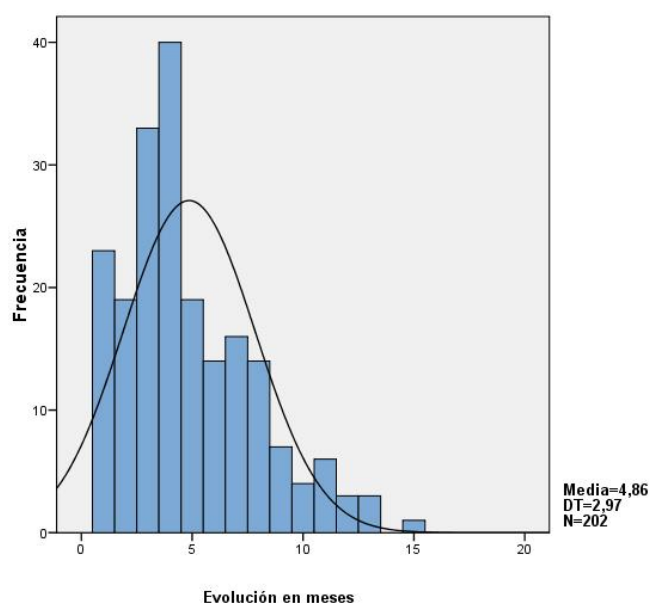


Figura 22: Tiempo de seguimiento en años desde la primera visita a la consulta de alergia.

5.1.2. ANTECEDENTES PERSONALES Y FAMILIARES DE INTERÉS.

Durante el periodo correspondiente al embarazo y el nacimiento los pacientes presentaron las siguientes incidencias:

Tabla 13: Incidencias durante el embarazo y nacimiento.

	N	Porcentaje
Embarazo patológico	27	13,2
Parto por cesárea/distócico	80	39
Nacimiento prematuro	15	7,3
Sufrimiento fetal	12	5,9
Distrés respiratorio	16	7,8
Precisó ventilación	10	4,9
Ácido fólico en embarazo	165	86,4

En las tablas 14 y 15, se muestran los antecedentes personales más importantes de los casos de la muestra y que fueron recogidos en la primera visita; como puede comprobarse los más frecuentes fueron los antecedentes de bronquiolitis y bronquitis espásticas, seguidas de las infecciones con sibilancias y de infecciones de tipo otorrinolaringológico.

Ciento setenta y un pacientes (83,4%) recibieron lactancia materna, de los cuales, 75 (39,9 %) la recibieron durante menos de 4 meses, y 96 (51,1%) durante más de 4 meses. La lactancia materna fue exclusiva en 141 de los casos (82%) y mixta en 31 pacientes (18%). Treinta y cuatro de los pacientes (28,1%) recibieron el denominado “biberón pirata” durante la lactancia materna. De ellos, en 30 (88,3%) fue aislado y en 4 (11,7%) fue por periodos de duración variable.

Tabla 14: Antecedentes personales de los pacientes.

	N	Porcentaje
Bronquiolitis y/o bronquitis espásticas	108	52,9
Infecciones con sibilancias	90	43,9
Otitis	62	30,5
Amigdalitis	42	20,7
Sinusitis	4	2
Infecciones graves	22	10,8
Gastrointestinales	4	18,2
Víricas	1	4,5
Sepsis neonatal	5	22,7
Respiratorias	9	40,9
Genitourinaria	3	13,6
Retraso estatura-ponderal	27	13,2

Tabla 15: Antecedentes de enfermedades alérgicas.

	N	Porcentaje
Asma episódica ocasional	10	4,9
Asma episódica frecuente	3	1,5
Conjuntivitis	21	5,1
Rinitis leve intermitente	22	10,7
Rinitis leve persistente	1	0,5
Urticaria y/o angioedema agudos	61	29,8
Urticaria y/o angioedema crónicos	1	0,5
Dermatitis atópica	175	85,4
Alergia a medicamentos	0	0
Sensibilización a los pólenes	30	14,6
Sensibilización a los ácaros	15	7,3
Sensibilización a los epitelios	20	9,8
Sensibilización a los hongos	8	3,9
Sensibilización a la cucaracha	1	0,5
Sensibilización al látex	1	0,5
Sensibilización al Anisakis	0	0

En la mayoría de los pacientes la introducción de los alimentos se realizó según las recomendaciones de su pediatra; los datos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 16: Momento de la introducción de la los distintos alimentos (en meses de edad).

	N	Mínimo	Máximo	Media	DT
Cereales	200	3	10	4,34	0,89
Fruta	200	3	9	4,67	1,03
Verduras	199	4	12	6,03	1,03
Carne	195	6	12	7,34	1,07
Pescado	194	6	24	8,99	1,86
Legumbres	193	8	15	10,30	1,20
Huevo	140	8	25	11,99	2,53

El 100% de los pacientes recibió todas las vacunaciones de acuerdo con el calendario vacunal oficial.

Ciento ochenta y cuatro pacientes (89,8%) referían algún antecedente de atopía, tanto de primer grado como de segundo (Figura 23). En este sentido, 69 padres (varones) (33,8%) presentaban antecedentes de atopía y 12 (5,9%), alergia a algún alimento (entre ellos, el 50% a la fruta, el 16,7% a los frutos secos). Ochenta y tres madres (40,7%) presentaban antecedentes de atopía y 10 (4,9%), alergia a algún alimento (entre ellos, el 57,1% a la fruta, el 28,6% a los frutos secos). La media de hermanos atópicos fue de 1,34 (DT= 0,64) y 115 de los pacientes (59,6%) refería algún familiar de segundo grado con antecedentes de atopía.

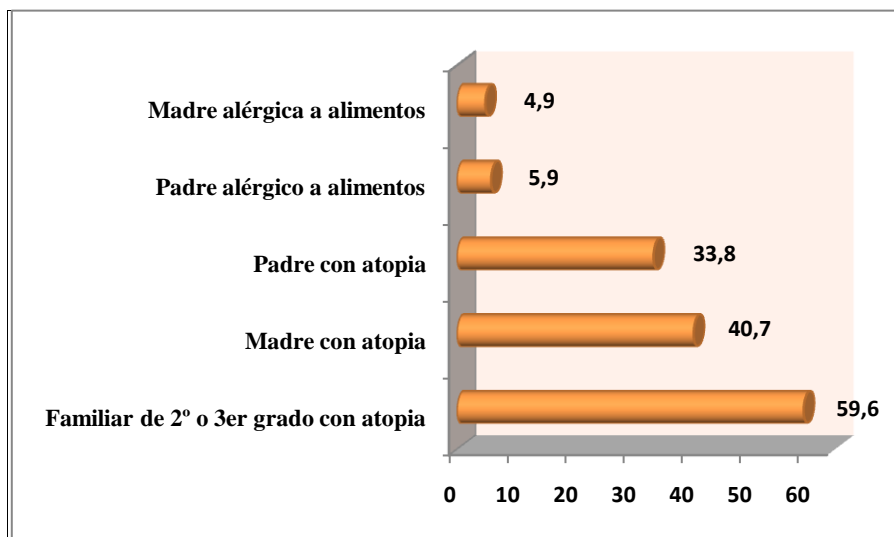


Figura 23: Porcentaje de familiares atópicos y con alergia alimentaria.

Durante el embarazo habían fumado 31 madres (15,7%) mientras que 51 (25,6%) fumaban en el momento de realización del estudio. De los padres de los pacientes, 90 (45,2%) fumaban en el momento de la realización del estudio. Ciento ocho (54,4%) de los pacientes vivían en un ambiente tabáquico (uno de los dos padres fumadores).

Habían acudido a la guardería 113 pacientes (57,7%) a una edad media de 15,89 meses (DT=7,07) y durante una media de 19,9 meses (DT=7,43).

5.1.3. FACTORES AMBIENTALES.

Los niños procedían de diferentes lugares de Salamanca y provincia, aunque como queda reflejado en esta figura la mayoría residían en la capital:

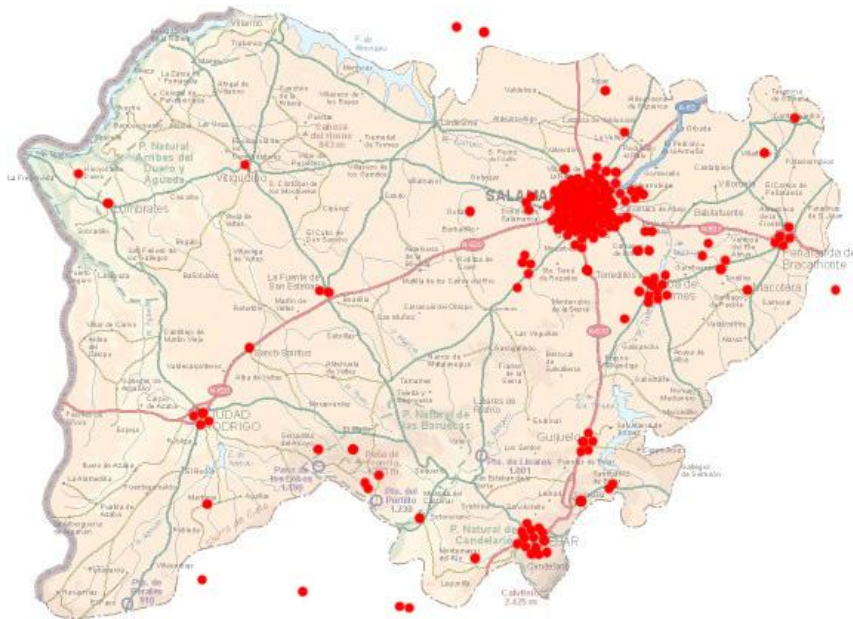


Figura 24: Procedencia geográfica de los casos de la muestra (punto rojo).

En cuanto a los factores ambientales de interés se recogieron las siguientes variables:

Tabla 17: Factores ambientales de interés.

	N	Porcentaje
Humedad en casa	32	15,8
Contacto con animales de compañía o mascota	35	17,2
Contacto con animales de granja	2	1
Ambiente urbano	143	70,4
Ambiente rural	60	29,6

5.1.4. MANIFESTACIONES CLÍNICAS EN LOS NIÑOS CON SENSIBILIZACIÓN A LAS PROTEÍNAS LÁCTEAS DE ORIGEN BOVINO.

Ochenta y dos pacientes (40% de la muestra) presentaban sensibilización a las proteínas de la leche de vaca. La edad media de estos pacientes al finalizar el estudio fue de 6,65 años (DT=3,91) y se apreció un claro predominio del sexo masculino (65,9%). De los pacientes con SPLOB, 50 (61%) presentaron algún tipo de sintomatología. De éstos, en 42 (84%) la reacción sucedió aparentemente con la primera toma. De los 8 que habían tolerado previamente la leche (16%), el tiempo medio de tolerancia había sido de 10,88 meses (DT= 16,78). La duración media de la reacción fue aproximadamente de 26,25 minutos (DT=10,72) y la edad media a la que apareció la reacción fue de 6,08 meses (DT=8,9).

Las manifestaciones clínicas principales de los pacientes que presentaron sintomatología fueron las siguientes:

Tabla 18: Manifestaciones clínicas en pacientes con SPLOB.

	N	Porcentaje
Rechazo	24	48
Síndrome oral	33	66
Urticaria	30	60
Angioedema	17	34
Rinitis	0	0
Conjuntivitis	0	0
Afectación de vías respiratorias superiores	1	2
Afectación de vías respiratorias inferiores	1	2
Mareo o cansancio	0	0
Pérdida de conocimiento	0	0
Manifestaciones digestivas	25	50
Agravamiento de la dermatitis atópica	22	44
Riesgo vital	0	0

Las reacciones fueron, en general, leves. Destaca la clínica cutáneo-mucosa, consistente en síndrome oral, urticaria, agravamiento de la dermatitis atópica y angioedema, seguida de las manifestaciones digestivas y del rechazo del alimento. Únicamente requirieron tratamiento de la reacción 8 pacientes (16,7%), en 4 de los cuales se administró en urgencias, en 2 de ellos (4,2%) la asistencia fue domiciliaria y en otros 2 combinada, tanto en urgencias como domiciliaria. Todos los pacientes recibieron tratamiento con antihistamínicos, 7 de ellos (87,5%) con un corticoide oral o intramuscular y 2 (12,5%) con un agonista β -2 adrenérgico inhalado. Ninguno recibió adrenalina.

5.1.5. MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LOS NIÑOS CON SENSIBILIZACIÓN A LAS PROTEÍNAS DEL HUEVO.

Ciento noventa y un pacientes (92,2% de la muestra) presentaban sensibilización a las proteínas del huevo. La edad media de estos pacientes al finalizar nuestro estudio fue de 6,51 años (DT 4,02) y predominó el sexo masculino (66,5%). De los pacientes sensibilizados al huevo, 93 (48,7%) presentaron manifestaciones clínicas, y la edad media de presentación de las mismas fue de 15,07 meses (DT=12,57). En 55 pacientes (59,1%) la reacción aparentemente sucedió durante la primera toma del alimento. Treinta y ocho pacientes (40,9%) que habían tolerado previamente el huevo presentaron la reacción a una media de edad de 8,11 meses (DT= 16,13). La duración media de la reacción fue de 43,06 minutos (DT=50,91).

Las manifestaciones clínicas que acompañaron a la reacción se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 19: Manifestaciones clínicas en pacientes con sensibilización a las proteínas del huevo.

	N	Porcentaje
Clínica de rechazo	25	26,9
Síndrome oral	53	57
Urticaria	52	55,9
Angioedema	28	30,1
Rinitis	3	3,2
Conjuntivitis	4	4,3
Afectación de las vías respiratorias superiores	10	10,8
Afectación de las vías respiratorias inferiores	6	6,5
Mareo o cansancio	2	2,2
Pérdida de conocimiento	0	0
Manifestaciones digestivas	30	32,3
Agravamiento de la dermatitis atópica	35	37,6
Riesgo vital	4	4,3

En este caso, las manifestaciones clínicas fueron algo más intensas que en caso de los niños con SPLOB. Así, 21 pacientes (23,3%) requirieron tratamiento de la reacción, 12 de ellos en el servicio de urgencias (13,3%), 7 en su domicilio (7,8%) y 2 (2,2%) tanto en urgencias como en su domicilio. Veinte de ellos (95,2 %) recibieron tratamiento con antihistamínicos, 14 (66,7%) precisaron corticoide oral o intramuscular, 2 (9,5%) agonista β -2 adrenérgico inhalado y otros 2 (9,5%) adrenalina.

5.1.6. TRATAMIENTOS PREVIOS RECOGIDOS EN LA PRIMERA VISITA.

En la anamnesis de la primera visita se recogieron los tratamientos que los pacientes estaban recibiendo o habían recibido.

En relación con sus patologías, ciento sesenta y cinco pacientes habían recibido tratamiento domiciliario de modo habitual, principalmente con antihistamínicos

(83,1%), corticoides tópicos (56,6%) y agonistas β -2 adrenérgico inhalados (56%) y, en menor porcentaje, con antileucotrienos (33,7%), corticoides inhalados (28,9%). Cabe destacar que un 14,5% había recibido corticoides orales en algún momento de su vida. Por su parte, treinta y cinco niños (17,2%) recibían o habían recibido en algún momento inmunoterapia (pólenes el 61,8%, ácaros el 23,5%, hongos el 8,8% y el resto con distintas combinaciones de los anteriores).

5.1.7. EVALUACIÓN ALERGOLÓGICA DE LOS PACIENTES CON SPLOB EN LA PRIMERA VISITA.

La edad media de los pacientes con sensibilidad a proteínas de la leche fue de 1,47 años (DT=2,15) en el momento de la primera visita. El resultado de las pruebas intraepidérmicas con PLOB de los pacientes se detalla en la figura 25; 56 pacientes (68,3%) presentaban sensibilización a más de un alérgeno.

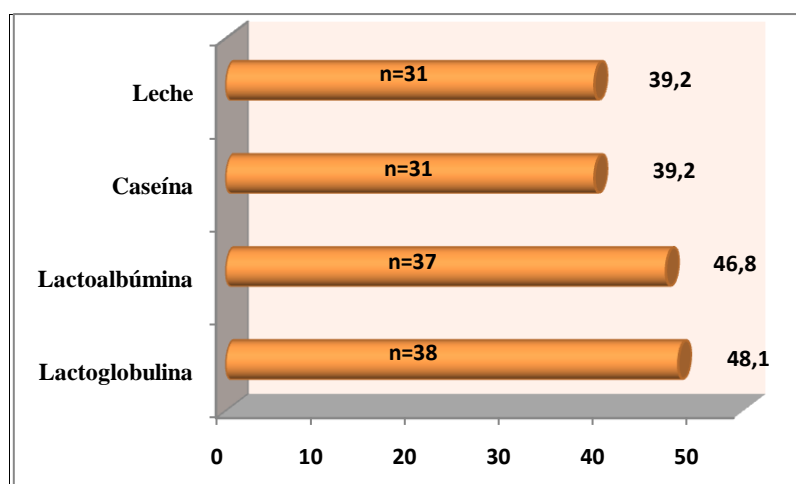


Figura 25: Porcentaje de pruebas intraepidérmicas positivas en los pacientes con SPLOB en la primera visita.

Los resultados del estudio *in vitro* de los pacientes que acudieron por primera vez a la consulta se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 20: Resultados de las IgE a PLOB en la primera visita en kU/L.

	IgE Total	IgE leche	IgE ALA	IgE BLG	IgE caseína
N	81	70	59	59	60
Sensibilización (%)		87,1	62,7	61	60
Media	522,08	3,11	1,82	2,01	2,39
Mediana	107	1,35	0,68	0,77	0,66
DT	1432,85	4,48	3,04	3,10	4,01
Mínimo	2	0	0	0	0
Máximo	9970	24,90	15,70	16	18,80
Percentil					
25	24,85	0,62	0,08	0,35	0,35
50	107	1,35	0,68	0,77	0,66
75	252	4,27	1,88	2,47	2,90

5.1.8. EVALUACIÓN DE LOS PACIENTES CON SENSIBILIZACIÓN A LAS PROTEÍNAS DEL HUEVO EN LA PRIMERA VISITA.

La edad media de los pacientes con sensibilidad a las proteínas del huevo fue de 1,6 años (DT= 2,27) en la primera visita. El resultado de las pruebas intraepidérmicas de los pacientes se refleja en la figura 26; 147 pacientes (77%) presentaban sensibilización a más de un alérgeno.

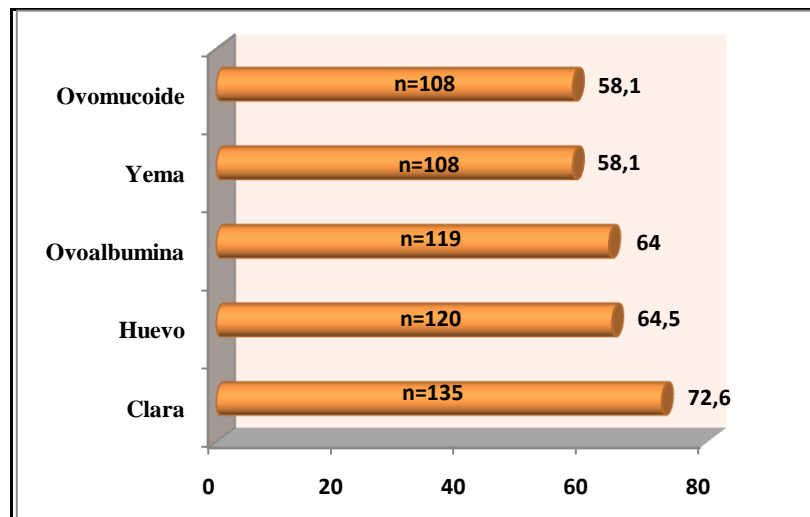


Figura 26: Porcentaje de pruebas intraepidérmicas positivas en los pacientes sensibilizados a las proteínas del huevo.

El estudio *in vitro* de los pacientes que acudieron por primera vez a la consulta se detalla en la siguiente tabla, donde se especifican los valores de IgE total e IgE específica frente a las proteínas del huevo.

Tabla 21: Resultados de las IgE frente a las proteínas del huevo en la primera visita en kU/L.

	IgE Total	IgE huevo	IgE clara	IgE yema	IgE OVA	IgE OVM	IgE CON
N	189	124	97	124	31	33	20
% sensibilización		84,7	85,6	44,4	87,1	63,6	60
Media	354,05	6,14	7,04	1,64	8,87	6,01	1,62
Mediana	78,80	1,01	2,03	0,35	3,73	1,09	0,44
DT	1055,29	16,36	11,97	6,13	14,36	11,19	2,39
Mínimo	2	0	0	0	0	0	0
Máximo	9970	100	62,70	58,10	63	53	9,89
Percentil							
25	31,65	0,56	0,61	0	0,63	0,22	0,28
50	78,80	1,01	2,03	0,35	3,73	1,09	0,44
75	194	3,79	7,31	0,79	8,88	5,72	1,97

5.1.9 EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES CON SENSIBILIZACIÓN A LAS PLOB Y A LAS PROTEÍNAS DEL HVEVO.

De los pacientes con SPLOB, 18 (22%) toleraban la leche en el momento de la primera visita. De los que aún no habían tolerado a 39 se les realizó la prueba de provocación oral con leche. Solo 2 de las provocaciones orales resultaron positivas. Un paciente presentó manifestaciones cutáneas y el otro cutáneas, respiratorias y digestivas.

Del resto de los pacientes con sensibilización a las proteínas de la leche, 55 (67,1%) toleraron el alimento antes de los 3 años inclusive, mientras que 5 lo toleraron a partir de los 4 años (Figura 27). Veintidós (26,8%) de los pacientes no habían tolerado aún las PLOB en el momento de la finalización del estudio, siendo la mediana de edad de dichos pacientes de 3 años (RI=2,25-8,5) y la media de 5,35 años (DT= 4,05).

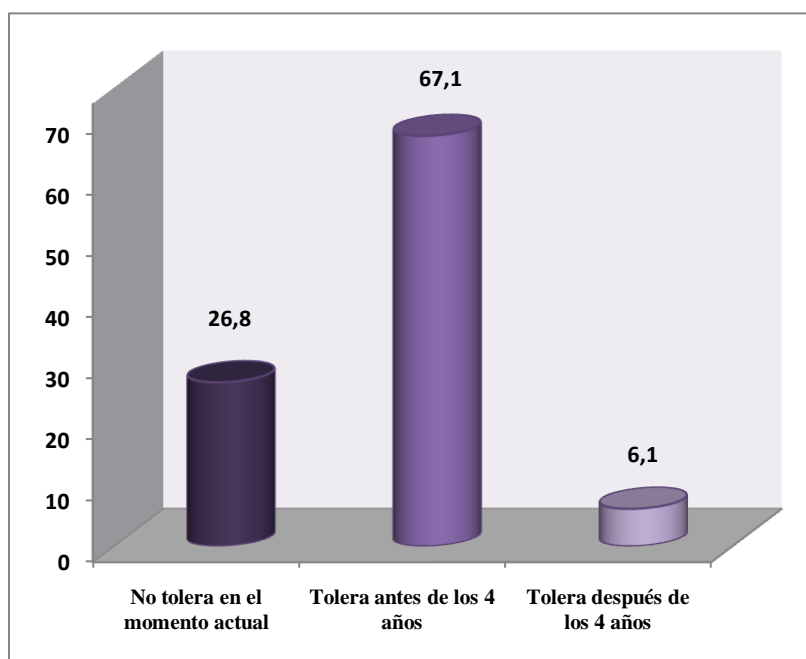


Figura 27: Porcentajes de tolerancia en pacientes con SPLOB antes y después de los 4 años.

De los 191 pacientes con sensibilización a las proteínas del huevo, 12 (6,3%) toleraba el alimento en el momento de la primera visita. A lo largo de la evolución se realizó la prueba de provocación oral con huevo a 111 pacientes (62%), resultando la provocación positiva en 11 (9,9%). Todos los pacientes con provocación positiva presentaron manifestaciones cutáneas, 1 (9,1%) presentó manifestaciones respiratorias, 2 (18,2%) manifestaciones digestivas y otros 2 agravamiento de su dermatitis atópica.

De los pacientes con sensibilización a las proteínas del huevo, 100 (52,4%) toleraron el alimento antes de los 3 años de edad, mientras que 24 (12,6%) lo toleraron después de esa edad (Figura 28). Sesenta y siete pacientes (35,1%) no toleraban el huevo en el momento de la finalización del estudio, siendo la mediana de edad de dichos pacientes de 5 años (RI=3-8) y la media de 5,64 años (DT=4,05).

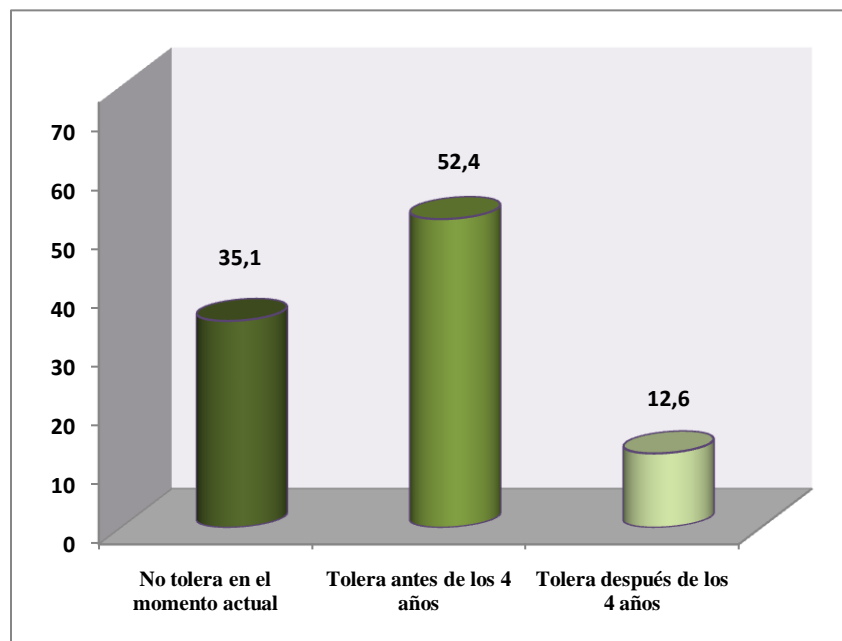


Figura 28: Porcentajes de tolerancia en pacientes con sensibilización a las proteínas del huevo antes y después de los 4 años.

5.1.10 EVALUACIÓN ALÉRGICA TRAS ALCANZAR LA TOLERANCIA EN LOS PACIENTES CON SPLOB.

Durante el seguimiento, una vez alcanzada la tolerancia a las PLOB se realizó una nueva evaluación alérgica, con estudio *in vivo* e *in vitro*.

El resultado de las pruebas intraepidérmicas y el estudio *in vitro* de los pacientes con sensibilización a las proteínas de la leche una vez habían tolerado el alimento se describen en las siguientes tablas:

Tabla 22: Resultados de las pruebas cutáneas frente a las PLOB en tolerancia.

PC positivas	N	Porcentaje
Leche	5	11,1
Lactoalbúmina	7	15,6
Lactoglobulina	3	6,7
Caseína	4	8,9

Tabla 23: Resultados de las IgE frente a las PLOB en tolerancia en kU/L.

	IgE Total	IgE leche	IgE ALA	IgE BLG	IgE caseína
N	44	32	23	22	22
% sensibilización		59,4	39,1	45,5	31,8
Media	484,59	0,61	0,40	0,40	0,43
Mediana	149,5	0,46	0,35	0,35	0,35
DT	961,61	0,59	0,40	0,31	0,69
Mínimo	9,56	0	0	0	0
Máximo	5000	1,99	1,51	1,45	3,19
Percentil 25	54,57	0,08	0	0,25	0
50	149,5	0,46	0,35	0,35	0,35
75	485,5	1	0,63	0,51	0,49

5.1.11 EVALUACIÓN ALÉRGICA TRAS LA TOLERANCIA EN LOS PACIENTES CON SENSIBILIZACIÓN A LAS PROTEÍNAS DEL HUEVO.

El estudio mediante pruebas intraepidérmicas y el estudio *in vitro* de los pacientes con sensibilización a proteínas del huevo una vez habían tolerado el alimento se describen en las siguientes tablas:

Tabla 24: Resultados de las pruebas cutáneas frente a las PLOB en tolerancia.

PC positivas	N	Porcentaje
Huevo	30	28,6
Clara	38	36,2
Yema	29	27,6
Ovoalbúmina	34	32,4
Ovomucoide	30	28,6

Tabla 25: Resultados de las IgE frente a las proteínas del huevo en tolerancia en kU/L.

	IgE Total	IgE huevo	IgE clara	IgE yema	IgE OVA	IgE OVM	IgE CON
N	103	73	72	63	40	44	36
% sensibilización		45,2	54,2	15,9	57,5	40,9	30,6
Media	354,96	0,78	0,83	0,24	1,06	0,71	0,46
Mediana	126	0,35	0,40	0,12	0,42	0,33	0,18
DT	704,59	1,48	1,38	0,37	1,95	1,46	0,85
Mínimo	0,80	0	0	0	0	0	0
Máximo	5000	10,20	8,94	1,99	10,40	8,34	3,85
Percentil 25	46	0,10	0,09	0	0,19	0,05	0,03
50	126	0,35	0,40	0,12	0,42	0,33	0,18
75	296	0,86	1,06	0,35	1,21	0,69	0,51

5.1.12 SEGUIMIENTO EVOLUTIVO DE LOS PACIENTES CON SPLOB.

Cuando se realizó el seguimiento evolutivo, de los pacientes con sensibilización a las proteínas de la leche de vaca, 27 (33,3%) desarrollaron posteriormente conjuntivitis a una edad media de 6,19 años (DT=2,93) según los criterios del documento ARIA¹⁸² (*Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma*). Treinta y un pacientes (38,3%) desarrollaron rinitis a lo largo de la evolución a una edad media de 6,13 años (DT=2,84). De éstos, en 24 (29,6%) fue intermitente leve, en 3 (3,7%) persistente leve, en 1 (1,2%) intermitente moderada-grave y en 3 (3,7%) persistente moderada-grave según los mismos criterios (Figura 29).

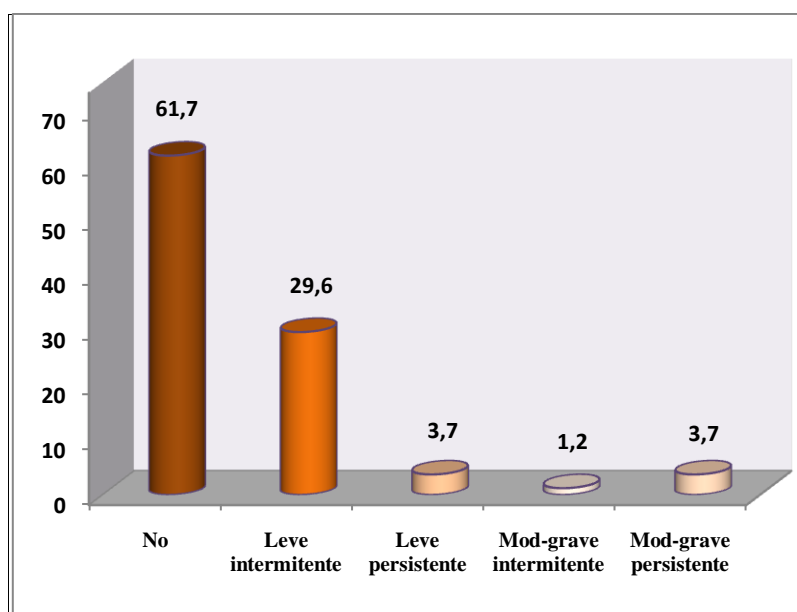


Figura 29. Porcentajes de desarrollo de rinitis a lo largo del seguimiento de los pacientes con SPLOB.

Cuarenta pacientes (49,4%) desarrollaron asma durante el seguimiento, a una edad media de 4,55 años (DT= 2,69), de los cuales en 25 (30,9%) fue episódica ocasional, en 11 (13,6%) episódica frecuente y en 4 (4,9%) persistente moderada

(Figura 30), según la clasificación del Consenso de 2004 de la Sociedad de Neumología Pediátrica y de Alergia e Inmunología Pediátrica¹⁸⁹.

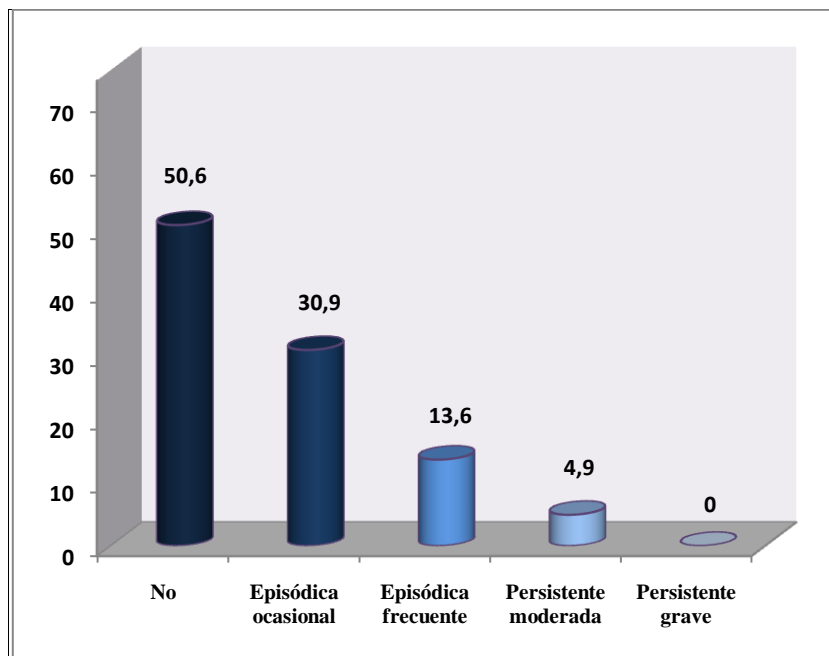


Figura 30. Porcentaje de desarrollo de asma a lo largo del seguimiento de los pacientes con SPLOB.

Veinticuatro (29,3%) pacientes desarrollaron urticaria y/o angioedema (Tabla 26) a una edad media de 3,21 años (DT=2,46). De los 64 pacientes que inicialmente presentaban dermatitis atópica (78%), en 25 de ellos (39%) desapareció a lo largo del seguimiento evolutivo, mientras que ninguno de los que no la presentaba en la primera visita la desarrolló después.

Tabla 26: Porcentaje de desarrollo de enfermedades alérgicas en la evolución en pacientes con SPLOB.

	N	Porcentaje	Edad media (años)	DT edad
Conjuntivitis	27	33,3	6,19	2,93
Rinitis	31	38,3	6,13	2,84
Asma	40	49,4	4,55	2,69
Urticaria/Angioedema	24	29,6	3,21	2,46
Dermatitis atópica	38	46,9	0,46	0,75

En cuanto a las sensibilizaciones posteriores, 49 niños (59,7%) desarrollaron sensibilización a algún aeroalérgeno (Tabla 27), predominantemente a los pólenes (50%) a una edad media de 4,4 años (DT=2,35), a los ácaros (33,8%) a una edad media de 3,67 años (DT=2,13), a los hongos (22,5%) a una edad media de 5,06 años (DT=2,31), a los epitelios (31,3%) a una edad media de 4,64 años (DT=2,84) y a los hongos (22,5%) a una edad media de 5,06 años (DT=2,31).

Tabla 27: Porcentaje de desarrollo de sensibilizaciones posteriores en la evolución en pacientes con SPLOB.

	N	Porcentaje	Edad media (años)	DT edad
S*. Pólenes	40	50	4,4	2,35
S. Ácaros	27	33,8	3,67	2,13
S. Hongos	18	22,5	5,06	2,31
S. Epitelios	25	31,3	4,64	2,84
S. Pescados	17	21,3	2,65	1,61
S. Mariscos	6	7,5	6,17	2,48
S. Legumbres	8	10	3,75	1,98
S. Frutas	9	11,3	3	1,5
S. Frutos secos	19	23,8	4,16	2,5
S. Cereales	10	12,5	3,8	2,15

*S= sensibilización.

Treinta y dos pacientes (39%) desarrollaron sensibilización a algún trofoalérgeno (Tabla 27), de los cuales el 23,8% lo hizo frente a frutos secos, a una edad media de 4,16 años (DT=2,5), el 21,3% a pescados, a una edad media de 2,65 años (DT=1,61), el 12,5% a cereales, a una edad media de 3,8 años (DT=2,15), el 11,3% a frutas, a una edad media de 3 años (DT=1,5), el 10% a legumbres, a una edad media de 3,75 años (DT=1,98) y el 7,5% a mariscos, a una edad media de 6,17 años (DT= 2,48).

En cuanto al número de pacientes que presentaron durante la evolución sensibilización a aeroalérgenos, trofoalérgenos y alérgenos en general (la suma de trofoalérgenos y aeroalérgenos), presentamos los resultados en la siguiente tabla:

Tabla 28: Número y porcentaje (entre paréntesis) de pacientes con sensibilizaciones a aeroalérgenos y trofoalérgenos durante la evolución.

Nº de alérgenos	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sensibilización a aeroalérgenos	33 (40)	17 (21)	13 (16)	9 (11)	10 (12)	-	-	-	-	-	-
Sensibilización a trofoalérgenos	50 (61)	13 (16)	9 (11)	5 (6)	2 (2)	3 (4)	0	-	-	-	-
Sensibilización a alérgenos en general	23 (28)	18 (22)	10 (12)	14 (17)	5 (6)	4 (5)	3 (4)	2 (2)	0	3 (4)	0

Presentaron mala evolución según criterios de atopia, es decir, teniendo en cuenta las sensibilizaciones posteriores a aeroalérgenos y/o el desarrollo de asma, rinitis o conjuntivitis, 56 (68,3%) de los pacientes con sensibilización a las proteínas de la leche de vaca.

5.1.13 SEGUIMIENTO EVOLUTIVO DE LOS PACIENTES CON SENSIBILIZACIÓN A LAS PROTEÍNAS DEL HUEVO.

Durante el seguimiento evolutivo, de los pacientes con sensibilización a las proteínas del huevo, 82 (43,6%) desarrollaron posteriormente conjuntivitis a una edad media de 5,10 años (DT=2,31). Ochenta y nueve pacientes (47,3%) desarrollaron rinitis a lo largo de la evolución, a una edad media de 5,17 años (DT=2,35), de los cuales en 69 de los casos (36,7%) fue intermitente leve, en 9 (4,8%) persistente leve, en 7 (3,7%) intermitente moderada-grave y en 4 (2,1%) persistente moderada-grave (Figura 31).

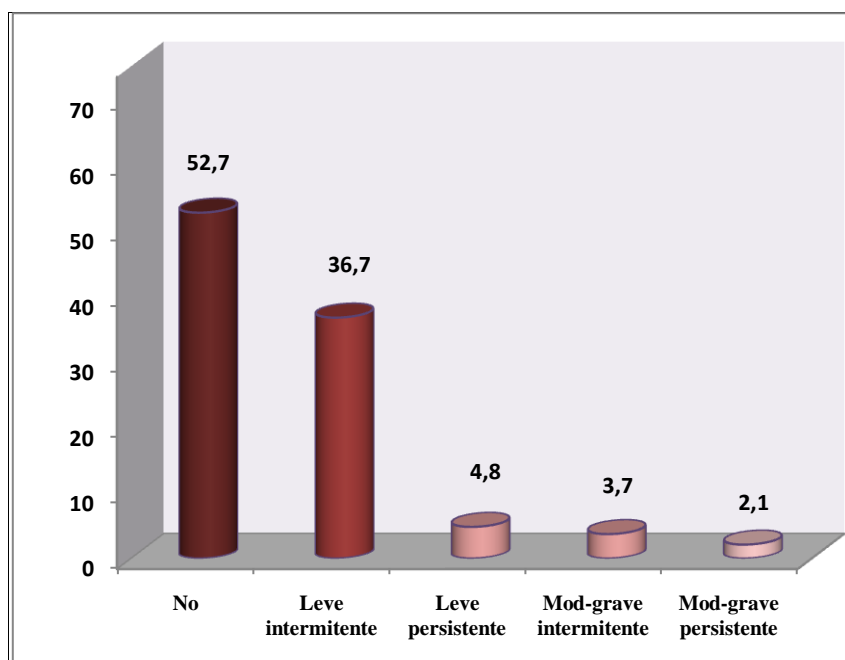


Figura 31. Porcentajes de desarrollo de rinitis en la evolución de los pacientes con sensibilización a las proteínas del huevo.

En la evolución posterior, 95 pacientes (50,5%) habían desarrollado asma a una edad media de 4,23 años (DT= 2,14), de los cuales en 58 (30,9%) fue episódica ocasional, en 25 (13,3%) episódica frecuente y en 12 (6,4%) persistente moderada (Figura 32).

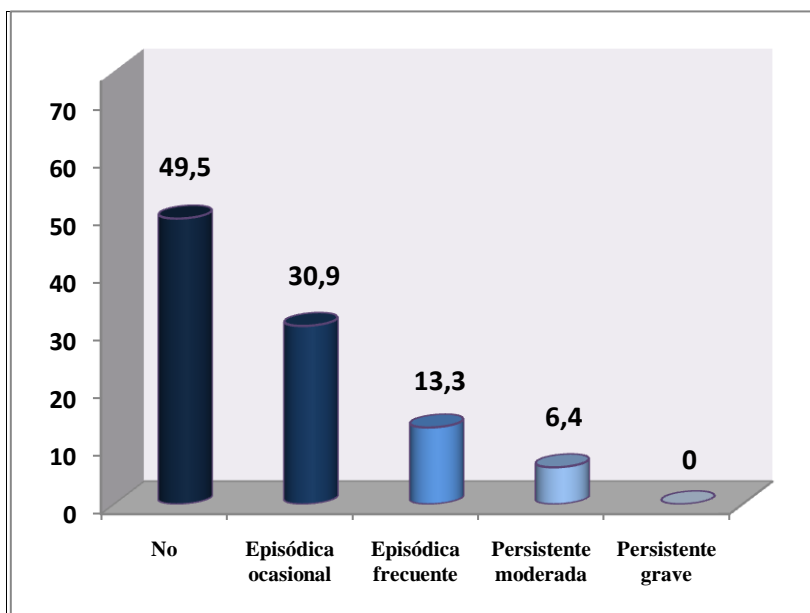


Figura 32. Porcentaje de desarrollo de asma en la evolución de los pacientes con sensibilización a las proteínas del huevo.

Cuarenta y ocho pacientes (25,5%) desarrollaron urticaria y/o angioedema (Tabla 29) a una edad media de 3,06 años (DT=2,47). De los 167 pacientes que presentaban dermatitis atópica al inicio (87%), en 61 (36%) desapareció a lo largo del seguimiento evolutivo, y solo un paciente de los que no la presentaba la desarrolló después (4%).

Tabla 29: Porcentaje de desarrollo de enfermedades alérgicas en la evolución en pacientes con sensibilización a las proteínas del huevo.

	N	Porcentaje	Edad media (años)	DT edad
Conjuntivitis	82	43,6	5,1	2,31
Rinitis	89	47,3	5,17	2,35
Asma	95	50,5	4,23	2,14
Urticaria/Angioedema	48	25,5	3,06	2,47
Dermatitis atópica	107	56,9	0,5	0,63

Los pacientes en los que desapareció la dermatitis atópica a lo largo de la evolución toleraron mejor el huevo en comparación con los que mantuvieron la dermatitis atópica.

En cuanto a las sensibilizaciones posteriores (Tabla 30), 127 pacientes (66,4%) desarrollaron sensibilización a algún aeroalérgeno, predominantemente a los pólenes (55,6%), a una edad media de 4,21 años (DT=2), a los ácaros (35,8%), a una edad media de 4,33 años (DT=2,62), a los hongos (26,2%), a una edad media de 5,33 años (DT=2,62), a los epitelios (36,4%) a una edad media de 4,71 años (DT=2,73) y a los hongos (26,2%) a una edad media de 5,37 años (DT=2,4).

Tabla 30: Porcentaje de desarrollo de sensibilizaciones posteriores en la evolución en pacientes con sensibilización a las proteínas del huevo.

	N	Porcentaje	Edad media (años)	DT edad
S. pólenes	104	55,6	4,21	2
S. Ácaros	67	35,8	4,33	2,62
S. Hongos	49	26,2	5,37	2,40
S. Epitelios	68	36,4	4,71	2,73
S. Pescados	36	19,3	2,64	2,50
S. Mariscos	19	10,2	4,37	3,02
S. Legumbres	22	11,8	3,91	2,75
S. Frutas	26	14	3,81	2,60
S. Frutos secos	50	26,7	4,04	2,35
S. Cereales	22	11,8	3,95	2,69

Desarrollaron sensibilización a algún trofoalérgeno 86 pacientes (45%), de los cuales, el 26,7% lo hizo a frutos secos, a una edad media de 4,04 años (DT=2,35), el 19,3% a los pescados a una edad media de 2,64 años (DT=2,50), el 14% a las frutas, a una edad media de 3,81 años (DT=2,60), el 11,8% a las legumbres, a una edad media de 3,91 años (DT=2,75) el 11,8% a los cereales, a una edad media de 3,95 años (DT=2,69) y el 10,2% a los mariscos a una edad media de 4,37 años (DT=3,02).

En cuanto al número de pacientes que presentaron durante la evolución sensibilización a aeroalérgenos, trofoalérgenos y alérgenos en general (la suma de trofoalérgenos y aeroalérgenos), presentamos los resultados en la siguiente tabla:

Tabla 31: Número y porcentaje (entre paréntesis) de pacientes con sensibilizaciones a aeroalérgenos y trofoalérgenos durante la evolución.

Nº de alérgenos	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sensibilización a aeroalérgenos	64 (33)	40 (21)	34 (18)	32 (17)	21 (11)	-	-	-	-	-	-
Sensibilización a trofoalérgenos	105 (55)	39 (20)	26 (14)	9 (5)	5 (3)	5 (3)	2 (1)	-	-	-	-
Sensibilización a alérgenos en general	43 (22)	38 (20)	30 (16)	31 (16)	16 (8)	17 (9)	5 (3)	2 (1)	3 (2)	5 (3)	1 (0,5)

Teniendo en cuenta las sensibilizaciones a aeroalérgenos, el desarrollo de asma, rinitis o conjuntivitis, 144 pacientes (75,4%) con sensibilización a las proteínas del huevo presentaron mala evolución según criterios de atopía.

5.1.14 ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LOS GRUPOS: SENSIBILIZACIÓN EXCLUSIVA A LAS PROTEÍNAS DE LA LECHE Y SENSIBILIZACIÓN EXCLUSIVA A LAS PROTEÍNAS DEL HUEVO.

Catorce pacientes (6,8%) presentaron sensibilización exclusivamente a las proteínas de la leche. La media de edad de la reacción fue de 4 meses (DT=1,82) y la media de edad al finalizar el estudio fue de 8,07 años (DT=3,77). El 78,6% eran varones.

El subgrupo de pacientes con sensibilización exclusivamente a proteínas del huevo estaba compuesto por 123 pacientes (60%). La edad media de la reacción fue de 13 meses (DT=7,45) y tenían una media de edad de 6,59 años (DT=4,09) al finalizar el estudio. El porcentaje de sexo masculino fue del 68,3%.

La distribución en cuanto a edad y sexo resultó homogénea en ambos grupos ($p = 0,11$ y $p = 0,55$ respectivamente).

El resto de pacientes que no pertenecían a estos grupos presentaban sensibilización a las proteínas de la leche y del huevo ($n=68$) y representaban el 33,2%. La edad media fue de 6,35 años (DT=3,90) al finalizar el estudio y el 63,2% eran varones. Este grupo presentaba una distribución homogénea en cuanto a edad y sexo en comparación con los grupos anteriores.

5.2. ESTUDIO DE COMPARACIÓN DE VARIABLES.

A continuación se comentarán los resultados que se han obtenido tras el análisis de las asociaciones entre las diferentes variables estudiadas en la muestra poblacional. Se han realizado estudios de asociación entre las variables, correspondientes a los antecedentes personales, familiares y socio-ambientales, así como la sensibilización y tolerancia de los alimentos objeto del estudio y los datos de los valores de las pruebas tanto *in vivo* como *in vitro* a dichos alimentos, con variables de mala evolución como son las sensibilizaciones posteriores a lo largo del seguimiento evolutivo, desarrollo de enfermedades atópicas, tolerancia tardía de los alimentos, entre otras. Dada la extensa cantidad de variables y el gran número de datos obtenidos se ha optado por mencionar solamente aquellos que hayan sido estadísticamente significativos.

5.2.1. ANTECEDENTES PERSONALES Y FAMILIARES.

Los pacientes nacidos de parto por cesárea presentaban pruebas intraepidérmicas positivas frente a la leche en la primera visita a nuestra consulta de alergia con una frecuencia que duplicaba a la de los nacidos por vía vaginal (25% frente a 12%) ($p = 0,052$). El análisis multivariante ajustado por edad y sexo confirmó esta asociación ($p = 0,038$; OR = 2,28; IC 95%: 1,045-4,97).

Los pacientes que presentaban antecedentes de bronquiolitis y/o bronquitis espásticas desarrollaron rinitis ($p = 0,023$) y conjuntivitis ($p = 0,015$) con una frecuencia significativamente superior. Estos pacientes también presentaron con mayor frecuencia

asma en la primera visita ($p = 0,003$), así como asma a lo largo de la evolución ($p < 0,001$) y mala evolución según criterios de atopia ($p = 0,002$). Así mismo, se observó una tendencia a presentar un mayor porcentaje de sensibilización a aeroalérgenos ($p = 0,052$).

La confirmación de los datos mediante el análisis de regresión logística ajustado por edad y sexo, así como la OR y el IC 95% se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 32. Resultados obtenidos mediante el análisis de regresión logística en relación a la bronquiolitis y/o bronquitis.

BRONQUIOLITIS Y/O BRONQUITIS	p	OR	IC 95%
Rinitis	0,017	1,99	1,13-3,51
Conjuntivitis	0,012	2,07	1,17-3,68
Asma en la primera visita	0,019	11,87	1,51-93,13
Asma en evolución	<0,001	4,28	2,36-7,74
Mala evolución (atopia)	0,002	2,81	1,47-5,36
Sensibilización a aeroalérgenos	0,045	1,83	1,01-3,30

Los pacientes que habían recibido un “biberón pirata” presentaron con mayor frecuencia una prueba intraepidérmica positiva a la leche. Se observó una tendencia de asociación en los pacientes que habían tomado biberón pirata a presentar pruebas cutáneas intraepidérmicas positivas a leche en todas las visitas en relación con los pacientes que no lo tomaron, con un resultado estadísticamente significativo incluso una vez que habían tolerado el alimento ($p = 0,016$), resultado que fue confirmado mediante regresión ajustada por edad y sexo ($p = 0,024$; OR = 13,71; IC 95%: 1,42-132,8).

5.2.2. ANTECEDENTES EN RELACIÓN CON EL AMBIENTE.

Los pacientes cuyas madres habían fumado durante el embarazo desarrollaron mayor porcentaje de sensibilización posterior a pólenes ($p = 0,005$), desarrollaron mas asma en el seguimiento evolutivo ($p = 0,005$) y con presentaron mala evolución según criterios de atopia ($p = 0,016$). Los datos de la confirmación de estos resultados mediante el análisis de regresión logística ajustado por sexo y edad se detallan en la tabla 33, así como las OR y los IC 95%.

Tabla 33. Resultados obtenidos mediante el análisis de regresión logística en relación con el consumo de tabaco durante el embarazo.

TABACO DURANTE EL EMBARAZO	p	OR	IC 95%
Sensibilización a pólenes	0,007	3,45	1,40-8,48
Asma en evolución	0,005	3,46	1,45-8,24
Mala evolución (atopia)	0,025	4,10	1,19-14,11

El que hubiera ambiente tabáquico en el domicilio, es decir, que fumara alguno de los dos progenitores, se relacionó con que el paciente desarrollara asma en la evolución ($p = 0,033$), dato que se confirmó mediante el análisis multivariante ($p = 0,031$; OR = 1,87; IC 95% 1,06-3,31).

Los niños que habían acudido a la guardería presentaron mayor porcentaje de asma en la primera visita ($p = 0,031$), así como sensibilización a los ácaros tanto en la primera visita ($p = 0,003$) como a lo largo del seguimiento evolutivo ($p = 0,004$). La confirmación de los datos mediante el análisis de regresión logística ajustado por edad y sexo, así como la OR y el IC 95% se detallan en la tabla 34.

Tabla 34. Resultados obtenidos mediante el análisis de regresión logística en relación con la asistencia a la guardería.

ASISTENCIA A GUARDERÍA	p	OR	IC 95%
Asma en primera visita	0,008	1,10	1,02-1,18
Sensibilización a ácaros en primera visita	0,006	6,20	1,69-22,73
Sensibilización a ácaros en evolución	0,003	2,49	1,35-4,60

Los niños que crecieron en un domicilio con humedad desarrollaron más sensibilizaciones posteriores a ácaros del polvo ($p = 0,021$) y a esporas de hongos ($p = 0,002$), datos que fueron confirmados mediante regresión binaria ajustada por edad y sexo ($p = 0,019$; OR = 2,57; IC 95%: 1,17-5,65 y $p = 0,017$; OR = 2,82; IC 95%: 1,20-6,60 respectivamente).

5.2.3 INGESTA DE ÁCIDO FÓLICO DURANTE EL EMBARAZO.

El que la madre hubiera tomado ácido fólico durante el embarazo se relacionó con menor frecuencia de rinoconjuntivitis en la descendencia. El 40,9% de las madres que tomaron ácido fólico en el embarazo tuvieron hijos que desarrollaron posteriormente rinitis, mientras que de las madres que no lo tomaron, desarrollaron rinitis en un 84% ($p < 0,001$). El 76% de las madres que no lo tomaron en comparación con el 37,8% de las que lo tomaron desarrollaron conjuntivitis ($p < 0,001$). El análisis multivariante de regresión logística binaria ajustado por sexo confirmó ambas asociaciones ($p < 0,001$; OR = 7,60; IC 95%: 2,50-23,15 y $p = 0,001$; OR = 5,21; IC 95%: 1,97-13,75 respectivamente).

El 64% de las madres que no tomaron ácido fólico durante el embarazo tuvieron hijos que desarrollaron asma alérgica, mientras que sólo desarrollaron este asma el 36,6% de los hijos de las madres que lo habían tomado ($p = 0,009$). El análisis multivariante de regresión logística binaria ajustado por sexo confirmó esta asociación ($p = 0,012$; OR = 3,08; IC 95%: 1,28–7,40).

El 92% de los hijos de las madres que no habían tomado ácido fólico durante el embarazo desarrollaron sensibilización a algún aeroalérgeno, mientras que esta sensibilización la desarrolló solo el 61,3% de los hijos de las madres que tomaron el ácido fólico ($p = 0,003$). El análisis multivariante de regresión logística binaria ajustado por sexo confirmó esta asociación ($p = 0,009$; OR = 7,24; IC 95% 1,65-31,80).

El 56% de los hijos de las madres que no habían tomado ácido fólico durante el embarazo desarrollaron sensibilización a los ácaros del polvo, mientras que esta sensibilización la desarrolló solo el 30,7% de los hijos de las madres que si tomaron el ácido fólico ($p = 0,013$). El análisis multivariante de regresión logística binaria ajustado por sexo confirmó esta asociación ($p = 0,016$; OR = 2,88; IC 95%: 1,22-6,77) y el FPRP asumiendo 0.1= 22% y asumiendo 0.25= 8%.

El 52% de los hijos de las madres que no habían tomado ácido fólico durante el embarazo desarrollaron sensibilización a las esporas de hongos, mientras que esta sensibilización la desarrolló solo el 22,7% de los hijos de las madres que si tomaron el ácido fólico ($p = 0,002$). El análisis multivariante de regresión logística binaria confirmó ajustado por sexo esta asociación ($p = 0,003$; OR = 3,69; IC 95%: 1,55-8,77).

El 68% de los hijos de las madres que no habían tomado ácido fólico durante el embarazo desarrollaron sensibilización a los epitelios de animales, mientras que esta sensibilización la desarrolló solo el 31,3% de los hijos de las madres que si tomaron el

ácido fólico ($p < 0,001$). El análisis multivariante de regresión logística binaria ajustado por sexo confirmó esta asociación ($p = 0,001$; OR = 4,66; IC 95%: 1,89-11,51).

El 30,8% de los pacientes cuyas madres no tomaron ácido fólico durante el embarazo presentaban valores de IgE total en la primera visita positivos (superiores a 100 kU/L), mientras que el 63,8% de los hijos cuyas madres si lo tomaron presentaban en todas las visitas de la evolución valores negativos (inferiores a 100 kU/L) ($p = 0,001$). El análisis multivariante de regresión logística binaria ajustado por sexo confirmó esta asociación ($p = 0,002$; OR = 3,96, IC 95%: 1,62-9,68).

El 15,4% de los pacientes de las madre que no tomaron ácido fólico durante el embarazo presentaban en algún momento de su evolución valores de IgE total positivos (superiores a 100 kU/L), mientras que el 39,4% de los hijos de las madres que si lo tomaron no presentaron en ningún momento de su evolución valores positivos ($p = 0,018$). El análisis multivariante de regresión logística binaria ajustado por sexo confirmó esta asociación ($p = 0,025$; OR = 3,57; IC 95%: 1,18-10,85).

Todos los análisis multivariantes que se realizaron estudiando el parámetro de ácido fólico fueron ajustados por sexo. Es importante destacar que al ajustar también por edad, dadas las diferencias etarias, se perdía la asociación de todos los parámetros menos de la rinitis alérgica.

Con el resto de variables analizadas con el ácido fólico no se obtuvieron resultados estadísticamente significativos.

5.2.4. SENSIBILIZACIÓN A LA LECHE Y AL HUEVO Y POSTERIOR DESARROLLO DE SENSIBILIZACIONES Y PATOLOGÍA ALÉRGICA.

Los niños con sensibilización a las proteínas del huevo presentaron un mayor porcentaje de sensibilización posterior a pólenes: el 97% de los que estaban sensibilizados a huevo desarrolló sensibilización posterior a pólenes, y solo el 3% de los que no estaban sensibilizados al huevo desarrolló sensibilización posterior a pólenes ($p = 0,012$). El análisis de regresión logística binaria confirmó esta asociación ($p = 0,003$; OR = 10,67; IC 95%: 2,29-49,66).

Cuando se compararon los pacientes que presentaban sensibilización exclusivamente al huevo y los que presentaban sensibilización exclusiva a las proteínas de la leche también se observó que el 96% de los que estaban sensibilizados exclusivamente al huevo se sensibilizaron a pólenes, en comparación con el 4% que desarrolló sensibilización a pólenes de los que estaban sensibilizados exclusivamente a las proteínas de la leche ($p = 0,022$). La regresión binaria ajustada confirmó esta asociación ($p = 0,005$; OR = 9,20 IC 95%: 1,98-42,77).

Para comprobar el peso de ambas sensibilizaciones, dividimos a los pacientes en tres grupos, los que estaban sensibilizados solo a las proteínas de la leche, solo sensibilizados a la proteínas del huevo, y un tercer grupo que estaba sensibilizado a ambos alimentos, y obteníamos que los que estaban sensibilizados solo a huevo desarrollaban mayor sensibilización posterior a pólenes (63%) en comparación con los sensibilizados exclusivamente a leche (3%) o a ambos alimentos (34%). De esta manera comprobamos que el grupo mixto, es decir, el de los pacientes sensibilizados a ambos alimentos, se comportaba de forma parecida al grupo de los sensibilizados exclusivamente al huevo en todos los análisis que realizamos, y dada la dificultad para

redactar dichos resultados optamos de ahora en adelante por no incluir en nuestros resultados los del grupo mixto.

Los pacientes que estaban sensibilizados al huevo desarrollaron mayor porcentaje de sensibilización posterior a algún aeroalérgeno (96%) en comparación con los que estaban sensibilizados a la leche (4%) ($p = 0,02$). El análisis de regresión logística ajustado por edad y sexo confirmó dichos resultados ($p = 0,001$; OR = 13,34; IC 95%: 2,70-65,88). Los que estaban sensibilizados exclusivamente al huevo también desarrollaron mayor sensibilización posterior a algún aeroalérgeno (94%) que los que estaban sensibilizados exclusivamente a la leche (6%) ($p = 0,019$). El análisis multivariante ajustado confirmó estos resultados ($p = 0,002$; OR = 11,34; IC 95%: 2,38-54).

Los pacientes sensibilizados al huevo experimentaron peor evolución según criterios de atopia que los sensibilizados a la leche ($p = 0,003$). El análisis ajustado confirmó esta asociación ($p < 0,001$; OR = 23,51; IC 95%: 4,27-129,33). Los pacientes que estaban sensibilizados exclusivamente a las proteínas del huevo experimentaron mala evolución según criterios de atopia en mayor medida que los que estaban sensibilizados exclusivamente a la leche ($p = 0,002$). El análisis ajustado confirmó de nuevo esta asociación ($p < 0,001$; OR = 19,78; IC 95%: 3,73-104,93).

Los pacientes sensibilizados al huevo desarrollaban más asma a lo largo del seguimiento evolutivo que los sensibilizados a la leche ($p = 0,048$). El análisis de regresión ajustado por edad y sexo confirmó esta asociación ($p = 0,023$; OR = 6,18; IC 95%: 1,29-29,60). Los que estaban sensibilizados exclusivamente al huevo desarrollaban asma en mayor porcentaje (41%) que los que estaban sensibilizados

exclusivamente a la leche (14%), aunque en este caso no era estadísticamente significativa, se aprecia una clara tendencia en dicha asociación.

Los pacientes sensibilizados al huevo desarrollaron mas dermatitis atópica en el seguimiento evolutivo que los sensibilizados a leche ($p = 0,004$). El análisis multivariante ajustado por edad y sexo confirmó este dato ($p = 0,008$; OR = 7,93; IC 95%: 1,73-36,40). Los que estaban sensibilizados exclusivamente a las proteínas del huevo también desarrollaron mayor porcentaje de dermatitis atópica que los que estaban sensibilizados exclusivamente a las proteínas de la leche ($p = 0,003$), dato que también se confirmó mediante la regresión binaria ajustada ($p = 0,006$; OR = 8,52; IC 95%: 1,83-39,74).

5.2.5. TOLERANCIA A LOS ALIMENTOS.

Cuando se clasificaron los niños según la edad a la que alcanzaron la tolerancia al huevo observamos que los que toleraban el alimento a una edad superior a los 3 años se sensibilizaban posteriormente a los ácaros del polvo en mayor porcentaje que los que lo habían tolerado antes de los tres años ($p = 0,002$). El análisis de regresión binaria ajustada por edad y sexo confirmó esta asociación ($p = 0,002$; OR: 2,48; IC 95%: 1,13-5,45).

Si los clasificábamos según la tolerancia al alimento en el momento de finalizar nuestro estudio observábamos que los que no lo toleraban se habían sensibilizado a los ácaros del polvo en un mayor porcentaje que los que ya lo toleraban ($p = 0,004$), dato

que se confirmó mediante el análisis multivariante ajustado ($p < 0,001$; OR = 4,52; IC 95%: 2,15-9,49).

5.2.6. ESTUDIO EN PACIENTES CON SEGUIMIENTO EVOLUTIVO SUPERIOR A 5 AÑOS.

Realizamos el mismo estudio pero solo con aquellos pacientes de los que teníamos una evolución superior a 5 años, y obtuvimos resultados similares. Los pacientes sensibilizados a las proteínas del huevo desarrollaban sensibilización posterior a pólenes ($p = 0,004$) y a algún aeroalérgeno ($p = 0,026$) en mayor medida que los que no estaban sensibilizados a huevo. El análisis de regresión logística binaria ajustado por edad y sexo confirmó ambos resultados ($p = 0,009$; OR = 7,17; IC 95%: 1,62-31,73 y $p = 0,017$; OR = 6,13; IC 95%: 1,38-27,13 respectivamente).

Obtuvimos resultados similares cuando analizamos a aquellos pacientes sensibilizados exclusivamente a las proteínas del huevo, que también desarrollaban mayor porcentaje de sensibilización posterior a pólenes ($p = 0,005$) y aeroalérgenos ($p = 0,019$) que los sensibilizados exclusivamente a la leche. Los datos también se confirmaron mediante regresión ajustada ($p = 0,005$; OR = 9,50; IC 95%: 1,95-46,20 y $p = 0,012$; OR = 8,40; IC 95%: 1,58-44,51 respectivamente).

También se observó que los pacientes sensibilizados al huevo desarrollaban mayor porcentaje de asma ($p = 0,024$), dermatitis atópica ($p = 0,013$) y peor evolución según criterios de atopia ($p < 0,001$) que los que no estaban sensibilizados al huevo, resultados confirmados mediante regresión ($p = 0,02$; OR = 7; IC 95%: 1,35-36,10;

$p = 0,031$; $OR = 10,35$; $IC\ 95\%: 1,23-86,81$ y $p < 0,001$; $OR = 23,12$; $IC\ 95\%: 4,42-121,08$ respectivamente).

Al analizar los pacientes sensibilizados exclusivamente al huevo obtuvimos que también desarrollaban mayor porcentaje de asma ($p = 0,064$), dermatitis atópica ($p = 0,012$) y peor evolución según criterios de atopia ($p = 0,001$) que los que no estaban sensibilizados al huevo, resultados confirmados mediante regresión ($p = 0,048$; $OR = 5,44$; $IC\ 95\%: 1,01-29,19$; $p = 0,027$; $OR = 11,37$; $IC\ 95\%: 1,31-98,59$ y $p = 0,001$; $OR = 27,5$; $IC\ 95\%: 3,98-190,04$ respectivamente). La confirmación de los datos mediante el análisis de regresión logística ajustado por edad y sexo, así como la OR y el $IC\ 95\%$ se detallan en la tabla 35.

Tabla 35. Resultados obtenidos mediante el análisis de regresión logística.

SENSIBILIZACIÓN EXCLUSIVA A LAS PROTEÍNAS DEL HUEVO	p	OR	IC 95%
Asma en evolución	0,048	5,44	1,01-29,19
Dermatitis atópica	0,027	11,37	1,31-98,59
Mala evolución (atopia)	0,001	27,5	3,98-190,04

5.2.7. ESTUDIO *IN VITRO*.

Se observó que los pacientes que toleraban la leche en el momento de finalizar nuestro estudio tenían una media de IgE específica frente a caseína de 0,758 kU/L ($DT=0,77$), mientras los que no la toleraban tenían una media de 6,914 kU/L ($DT=6,22$), con significación estadística ($p = 0,016$). Con el resto de las proteínas de la leche de vaca no se encontró ninguna asociación.

Como se ha comentado con el resto de variables analizadas en cada uno de los diferentes apartados no se encontraron resultados estadísticamente significativos.

5.3. ESTUDIO DE ASOCIACIÓN GENÉTICA.

5.3.1. LTC4S.

En el estudio del polimorfismo -444A>C no se ha encontrado asociación con la sensibilización a alimentos considerados globalmente; sin embargo se aprecia una asociación estadísticamente significativa en los pacientes sensibilizados al huevo. En concreto, el genotipo AC se observó con mayor frecuencia entre los pacientes sensibilizados al huevo (35%) que en los controles (32 %) ($p = 0,039$). Además, el 35% de los pacientes que presentaban sensibilización a las proteínas del huevo portaban el genotipo AC frente al 28% de los que no estaban sensibilizados al huevo. El análisis multivariante de regresión logística binaria ajustado por sexo y edad confirmó la asociación ($p = 0,044$), en concreto se observó un riesgo incrementado de estar sensibilizado al huevo en los pacientes con un genotipo AC (OR = 9,064; IC 95%: 1,06-77,72), como también se observó en el análisis de correlación canónica no lineal. Las frecuencias alélicas y genotípicas en relación a la sensibilización al huevo se muestran en la tabla 36.

Tabla 36: Frecuencias alélicas y genotípicas respecto a la sensibilización al huevo

SNP	FRECUENCIA ALÉLICA		FRECUENCIA GENOTÍPICA		
	A	C	Homocigoto normal	Heterocigoto	Homocigoto mutado
-441 LTC4 A>C					
CONTROLES	0,77	0,23	0,60	0,32	0,08
SH*	0,81	0,18	0,64	0,35	0,01
NSH**	0,78	0,22	0,64	0,28	0,08

* SH: Sensibilización al huevo (p = 0,044) (SHV vs Control).

**NSH: No sensibilización al huevo (p = 0,038) (SHV vs NSHV).

Curiosamente, al analizar el grupo de pacientes sensibilizados a la leche, se observó que el 58% de los pacientes que no toleraron la leche en el momento de finalizar el estudio presentaban genotipo AC frente a un 17% de los pacientes que presentaron tolerancia (p = 0,004). El análisis multivariante ajustado confirmó la asociación LTC (p = 0,007), en concreto del genotipo AC, que presentó un riesgo incrementado de no tolerar la leche (p = 0,002; OR = 6,87; IC 95%: 2,03-23,28).

Dicho genotipo también se asoció con una tolerancia tardía a la leche de vaca. Así, el 48% de los pacientes que no toleraron la leche antes de los 3 años presentaban el genotipo AC frente al 18% de los pacientes que la toleraron (p = 0,033). En este caso el análisis multivariante ajustado también confirmó dicha asociación con un riesgo cuatro veces superior (p = 0,018; OR = 4; IC 95%: 1,26-12,65). En la tabla 37 se muestran las frecuencias alélicas y genotípicas de los datos en relación a la tolerancia a la leche.

Tabla 37. Frecuencias alélicas y genotípicas respecto a la tolerancia a la leche.

SNP		FRECUENCIA ALÉLICA		FRECUENCIA GENOTÍPICA		
-441 LTC4 A>C		A	C	Homocigoto normal	Heterocigoto	Homocigoto mutado
Tolerancia actual a la leche	SI	0,84	0,16	0,75	0,17	0,08
	NO	0,66	0,34	0,37	0,58	0,05
Tolerancia precoz de la leche (≤3 años)	SI	0,81	0,19	0,72	0,18	0,10
	NO	0,72	0,28	0,48	0,48	0,04

5.3.2. *CYSLTR1*.

Debido a que el gen *CYSLTR1* se encuentra en cromosoma X, se calculan los resultados por separado para hombres y para mujeres.

El estudio del polimorfismo *CYSLT* T>C se observó una asociación estadísticamente significativa entre el genotipo TC y la sensibilización al huevo (47% pacientes frente a 24% controles) en el grupo de mujeres $p = 0,031$. Este resultado no se confirmó con el estudio de regresión.

En el grupo de varones se observó una asociación con la sensibilización a los ácaros. El alelo C se observó con una frecuencia del 21% en los controles frente al 9% de los pacientes sensibilizados a ácaros ($p = 0,032$). Además, los pacientes sensibilizados a los ácaros presentaron el alelo C en una proporción significativamente inferior a los pacientes no sensibilizados (28%) ($p = 0,007$). El análisis de regresión confirmó la asociación ($p = 0,022$; OR = 3,76; IC 95%: 1,21-11,75). En la tabla 38 se

muestran las frecuencias alélicas de los resultados con respecto a la sensibilización a los ácaros.

Tabla 38. Frecuencias alélicas en relación a la sensibilización a los ácaros.

SNP	FRECUENCIA ALÉLICA	
	T	C
927 CYSLTR1 T>C		
CONTROLES	0,79	0,21
SA*	0,91	0,09
NSA**	0,72	0,28

*SA Sensibilización a ácaros; p = 0,032 (SA vs Controles).

** NSA No sensibilización a Ácaros p = 0,022 (SA vs NSA).

En el estudio de asociación de los genes *LTC4S* y *CYSLTR1* se observó una asociación con la sensibilización al huevo en el grupo de mujeres (p = 0,007). La combinación AC (A *LTC4S* A>C; C *CYSLTR* T>C) se observó en el 29% de los pacientes sensibilizados a huevo respecto al 13% de los controles (p = 0,004; OR = 2,64; IC 95%: 1,34-5,20).

En este estudio se ha detectado, también en los varones, una asociación de los genes *LTC4S* y *CYSLTR1* con la sensibilización a ácaros (p = 0,005) en concreto la combinación AC se observó en el 24% de los pacientes que no presentaron sensibilización a ácaros frente al 6% de los que presentaron la sensibilización (p < 0,001; OR = 0,21; IC 95%: 0,08-0,56). Sin embargo, de forma interesante, la asociación AT se observó con mayor frecuencia en sensibilizados a ácaros (72%) frente a los no sensibilizados (53%) (p = 0,004; OR = 2,31; IC 95%: 1,29-4,15).

5.3.3. *PTGDR*.

En el estudio de los SNP de *PTGDR* se ha observado una asociación en los varones entre el SNP -197 y la sensibilización a alimentos. El 77,4% de los pacientes con genotipo TC estaban sensibilizados a alimentos mientras que el 22,6% son controles ($p = 0,046$). El estudio de regresión confirmó la asociación ($p = 0,045$). El riesgo de sensibilización a la leche y el huevo fue de 5,53 (IC 95%: 1,04-29,55).

Respecto al SNP -549, en los pacientes sensibilizados al huevo se observó una asociación entre el polimorfismo -549 T>C *PTGDR* y la evolución de la dermatitis atópica. Así, el genotipo TC se observó con una frecuencia del 69% en los pacientes en los que desapareció la dermatitis atópica a lo largo de la evolución frente a aquellos en los que persistió (41%) ($p = 0,004$). Tras ajustar mediante el análisis de regresión logística binaria se confirmó el carácter protector ($p = 0,003$) del genotipo TC (OR = 4,08; IC 95%: 1,61-10,34). Las frecuencias alélicas y genotípicas de la evolución de la DA en los pacientes sensibilizados al huevo se muestran en la tabla 39.

Tabla 39. Frecuencias alélicas y genotípicas en relación a la evolución de la DA.

SNP		FRECUENCIA ALÉLICA		FRECUENCIA GENOTÍPICA		
		C	T	Homocigoto normal	Heterocigoto	Homocigoto mutado
Evolución de DA en sensibilizados al huevo	PIERDEN DA	0,47	0,53	0,12	0,69	0,19
	MANTIENEN DA	0,50	0,49	0,30	0,42	0,29

En el estudio global de diplotipos, se observó una asociación entre la distribución global de los diplotipos y el desarrollo de sensibilización posterior a los

frutos secos ($p = 0,011$). En concreto, con el diplotipo CCCT CTCT (-613C>T, -549T>C, -444C>T, -197T>C), ya que cuando se comparó éste frente al resto de diplotipos se apreció una asociación con presentar sensibilización a los frutos secos de forma estadísticamente significativa ($p = 0,006$). El análisis de regresión ajustado confirmó esta asociación ($p = 0,004$; OR = 3,53; IC 95%: 1,50-8,32).

5.4 ANÁLISIS MULTIVARIANTE DE CORRELACIÓN CANÓNICA NO LINEAL.

Se ha realizado un Análisis Multivariante de Correlación Canónica No Lineal (OVERALS) con la finalidad de obtener información de las variables que puedan caracterizar, de un modo u otro, la población de pacientes con alergia a la leche y/o al huevo, y si fuere posible, de realizar una tipología de los pacientes a partir de la muestra extraída de los pacientes incluidos en el presente estudio.

Para ellos se ha partido de una matriz de datos generada a partir de las respuestas obtenidas con el cuestionario elaborado *ad hoc* (anexo 2), pero incluyendo también los datos experimentales obtenidos de los pacientes. En dicha matriz, las filas se corresponden con los individuos (conocidos como objetos y/o sujetos -GIFI, A. 1990-) y las columnas se corresponden con las variables consideradas. Inicialmente se disponía de información de más de 300 variables procedentes del estudio.

Los resultados que se mostrarán a continuación se corresponden con los 205 niños que cumplían los criterios de inclusión explicados en el apartado de material y

métodos. Las características de la muestra se describen en la parte descriptiva dentro del apartado de resultados.

Tras la generación de la matriz de datos, la primera aproximación consistió en seleccionar, desde el punto de vista clínico, las variables activas con mayor importancia diagnóstica, pronóstica y terapéutica en relación al objetivo del análisis multivariante planteado.

Otro paso de este proceso fue inspeccionar la matriz de datos y depurar *a priori* todas aquellas variables que, aunque valiosas desde el punto clínico y aún a efectos de estudio de este trabajo, desde el punto de visto estadístico tan sólo aportaban “ruido” al análisis multivariante. Así, por ejemplo, se optó por descartar todas aquellas variables en las que todos los pacientes presentaban básicamente la misma respuesta y que, por tanto, no servían a efectos de obtener una tipología de los individuos.

Otras variables consideradas en este trabajo para determinados objetivos puntuales, como por ejemplo el análisis de supervivencia, o de contrastes de hipótesis, pero que nada aportaban al objeto de este estudio, fueron igualmente excluidas del mismo. Además, se eliminaron del estudio aquellas variables que no tuviesen al menos 3 casos válidos (celdas ocupadas), por ser este un requerimiento del programa estadístico para poder llevar a cabo el análisis.

Otro frente de análisis fue la agrupación de variables de acuerdo con los requerimientos técnicos del Análisis de Correlación Canónica no lineal (éste supone las variables estructuradas en $K \geq 2$ grupos) y del programa informático (el programa SPSS en la versión con la cual se ha trabajado, sólo admite hasta un máximo de 9 agrupaciones de variables).

El proceso de selección, depuración y agrupación de las variables se realizó por etapas, con sus correspondientes análisis exploratorios. Dichos análisis exploratorios, además, sirvieron para realizar una categorización apropiada de variables, tanto nominales como ordinales, para la discretización de las variables numéricas cuando ello fue necesario e incluso la selección de las variables que aportaban una notable contribución a la diferenciación tipológica de nuestros pacientes alérgicos (a partir de las medidas de discriminación resultantes de dichos análisis), descartando aquellas que, a pesar de su interés clínico, carecían de interés analítico en relación al objetivo marcado.

Por tanto, el Análisis de Correlación Canónica no lineal se realizó con un total de 84 variables (estructuradas en 7 grupos) y medidas sobre 205 pacientes, tal y como se presenta en la siguiente tabla:

Tabla 40. Grupos (y variables por grupos) con los que se realizó el Análisis de Correlación Canónica no lineal (Ver tabla anexo 2).

GRUPO	TIPO	VARIABLES
1	ANTROPOMÉTRICAS	SLH3, EDAD, SEXO
2	GENÉTICAS	CYS, C613T, T549C, C441T, T197C, LTC
3	ANTECEDENTES PERSONALES	PARTO, NACIM, SUFETAL, DISTRESP, VENT, IQ, BRONQ, EI, IG, OTITIS, AMIGDAL, SINUSIT, ALIMAT, CREC, INFSIB, UAEAG, DA, POLEN, ACARO, EPIT, HONGO, HUEV, CONJ1, RIN1, ASMA1
4	ANTECEDENTES FAMILIARES	ATOPPADRE, ATOPMADRE, ALIMPADRE, ALIMADRE, HERMSINO, NUMATOPIC, OTROS, HUM, ANIM, VIV, TABEMB, AMBTAB
5	SENSIBILIZACIÓN	PL1, PLALB1, PLGL01, PCAS11, PROVL, PHUEVO1, PCLAR1, PYEM1, POVAL1, POVOM1, PROVH
6	EVOLUCIÓN	MECONJGRAV3, MERINGRAV3, EASMA, MEASMA2, EUAE, EDA, MESPOL, MESACAR, MESHONG, MESEPIT, SAEROAL, SPESC, SMAR, SLEG, SFRUVER, SFRUSEC, SCER, STROFOAL, MEATOPIA
7	TRATAMIENTO	RTTO, HAH1, HCORT, HCORO, HCI, HB2, HALT, HINTP

La solución del Análisis de Correlación Canónica no lineal se obtuvo con 3 dimensiones, que recogían un 26% de la variabilidad. De dicha solución se desprenden, tal y como se observa en la tabla siguiente, las variables y su contribución a las dimensiones:

Tabla 41. Saturación en Componentes.

Grupo		Dimensión			Grupo		Dimensión		
		1	2	3			1	2	3
1	SLH3	,219	-,521	-,188	5	PL1	,298	,186	-,099
	EDAD	,803	,180	-,139		PLALB1	,288	,160	-,115
	SEXO	-,086	,024	-,600		PLGL01	,303	,214	-,074
2	CYS	-,162	,000	,188		PCAS11	,213	,183	-,010
	C613T	,131	-,185	-,028		PROVL	-,060	,192	-,410
	T549C	,174	,094	-,096		PHUEVO1	,300	-,148	-,233
	C441T	-,184	,027	,015		PCLAR1	,228	-,122	-,142
	T197C	-,295	,099	,032		PYEM1	,215	-,093	-,237
	LTC	-,030	-,140	-,102		POVAL1	,195	,201	,113
3	PARTO	,337	-,178	,067		POVOM1	,258	,113	-,008
	NACIM	,094	,312	,007		PROVH	-,070	-,057	-,345
	SUFETAL	-,061	-,090	,324		MEATOPIA	-,284	,138	,084
	DISTRESP	,067	,018	,363		6	MECONJGRV3	,382	,182
	VENT	-,101	-,082	,261	MERINGRAV3		,219	,250	,097
	IQ	-,248	,164	-,039	EASMA		,151	-,135	,128
	BRONQ	-,391	,241	-,158	MEASMA2		-,316	,075	,013
	EI	-,058	,213	,285	EUAE		,150	,244	,247
	IG	-,070	-,071	,197	EDA		,083	,444	,006
	OTITIS	-,027	-,067	-,057	MESPOL		,493	,065	,145
	AMIGDAL	-,091	,054	,015	MESACAR		-,365	-,087	,237
	SINUSIT	-,086	-,216	-,147	MESHONG		,194	,150	,033
	ALIMAT	,138	,070	,158	MESEPIT		-,527	-,026	-,071
	CREC	,020	,086	,017	SAEROAL		,439	,143	,173
	INFSIB	-,355	,212	-,032	SPESC		-,011	,166	,182
	UAEAG	,001	,074	,437	SMAR		,077	,090	-,053
	DA	-,124	,304	-,193	SLEG	-,044	,220	,083	
	POLEN	-,626	-,117	-,064	SFRUVER	,029	,027	,144	
	ACARO	-,525	-,213	,202	SFRUSEC	-,302	,123	-,085	
	EPIT	-,531	-,149	,024	SCER	-,097	,197	,065	
HONGO	-,208	-,221	-,034	STROFOAL	,062	,181	,103		
HUEV	,398	-,007	,014	7	RTTO	,069	-,213	,560	
CONJ1	,290	,177	,216		HAH1	-,486	-,010	,170	
RIN1	,543	,415	,179		HCORT	,100	,359	-,157	
ASMA1	,460	,015	,062		HCORO	-,105	,450	,106	
4	ATOPPADRE	-,009	,021		-,290	HCI	-,341	-,066	,009
	ATOPMADRE	,025	,386		-,034	HB2	-,467	-,033	-,032
	ALIMPADRE	,009	-,125		-,196	HALT	-,448	,277	-,001
	ALIMADRE	-,066	,258	,111	HINTP	,565	,120	,168	
	HERMSINO	-,424	,165	-,252					
	NUMATOPIC	,135	-,432	,025					
	OTROS	,036	,239	,147					
	HUM	-,203	-,296	,309					
	ANIM	-,088	-,161	,040					
	VIV	,019	-,104	-,013					
TABEMB	-,470	,323	,162						
AMBTAB	-,216	-,111	,289						

A partir de esta tabla se evalúa cuáles son las variables con mayor peso en la construcción de la solución factorial. En primer lugar se observa que los 7 grupos de variables, en mayor o menor medida, presentan variables con una contribución reseñable, en al menos una de las dimensiones de la solución, si bien es la primera dimensión la que recoge saturaciones en mayor número, lógicamente. Se debe señalar que, aún después de la selección de variables realizada siguiendo los criterios señalados, hay muchas variables cuya contribución a la solución final es más bien desdeñable.

Las variables EDAD, T549C, C441T, T197C, POLEN, ACARO, EPIT, TABEMB, MESPOL, MESACAR, MESHONG, MESEPIT, SAEROAL, HCI, HB2, HALT, HINTP (entre otras), detalladas en el anexo 2, son ‘variables de la primera dimensión’, pues presentan su mayor saturación en esta dimensión, y serán, por tanto, las que tendrán mayor influencia en la discriminación en relación a la primera dimensión encontrada en el análisis.

En cuanto a la segunda dimensión, es necesario indicar que fueron consideradas ‘variables de la 2ª dimensión’ SLH3, BRONQ, SINUSIT, NUMATOPIC, OTROS, HUM, ANIM, VIV, EDA, HCORT, HCORO, por citar algunas.

Y en lo relativo a la 3ª dimensión, las variables que presentaban altas saturaciones en la misma fueron SEXO, SUFETAL, DISTRESP, VENT, EI, IG, PROVL y RTTO, por ejemplo.

El resto de las variables presentaban una importancia compartida en distinta medida sobre las tres dimensiones obtenidas (es el caso de CYS o HUM), o bien, como se señaló anteriormente, la contribución a cualquiera de las tres dimensiones fue muy pequeña (en el caso, por ejemplo, de OTITIS y AMIGDAL).

Este resultado puede analizarse de forma gráfica, en relación a los planos factoriales configurados por las tres dimensiones, en las siguientes figuras (33 y 34) en la que se representan las variables consignadas en la tabla anterior, a través de sus factores de carga.

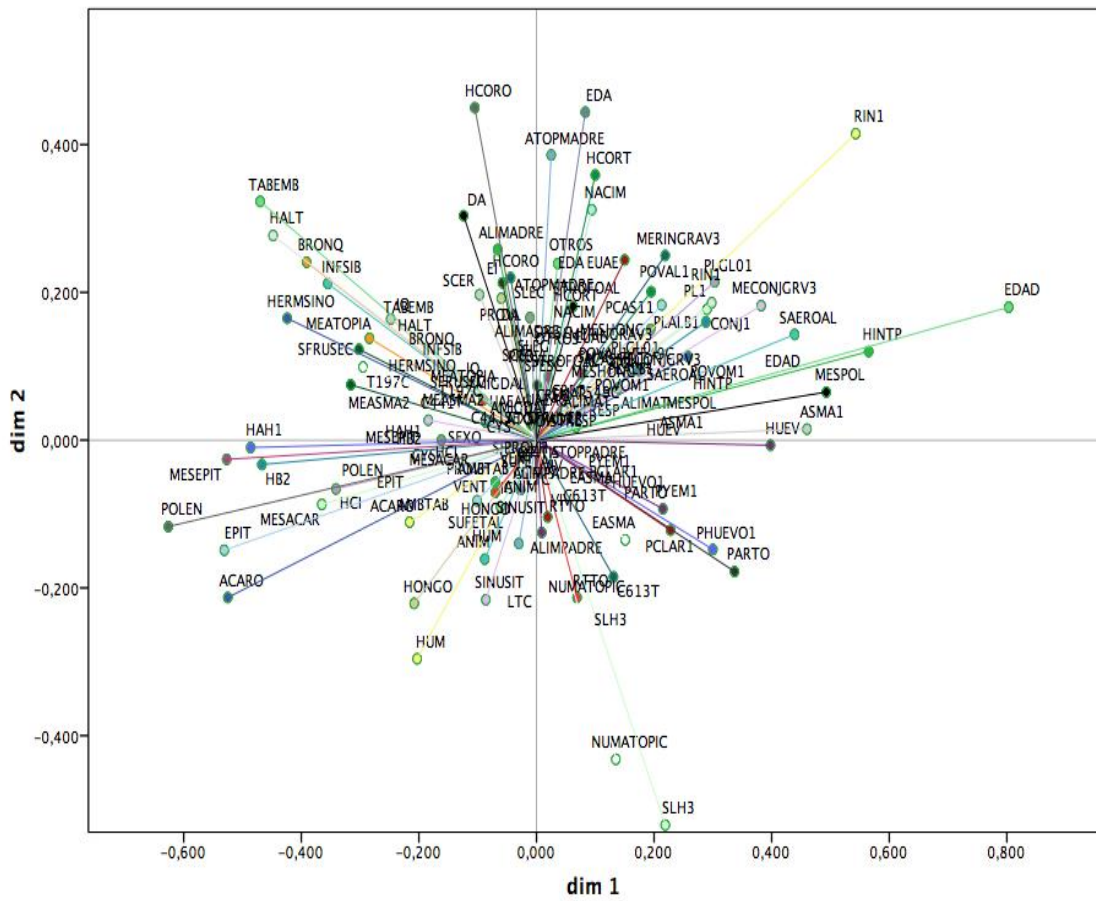


Figura 33. Representación de la saturación de las variables del estudio en el plano factorial determinado por las dos primeras componentes de la solución.

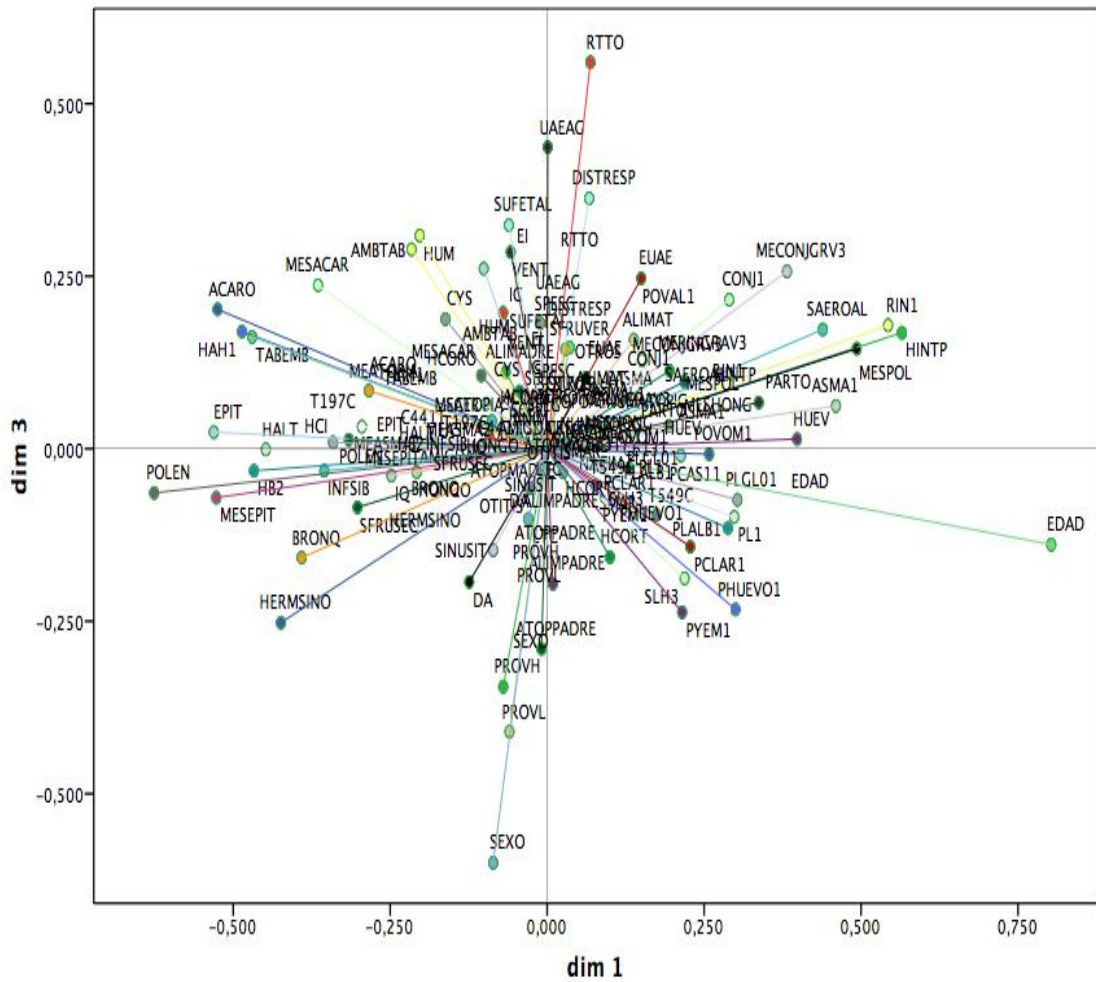


Figura 34. Representación de la saturación de las variables del estudio en el plano factorial determinado por las componentes 1-3 de la solución.

En cuanto a los resultados para los individuos concretos, la representación de los 205 pacientes en el primer plano factorial de dimensión reducida, configurado por las dos primeras dimensiones obtenidas en el análisis de correlación canónica no lineal, queda tal y como se muestra en la siguiente figura.

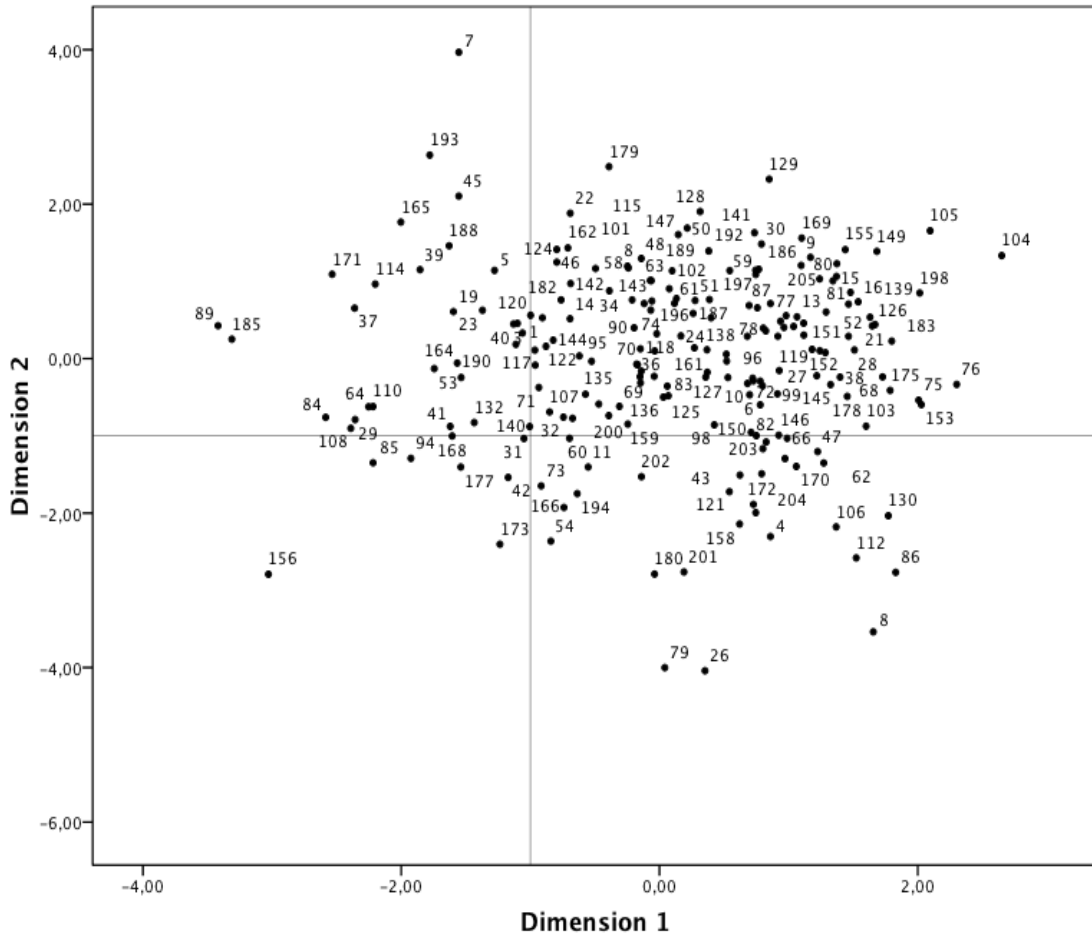


Figura 35. Plano factorial resultante del OVERALS y posicionamiento en él de los 205 pacientes (aparecen identificados por el número de caso).

La siguiente figura recoge el primer plano factorial con los individuos señalizados con la sensibilización alimentaria que presentaban:

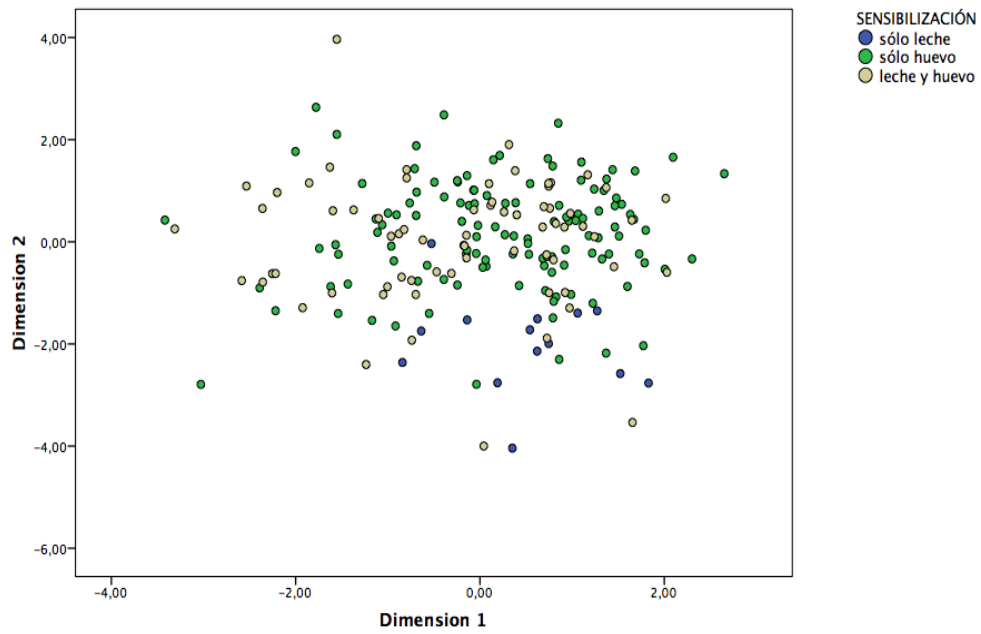


Figura 36. Diagrama de dispersión del primer plano factorial de la solución OVERALS.

La siguiente figura se corresponde con el plano factorial configurado por la primera y tercera dimensión de nuestra solución.

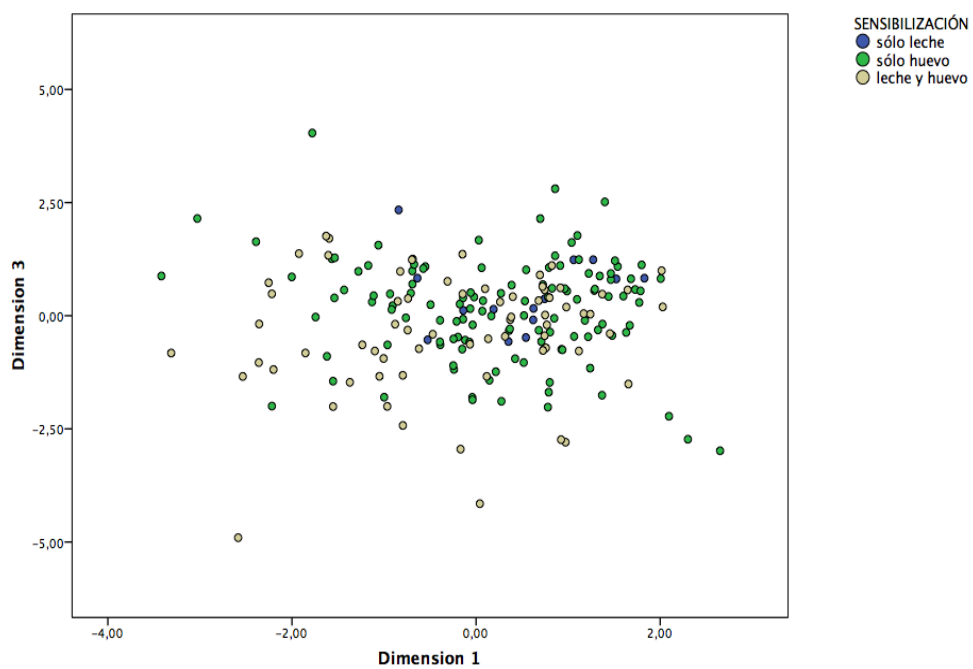


Figura 37. Diagrama de dispersión del segundo plano factorial de la solución OVERALS.

Con la intención de determinar de algún modo la tipología de los pacientes, a partir de las puntuaciones conseguidas en las 3 dimensiones de la solución OVERALS obtenida, se realizó un análisis de conglomerados de K-medias, con la intención de determinar diferencias entre grupos a partir de la información proporcionada por las variables involucradas en el análisis. En este estudio se obtienen 3 conglomerados con la siguiente información:

Tabla 42. Número de casos en cada uno de los 3 conglomerados.

CONGLOMERADO	1	59
	2	33
	3	113
TOTAL		250

Se puede comprobar que el grupo mayoritario está formado por 113 pacientes (conglomerado 3), en tanto que el más pequeño está formado por únicamente 33 individuos (conglomerado 2). Representando esta información en la misma figura anterior, pero ahora diferenciando los individuos con colores, en relación al conglomerado de pertenencias, obtenemos lo siguiente:

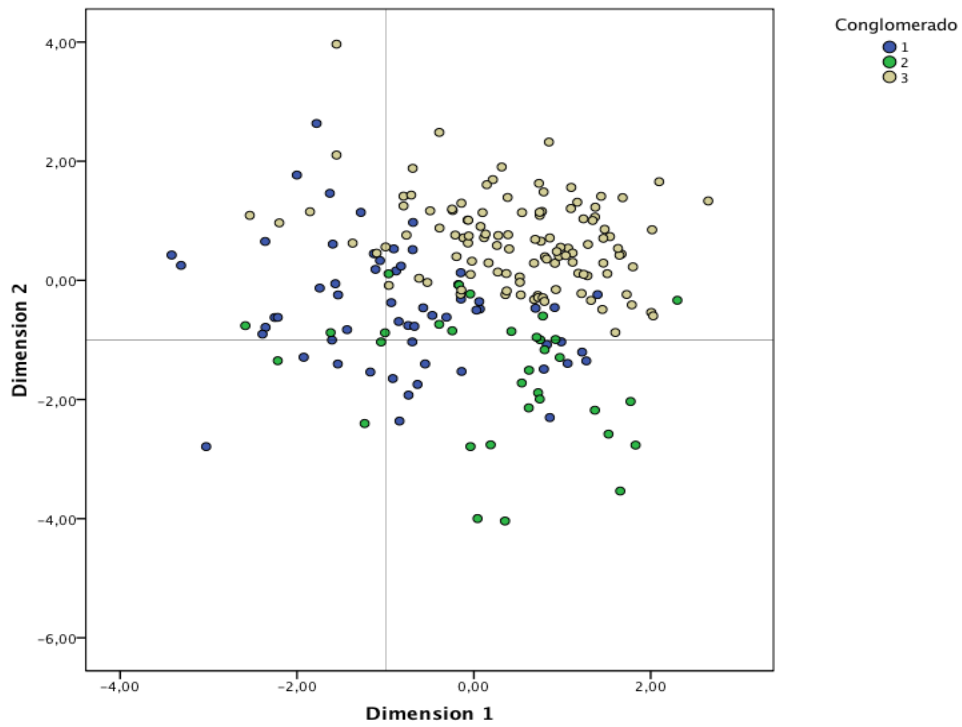


Figura 38. Diagrama de dispersión de los pacientes en el primer plano factorial obtenido, identificados por un color relativo al grupo de conglomerado determinado por el procedimiento K medias.

La discriminación en relación a la primera dimensión se produce entre los conglomerados 1 y 3, por un lado, y el conglomerado 2 por otro. La discriminación entre los 3 *cluster* encontrados aparece más clara en relación a la 2ª dimensión, si bien incluso para esta dimensión hay individuos cuyo grupo de pertenencia no se diferencia claramente en la figura. Esta ha sido una constante a lo largo del estudio.

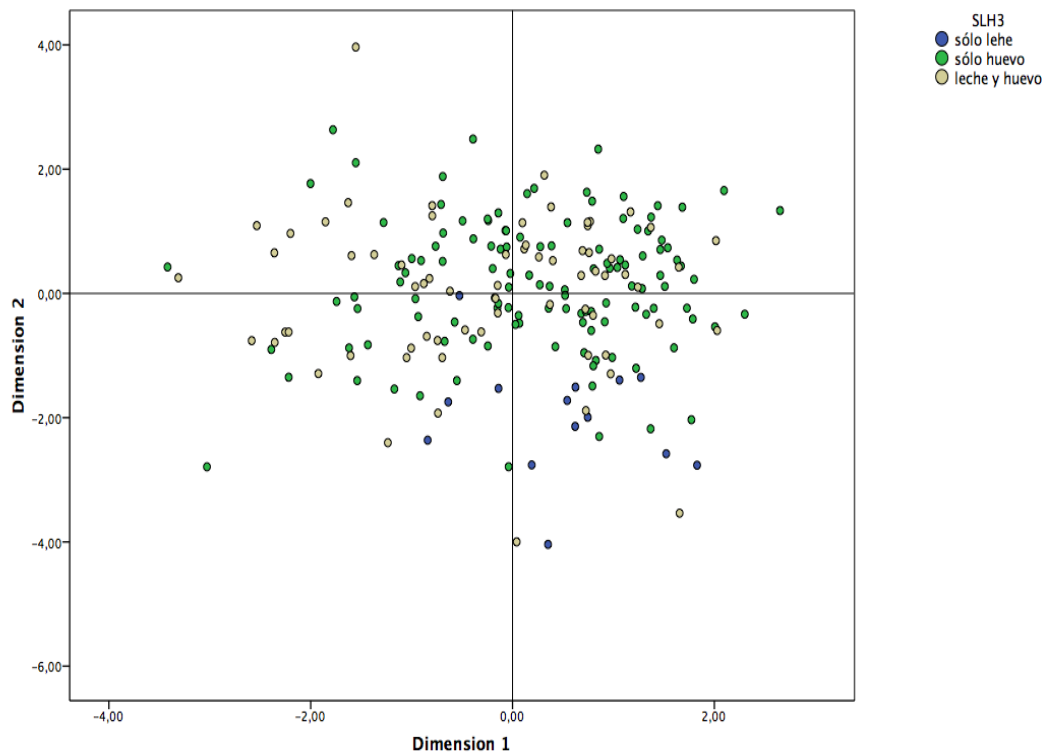


Figura 39. Representación de los pacientes en el primer plano factorial obtenido, identificados por un color relativo a la sensibilización que presentan.

Aun siendo así, nos planteamos si la agrupación encontrada al realizar el análisis Cluster podría corresponderse con alguna de las variables a estudio. Así, probamos a localizar dónde se situaban los individuos en relación a su sensibilización alimentaria. Nos encontramos con lo siguiente:

Tabla 43. Equivalencias entre los 3 conglomerados y la sensibilización.

CONGLOMERADO	N	SENSIBILIZACIÓN	N
1	59	Sólo al HUEVO	123
2	33	Sólo a la LECHE	14
3	113	LECHE y HUEVO	68

Aunque realmente no se trata exactamente de la misma agrupación, si que encontramos ciertas equivalencias, que desde el punto de vista gráfico, se observan así:

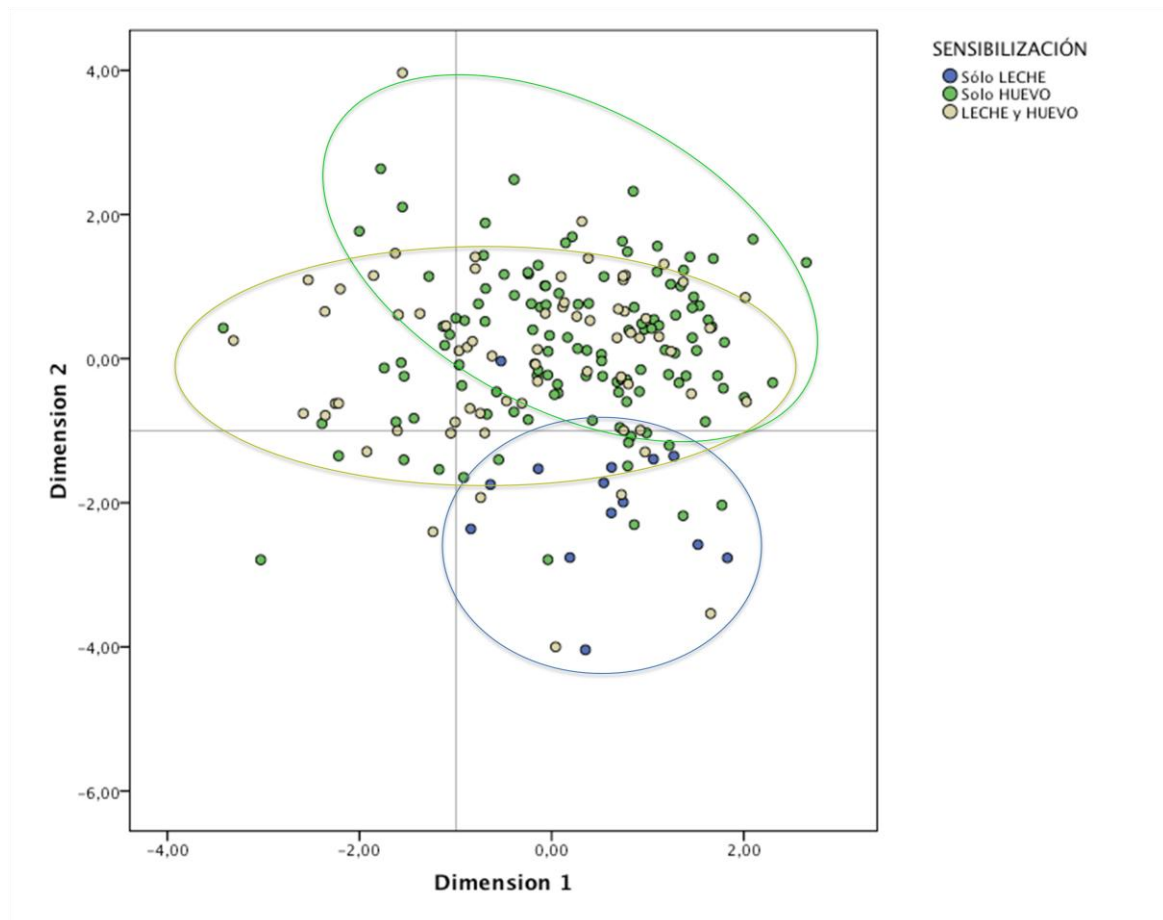


Figura 40. Representación de los pacientes, en relación a su sensibilización, en el primer plano factorial.

Hay que admitir que la caracterización *Cluster* de la variable sensibilidad sólo a la leche es la que mejor se corresponde con la existente en la realidad, aunque también las otras dos sensibilizaciones contempladas en el presente estudio tienen puntos en común con los grupos encontrados en el Análisis de *Clusters*.

Un resultado interesante es el que se observa en los individuos sensibilizados tan sólo a la leche. En este colectivo de pacientes, al menos en nuestra muestra, se observa que ninguno de ellos presentaba sensibilización a pólenes, ácaros o epitelios, algo que si

ocurría con los pacientes sensibilizados al huevo, o al huevo y la leche simultáneamente, tal y como se observa en las siguientes figuras:

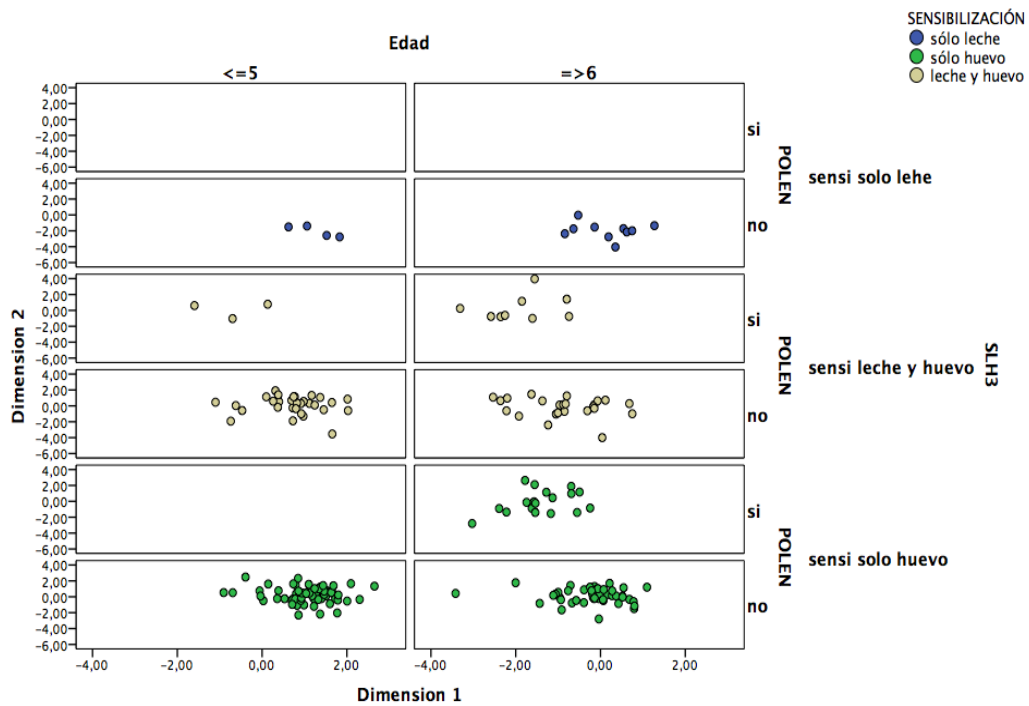


Figura 41. Diagrama en panel del primer plano factorial con respecto a la sensibilización al polen y la edad.

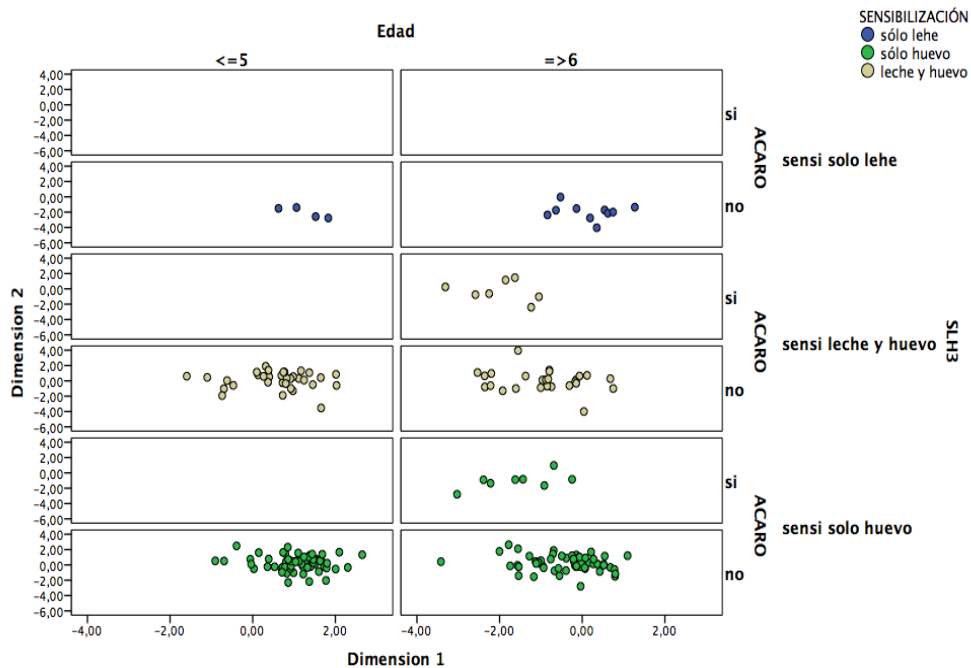


Figura 42. Diagrama en panel del primer plano factorial con respecto a la sensibilización a los ácaros y la edad.

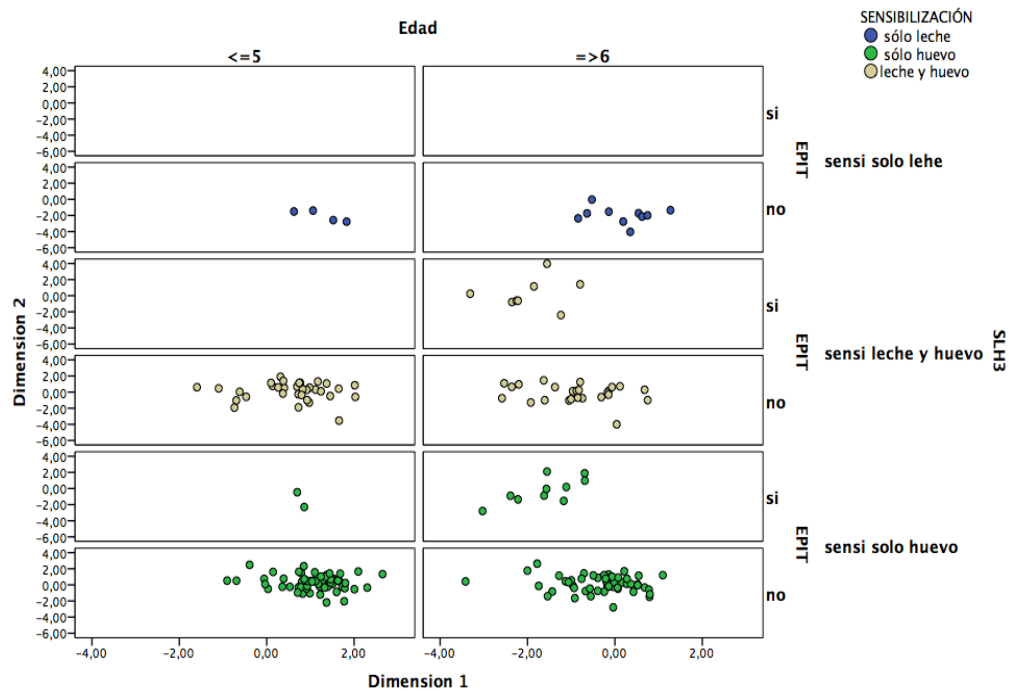


Figura 43. Diagrama en panel del primer plano factorial con respecto la sensibilización a los epitelios y la edad.

Cabe señalar, así mismo, que ninguno de los pacientes sensibilizados a la leche tuvo un parto prematuro, y que la mayoría de ellos no eran asmáticos en el momento de la evaluación final.

Son de reseñar también algunos de los resultados genéticos. Estos resultados se corresponden con la figura de panel de la solución factorial determinada por las dimensiones 1-2, en relación a la sensibilidad que los individuos presentan (a leche, a huevo y leche y huevo), su edad (menores de 6 años y mayores de 6 años) y algunas de las pruebas genéticas realizadas.

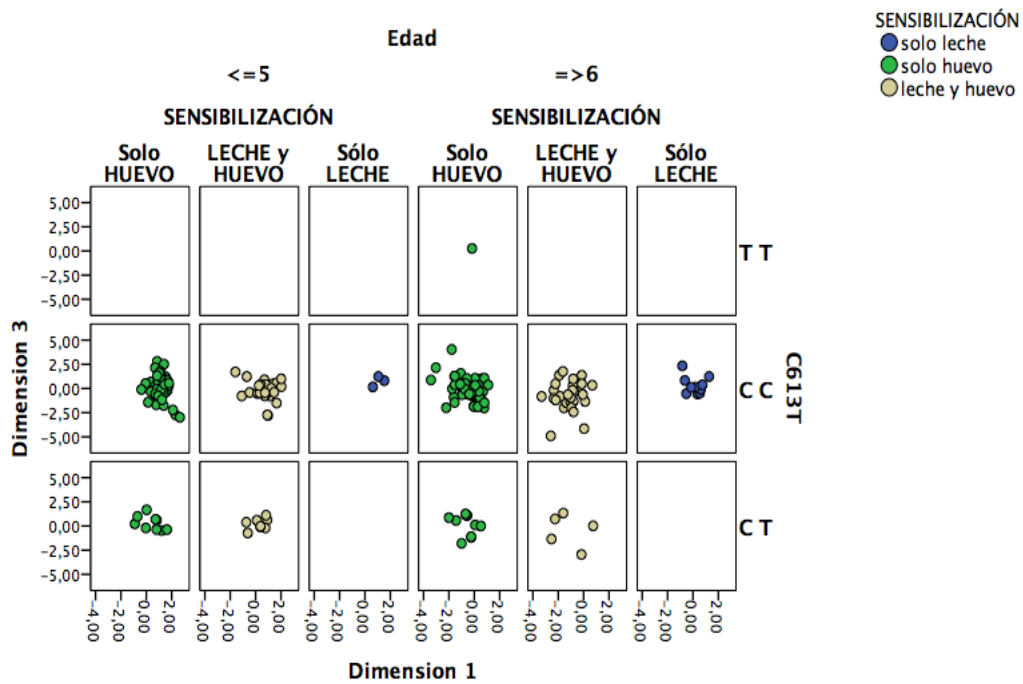


Figura 44. Diagrama en panel del segundo plano factorial con respecto a -613PTG, sensibilización y edad.

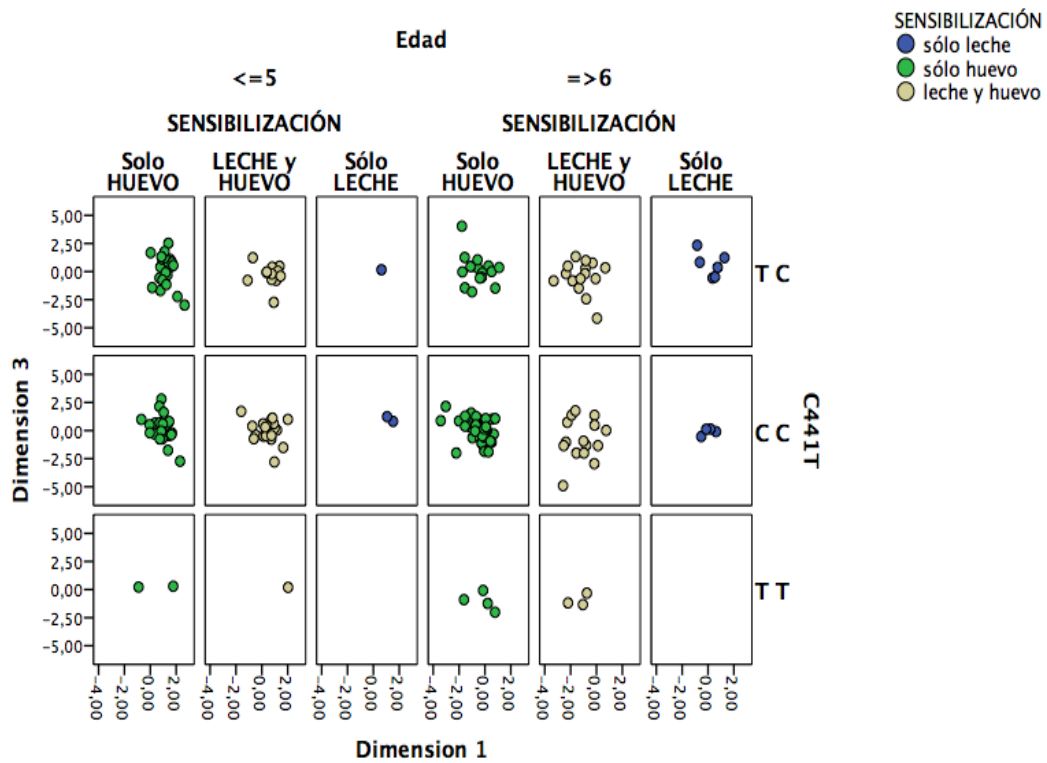


Figura 45. Diagrama en panel del segundo plano factorial con respecto a -441PTG, sensibilización y edad.

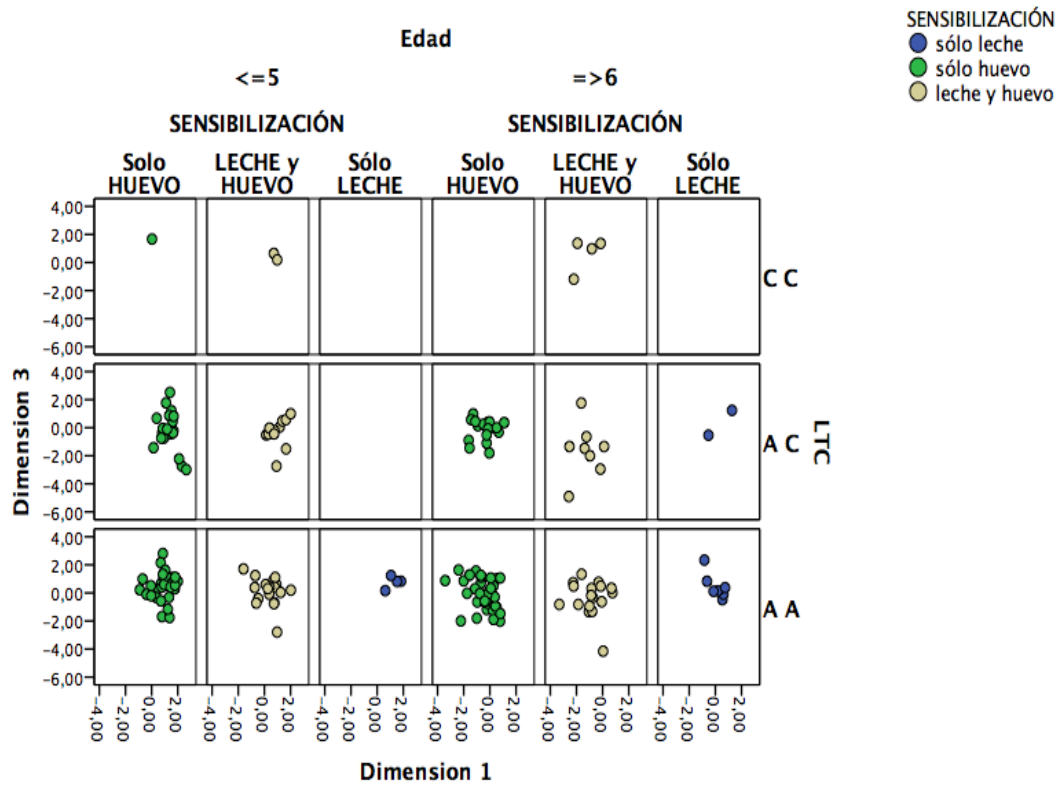


Figura 46. Diagrama en panel del segundo plano factorial con respecto a LTC, sensibilización y edad.

5.4.1 CONTROL DE CONSISTENCIA.

Finalmente, y para tratar de comprobar la consistencia de los resultados se han realizado dos análisis adicionales.

1. Por un lado, se repitió el primer estudio ya comentado, es decir, el realizado con las mismas 84 variables agrupadas en 7 grupos, pero teniendo en cuenta ahora aquellos individuos mayores de 6 años, con lo cual nuestra muestra se ha visto reducida a 107 pacientes con diferentes sensibilizaciones alimentarias, mayores de 6 años.

2. Adicionalmente, y tras los resultados encontrados en el análisis previo, y ante la posibilidad de que las variables inicialmente incluidas no fuesen las adecuadas, se procedió a repetir el estudio considerando todas las clases de edad, por lo que volvíamos a partir de los mismos 205 individuos originales, pero ahora considerando tan sólo aquellas variables que en el estudio inicial presentaban saturaciones iguales o mayores a 0,3 en al menos una de las tres dimensiones de la solución. De este modo nos encontramos con 48 variables, agrupadas así mismo en 7 grupos.

En relación al primero de los análisis realizado, se aprecia que a pesar de la menor concentración de individuos, se obtiene básicamente la misma solución (si se exceptúa la posición en la que aparecen los grupos) tanto en el plano factorial determinado por la primera-segunda dimensión, como en el plano determinado por las dimensiones latentes una-tres, que la obtenida en el análisis inicial.

Las siguientes figuras muestran estas soluciones factoriales:

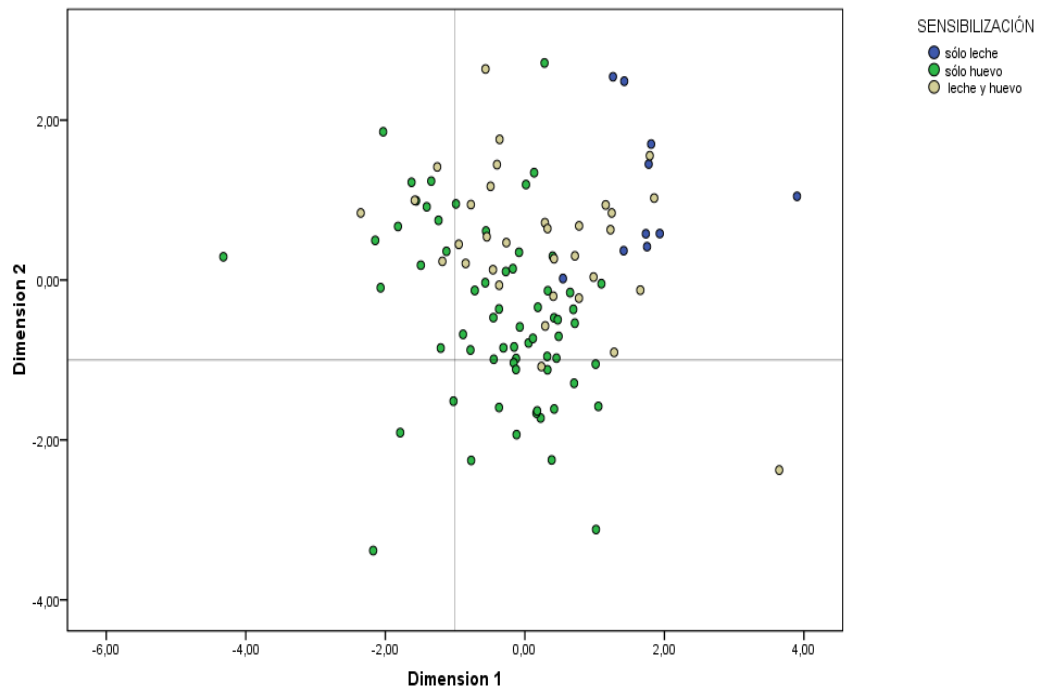


Figura 47. Representación de los pacientes en el primer plano factorial obtenido, identificados por un color relativo a la sensibilización que presentan.

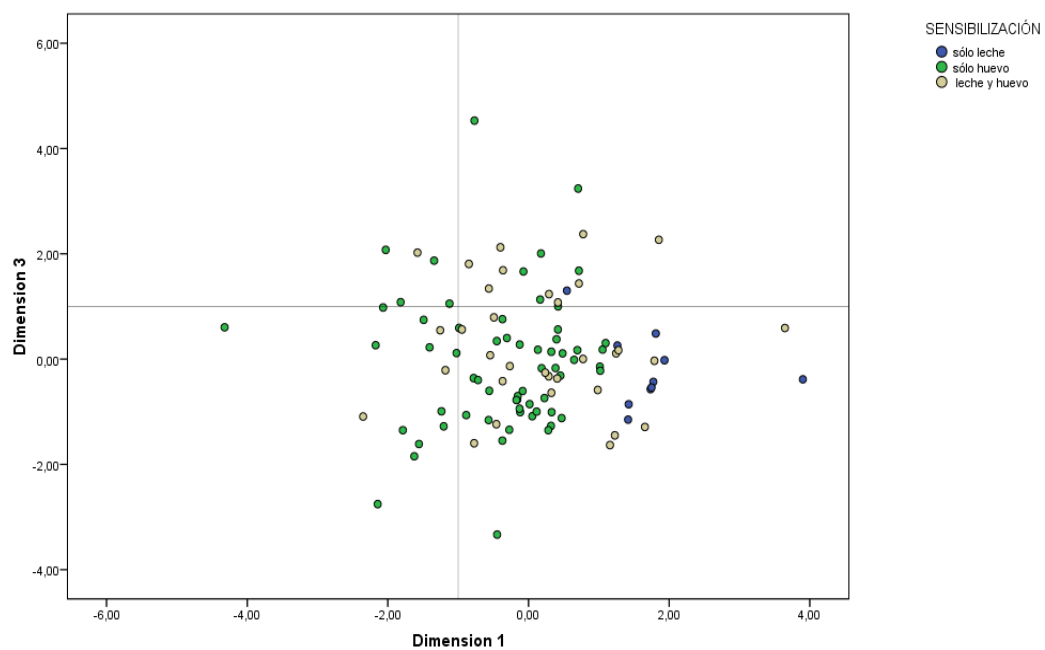


Figura 48. Plano factorial configurado por la primera y tercera dimensión de nuestra solución.

En relación al segundo análisis de consistencia, se muestran de nuevo tan sólo las soluciones factoriales, pues bastan para poner de manifiesto que, como en el análisis inicial, se aprecia básicamente la misma solución, tanto en el primer como en el segundo plano factorial (excepto en la rotación), en la que aparecen tres grupos de sensibilización, más diferenciados aquellos con sensibilidad sólo a la leche, que los que presentan sensibilización a huevo y a huevo y leche.

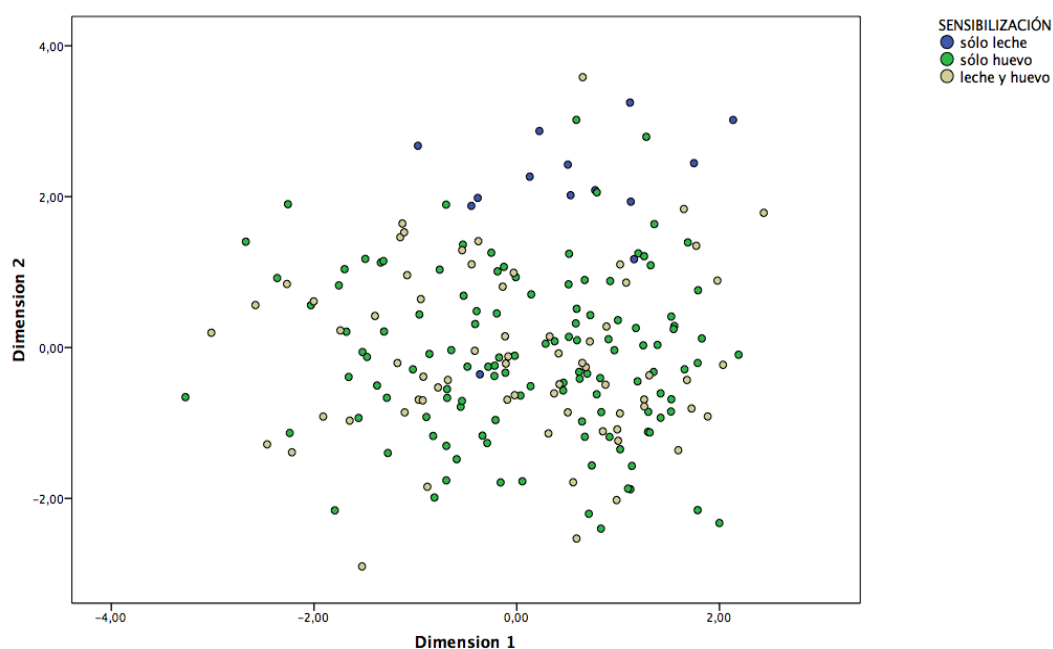


Figura 49. Representación de los pacientes en el primer plano factorial obtenido, identificados por un color relativo a la sensibilización que presentan.

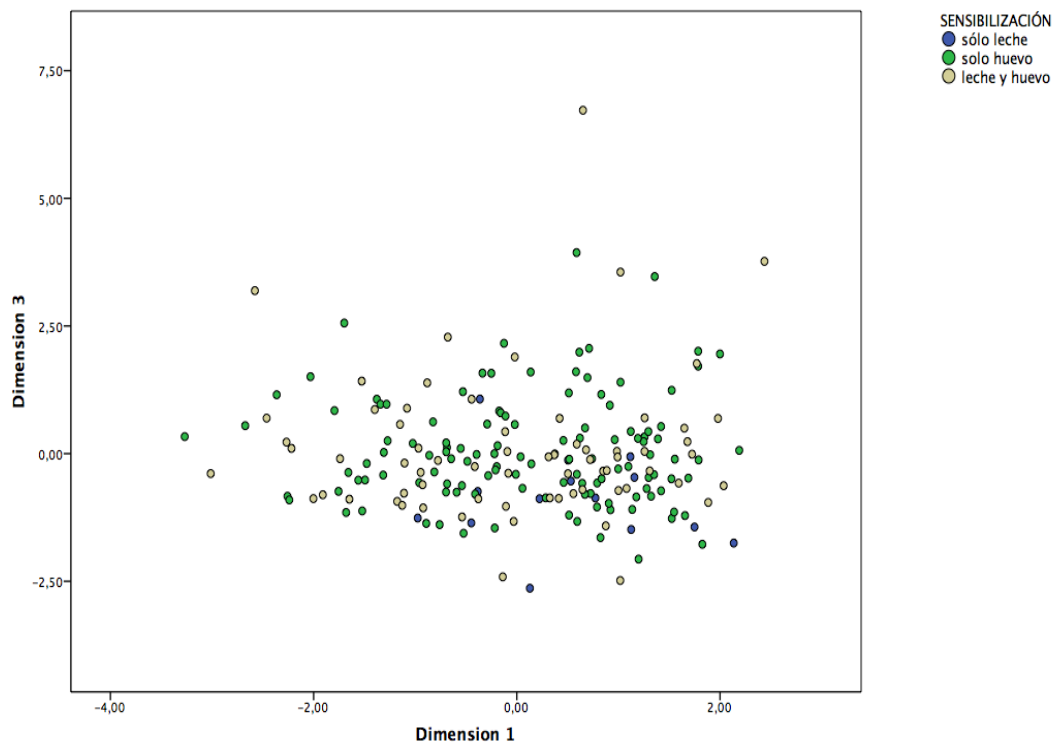


Figura 50. Plano factorial configurado por la primera y tercera dimensión de nuestra solución.

Se constata, pues, que los resultados encontrados son estables y consistentes, pues la solución básica obtenida inicialmente se mantiene con carácter general, tanto con la muestra de individuos más pequeña (107 pacientes frente a 205), como con una selección de variables con mayores saturaciones en los ejes factoriales de la primera solución (48 frente a 84).

6. DiSCUSSION



6. DISCUSIÓN

A continuación se analizarán y comentarán solamente los resultados significativos obtenidos, teniendo en cuenta que los análisis de datos que no hayan originado un resultado estadísticamente significativo no se comentarán.

Sexo.

Las enfermedades alérgicas pueden manifestar una expresión diferencial a lo largo del crecimiento del niño, presentándose en las etapas iniciales en forma de una dermatitis atópica o una alergia alimentaria para acabar desarrollando una alergia respiratoria. Esta expresión diferente a lo largo de las etapas de la vida se manifiesta también en cuanto a la afectación por sexos. En la población estudiada predominó el sexo masculino, con un 67% de varones. El predominio del sexo masculino en la patología alérgica en la infancia ha sido claramente descrito en el caso del asma, así como una mayor gravedad de la enfermedad en la población infantil masculina^{198,199}. En el caso concreto de la alergia alimentaria, Martín Esteban y colaboradores publicaron una serie de 101 pacientes con APLOB en los que predominaba el sexo masculino (58% de la muestra)⁶. En el estudio Alergológica 2005, se observó que el 57% de los pacientes menores de 14 años que presentaban alergia alimentaria, eran varones²⁰⁰.

Antecedentes familiares de atopia.

En cuanto a los antecedentes familiares, un tercio de los padres y un 40% de las madres de los pacientes padecían o habían padecido enfermedades atópicas. Este hecho refleja el bien conocido carácter hereditario de la atopia. En el caso de la APLOB el principal factor de riesgo son los antecedentes familiares de atopia²⁰¹ y en el caso de la alergia al huevo son la carga atópica familiar, la alergia previa a la leche de vaca y la dermatitis atópica²⁰¹.

Tabaquismo.

Respecto al tabaquismo, el 15% de las madres de los pacientes fumaron durante el embarazo, y, lo que resulta más alarmante, la mitad de los niños vivía en un domicilio en el que al menos uno de los dos progenitores fumaba, datos similares a los recogidos por Kulig y colaboradores en un estudio prospectivo con 342 niños de los cuales un 22% de las madres había fumado durante el embarazo y un 49% de los progenitores fumaba después del parto²⁰². Es conocido que la exposición en épocas tempranas de la vida al humo del tabaco supone un factor de riesgo para el desarrollo de sibilancias y asma. En nuestra muestra pudimos observar que la exposición al humo del tabaco, bien fuera durante la gestación o bien fuera después del nacimiento, se relacionaba con el posterior desarrollo de asma, así como con la sensibilización a los pólenes y con una mala evolución según criterios de atopia en general (véase tabla 33). Se sabe que la exposición intrauterina al tabaco tiene una clara relación con el asma infantil, si bien esta relación ya no está tan clara en el caso de que la exposición al humo del tabaco se produzca tras el parto²⁰³. No obstante, son poco conocidos los efectos de la exposición intrauterina a la mayoría de contaminantes aunque, de todos ellos, el tabaco es el más

estudiado. Se ha observado que la exposición al humo del tabaco se asocia con un menor desarrollo pulmonar²⁰⁴⁻²⁰⁶ y con el desarrollo de sibilancias y asma en el niño²⁰⁷. También se dispone de datos que indican que el tabaco puede influir sobre un sistema inmune inmaduro, lo que incluiría alteraciones en la producción de citocinas por la unidad feto-placentaria, como se ha podido detectar en muestras de sangre del cordón umbilical²⁰⁸, así como en los patrones de respuesta de las células mononucleares fetales^{209,210}. Algunos estudios recientes han sugerido que los recién nacidos de madres fumadoras presentan una alteración en la transmisión de señales por los receptores de tipo *Toll* (TLR), los cuales, además de ser esenciales en la respuesta antimicrobiana innata, pueden ser importantes en la regulación de las vías que inhiben la respuesta inmune alérgica²¹¹. Sin embargo, a pesar de que numerosos estudios han documentado una asociación entre la exposición temprana al tabaco y las enfermedades alérgicas, éste sigue siendo un tema controvertido.

Reacciones alérgicas a la leche.

Las reacciones que presentaron los pacientes con APLOB fueron, en general, leves. Destacó el síndrome oral (40%) seguido de la urticaria (36%), del agravamiento de la DA (26%) y del angioedema (20%). Únicamente se observaron síntomas respiratorios en un 2% de los casos. Estos datos están en concordancia con lo descrito en la literatura médica. Así, Alonso y colaboradores describen que lo más habitual son los síntomas cutáneos (70%), seguidos de los digestivos (13%) o la asociación de ambos (18%), mientras que los síntomas respiratorios y la anafilaxia aparecen únicamente en un 1% de los casos²⁸. En un estudio multicéntrico, Martorell y colaboradores²¹² describieron que en la APLOB mediada por IgE los síntomas más frecuentes fueron los

cutáneos como el exantema, la urticaria o el angioedema, con un porcentaje del 94%, mientras que en el estudio de García-Ara y colaboradores se observó afectación cutánea en un 99% de los casos⁴⁰.

En nuestro estudio, el 84% de las reacciones ocurridas con la leche sucedieron aparentemente con la primera toma, como se ha referido en estudios previos^{213,214}, en los que se describe que la APLOB suele manifestarse en el primer año de vida, en la mayoría de los casos después de la primera toma de una fórmula de leche adaptada. Martorell y colaboradores²¹² también encuentran que en un 60% de los casos las reacciones aparecieron tras la primera toma de biberón de leche de vaca y que el 95% de los casos se produjeron en la primera semana siguiente a la introducción de la leche de adaptación. Crittenden y colaboradores observaron, a su vez, que casi dos tercios de las reacciones producidas por APLOB se produjeron en los dos primeros años de vida, en relación con la introducción de las fórmulas adaptadas en los lactantes, siendo excepcional la aparición de la alergia a las proteínas de leche de vaca en la edad adulta⁹.

Los pacientes cuyas madres referían que habían recibido el denominado “biberón pirata” (28%) presentaron con mayor frecuencia sensibilización a las proteínas de la leche de vaca. Estos resultados apoyan lo referido previamente en la bibliografía, en la que se expone que la lactancia materna exclusiva o combinada con exposiciones infrecuentes a pequeñas cantidades de leche de vaca durante los primeros meses de vida se asocia con el desarrollo de IgE frente a PLOB y que la exposición a estas proteínas con los suplementos de fórmula adaptada que se ofrecen en los primeros días de vida en la maternidad o "biberones pirata" incrementa el riesgo de IgE frente a PLOB, cuando es seguida de lactancia materna exclusiva o con una exposición infrecuente a pequeñas cantidades de fórmula adaptada de PLOB¹¹. Aunque la mayoría de los estudios publicados sobre este tema apoyan esta teoría, no todos son unánimes y se observan

resultados contradictorios. En el estudio multicéntrico realizado por Martorell y colaboradores²¹², sólo el 41% de los pacientes alérgicos a las PLOB habían recibido biberón de ayuda en la maternidad o durante el período de lactancia materna, mientras que en un estudio doble ciego controlado realizado por De Jong y colaboradores¹⁰ en el que administraban de modo aleatorio una fórmula adaptada con PLOB o una fórmula libre de proteínas como suplemento durante los primeros días de vida, no observaron un incremento de riesgo de desarrollar enfermedades atópicas en los primeros dos años de vida.

De los pacientes sensibilizados a las proteínas de la leche, el 68,3% presentaba sensibilización a más de una proteína. Las pruebas cutáneas fueron positivas con mayor frecuencia para la BLG (48%), seguida de la ALA (46%). Estos resultados son similares a los obtenidos por Martorell y colaboradores²¹², quienes encuentran que el 93% de los pacientes sensibilizados a las proteínas de la leche estaban sensibilizados a más de una proteína, de los cuales el 89% era sensible a la BLG, el 79% a la ALA y otro 79% a la caseína.

En lo referente a los niveles de IgE específica, los datos son similares a los descritos en otras series, por lo que se comenta sucintamente. Encontramos que la BLG era la proteína más frecuentemente implicada. Para muchos autores la BLG es la responsable de la mayor parte de las sensibilizaciones¹⁶, ya que su resistencia a la hidrólisis ácida y a las proteasas hace posible su absorción a través de la mucosa intestinal^{18,19} pudiendo encontrarse en la leche de mujer y ser responsable de la sensibilización y de la alergia en el lactante²⁰. En cuanto al tema de la sensibilización a la caseína, pudimos observar que los pacientes que toleraban la leche en el momento de finalizar nuestro estudio presentaban una media de IgE específica frente a la caseína notablemente inferior a la de los que no la toleraban (0,758 frente a 6,914 kU/L;

$p = 0,016$). Con el resto de proteínas de la leche no hallamos ninguna asociación. La determinación de IgE específica puede realizarse frente a la leche completa o frente a sus fracciones. Una IgE específica frente a leche completa negativa se corresponde prácticamente siempre con negatividad para las fracciones proteicas. Si la IgE a leche es positiva la realización de IgE específica frente a las proteínas de la leche permite una valoración cuantitativa de interés pronóstico ya que en el seguimiento del proceso los valores de BLG y caseína se han relacionado con la tolerancia⁴⁴. Muchos autores creen que son indicadores de mal pronóstico evolutivo la persistencia de alergia clínica a la leche a partir de los 4 años de edad y el mantenimiento de valores de IgE sérica elevados para caseína^{21,44,215}. Docena y colaboradores observaron que la caseína era el alérgeno más relevante de las proteínas de la leche de vaca¹. Sampson y colaboradores realizaron un estudio en el que concluyeron que el descenso de la IgE específica frente a la BLG y la caseína se relacionaba con el desarrollo de tolerancia a la leche de vaca en una población infantil⁴⁵. También se ha descrito que la presencia de IgE específica frente a determinados epítomos de la BLG y de la caseína se correlaciona con una persistencia de la alergia a las proteínas lácteas de origen bovino²¹, y que en el momento del diagnóstico inicial los valores bajos de IgE frente a estas dos proteínas o la bajada de los mismos durante el seguimiento evolutivo predicen tolerancia²¹⁶. Otros autores creen que es la caseína la que mejor discrimina entre la persistencia o la tolerancia en la evolución²¹⁷.

En lo referente a la evolución, el 67% de los pacientes toleraron el alimento antes de los 3 años. Como se ha comentado en anteriores ocasiones, la APLOB tiende a remitir a corto o medio plazo en la primera infancia. Así, se ha observado que al año de vida se ha establecido la tolerancia en el 50-60% de los niños, a los 2 años en el 70-75%, y a los 4 años en el 85%^{4,28,76}.

Sensibilización al huevo.

Con respecto a las reacciones producidas por el huevo, en nuestro estudio destacan en primer lugar las cutáneo-mucosas, como el síndrome de alergia oral (28%), la urticaria (27%), el agravamiento de la dermatitis atópica (18%) y el angioedema (15%), seguidas por las manifestaciones digestivas y la clínica de rechazo. Según distintos autores, entre un 77 y un 98% de las reacciones alérgicas al huevo presentan manifestaciones cutáneas, del 36 al 60% desarrollan síntomas digestivos y del 7 al 40%, síntomas respiratorios de vías altas y/o bajas, mientras que la anafilaxia está presente en un 3% de algunas series^{113,114}. En un estudio retrospectivo²⁸, que consideró todos los motivos de estudio de alergia al huevo, la sintomatología inicial cutánea ocurría en el 39,6% (23,6% generalizada y 16% local), la digestiva en el 7,5%, y la afectación simultánea de 2 o más órganos en el 16%.

De los pacientes sensibilizados a las proteínas del huevo, los porcentajes mayores de sensibilización los tenían la ovoalbúmina (64%) y el ovomucoide (58%), que como ya vimos eran los dos alérgenos principales del huevo²¹⁸. En nuestro caso, el ovomucoide no sirvió como factor pronóstico de mala tolerancia, a diferencia de lo descrito²¹⁸, como tampoco lo fueron ninguna de las otras proteínas evaluadas.

En cuanto a la evolución, el 52% de los pacientes sensibilizados al huevo toleraron el alimento antes de los 3 años de edad. En la serie de Alonso y colaboradores de 106 niños²⁸, a los 2 años toleraban el huevo el 19,7% del total; a los 3 años, el 32,7% y a los 5 años, el 52,7%. Como puede observarse nuestra muestra de pacientes incluidos en el estudio se asemeja a otras muestras descritas previamente de similares características.

Antecedentes perinatales.

Un aspecto que cabe destacar es que los pacientes nacidos de parto por cesárea presentaban pruebas cutáneas positivas frente a la leche en la primera visita con una frecuencia que duplicaba a la de los nacidos por vía vaginal. Aunque aparentemente curioso a primera vista, existen en la bibliografía otros estudios que relacionan los partos por cesárea con un mayor porcentaje de APLOB mediada por IgE. Se cree que la explicación podría ser que el recién nacido por vía vaginal se contamina con la microflora vaginal de la madre cuando pasa por el canal del parto materno²¹⁹, mientras que cuando el niño nace por mediante cesárea se produciría un retraso en dicha colonización, y esta carencia de microflora durante los primeros meses de vida podría alterar la respuesta inmune a favor de un patrón Th2 que podría favorecer de manera eventual la respuesta IgE^{220,221}, ya que la exposición a los primeros alérgenos se realizaría cuando el intestino del recién nacido es estéril. Se cree también que podría influir el tratamiento antibiótico que se le suele dar a la madre durante el parto por cesárea²²¹. Hay múltiples trabajos publicados que hablan sobre la relación entre el tipo de parto y el posterior desarrollo de alergia o enfermedad atópica, con resultados contradictorios, y también hay publicados, aunque en menor número, estudios que relacionan el tipo de parto con el desarrollo de APLOB. Así, Eggesbo y colaboradores publicaron, en el año 2003, un estudio con casi 3.000 pacientes en el que observaban que los nacidos por parto mediante cesárea habían desarrollado más alergias a diferentes alimentos, entre ellos el huevo y la leche de vaca, que los nacidos por vía vaginal²²². Dos años más tarde, este mismo grupo de trabajo publicó otro estudio en el que relacionaba el parto mediante cesárea con la alergia y la intolerancia a las PLOB, incluso con la persistencia de la misma en el tiempo²²³. El Servicio de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica de Pamplona acaba de publicar un estudio prospectivo que apoya

esta teoría, con 225 pacientes en el que observan una asociación entre el parto por cesárea y la APLOB mediada por IgE²²⁴. Sin embargo, los pacientes que se hicieron alérgicos a las PLOB no desarrollaron posteriormente una marcha atópica, y ésta parecía tener relación más con factores genéticos y otros factores ambientales que no estaban presentes en el momento del nacimiento. Además, los autores observaron que los niños con APLOB mediada por IgE que habían nacido mediante parto por cesárea, presentaban valores más elevados de IgE específica frente a la caseína, BLG y ALA que los niños con APLOB mediada por IgE que habían nacido por parto vaginal. En nuestro caso, solo hemos podido encontrar una relación estadísticamente significativa entre el parto por cesárea y un resultado positivos en las pruebas intraepidérmicas frente a leche de vaca, sin embargo no hemos hallado relación con los valores de IgE específica frente a las diferentes proteínas de la leche, aunque sí se observa una clara tendencia de asociación, tanto con las pruebas intraepidérmicas como con los valores de IgE específica a caseína y ALA, aunque creemos que serían necesarios más estudios y con tamaños muestrales mayores para confirmar dichas asociaciones. Además, no todos los datos publicados sobre este tema apoyan esta teoría. En el estudio multicéntrico realizado por Martorell y colaboradores²¹² los autores no observaron esta asociación entre las cesáreas y la posterior APLOB, a pesar de que el número de partos mediante cesárea en la población de su estudio era superior al de la población general²²⁵. Por el momento se cree que el parto mediante cesárea sería un factor que predispondría a padecer APLOB de manera aislada, predominando en este caso la influencia de los factores ambientales sobre los genéticos, pero que no sería determinante para el desarrollo de la marcha atópica. Esto podría explicar los estudios contradictorios que hemos mencionado anteriormente de diferentes autores, ya que el perfil de los pacientes

con APLOB mediada por IgE sería diferente dependiendo de si posteriormente los pacientes desarrollan marcha atópica o no.

Antecedentes de bronquiolitis y/o bronquitis espástica.

Los pacientes que presentaban antecedentes de bronquiolitis y/o bronquitis espásticas desarrollaron con mayor frecuencia sensibilizaciones a aeroalérgenos, rinoconjuntivitis, asma y atopia en general (ver tabla 32), dato que concuerda con lo referido hasta ahora en la bibliografía, como se especificará más adelante. En nuestro trabajo decidimos recoger como antecedente personal si el paciente había padecido bronquiolitis, independientemente de que éstas hubieran sido producidas por virus respiratorio sincitial (VRS) o por rinovirus, ya que aunque existen múltiples artículos que describen el VRS como agente causal principal de infecciones del tracto respiratorio inferior y de asma²²⁶⁻²³⁰, las bronquiolitis por rinovirus también se consideran factor de riesgo de asma durante toda la infancia²³¹. Además de relacionarse con el asma, las infecciones de las vías respiratorias, tanto víricas como bacterianas, también se han relacionado con la enfermedad atópica y la sensibilización a aeroalérgenos. En el año 2007 Xepapadaki y colaboradores realizaron una revisión sobre el papel que desempeñan las infecciones víricas en el desarrollo y la progresión de la alergia²³². Se cree que las bronquiolitis graves que ocurren en la infancia temprana pueden predisponer al asma crónica infantil, así como a la sensibilización alérgica y, de manera alternativa, podrían representar un marcador de susceptibilidad individual. Por el contrario, se ha descrito que infecciones repetidas de carácter leve durante la etapa de la infancia y la adolescencia pueden tener un papel protector en el desarrollo de asma o atopia debido al cambio de patrón del sistema inmunológico hacia respuestas Th1²³³.

Como puede observarse no hay establecidos criterios únicos en cuanto a los virus respiratorios se refiere, ya que se cree que sería un compendio de factores como la presencia de un entorno atópico, el momento de la exposición y la gravedad de la infección lo que contribuirían a establecer la relación entre las infecciones y la alergia.

Los niños que habían acudido a la guardería presentaron un mayor porcentaje de asma en la primera visita que los que no habían acudido a la misma. Ello podría tener su explicación por las infecciones que se transmiten en dichas instituciones, y como ya hemos comentado anteriormente, la relación entre las infecciones del tracto respiratorio y el desarrollo de asma en la infancia. Aunque por otro lado, esto iría en contra de la hipótesis de la higiene, que sostiene que las infecciones naturales y las exposiciones a alérgenos brindan una protección esencial contra la aparición de asma y de enfermedades alérgicas y autoinmunes²³⁴. Estos diferentes desenlaces de las enfermedades alérgicas como producto de las exposiciones ambientales se atribuyen a variables moderadoras importantes, como pueden ser la edad de la exposición, el momento de la exposición con relación a la aparición de la enfermedad, la dosis y frecuencia de la exposición, así como las predisposiciones genéticas a la respuesta, por lo que la epigenética podría estar de nuevo influyendo en la enfermedad alérgica. Lo mismo ocurriría a la hora de explicar el hecho de que los niños que acudieron a guarderías también presentarían un mayor porcentaje de sensibilización a los ácaros del polvo o que los niños que crecieron en un domicilio con humedad desarrollarían más sensibilizaciones posteriores a los ácaros del polvo y las esporas de hongos. La relación entre la humedad y el posterior desarrollo de sensibilización a los ácaros del polvo y a las esporas de los hongos ha sido descrita previamente, ya que se ha demostrado que la humedad en el interior de los hogares potenciaría el crecimiento tanto de ácaros del

polvo como de esporas de hongos²³⁵, lo que conllevaría posteriores sensibilizaciones a dichos aeroalérgenos.

Ingesta de ácido fólico durante el embarazo.

Al analizar los datos de ingesta de ácido fólico, observamos que los niños cuyas madres habían tomado ácido fólico durante el embarazo presentaron un menor porcentaje de rinoconjuntivitis, asma, y una menor sensibilización posterior a aeroalérgenos, en particular a los ácaros del polvo, esporas de hongos y epitelios de animales. Además, los niveles de IgE total eran menores en el grupo de niños cuyas madres tomaron ácido fólico durante el embarazo en comparación con los hijos cuyas madres no lo tomaron. En todos los casos se realizaron estudios de regresión binaria ajustada por edad y sexo para comprobar las asociaciones. En el caso del ácido fólico, al ajustar la variable por la edad se perdía la significación estadística. Pensamos que esto podría deberse a que los dos grupos, uno formado por aquellos niños cuyas madres tomaron fólico en el embarazo y otro por aquellos cuyas madres no lo hicieron, tenían unas medias de edad muy diferentes (con lo que la edad podría haber influido en que pudieran haberse manifestado las enfermedades atópicas), y además el tamaño muestral de cada uno era muy diferente. Una primera opción fue eliminar los sujetos del grupo que tenía mayor tamaño muestral hasta dejarlo del mismo tamaño que el otro, pero las medias de edad seguían siendo muy diferentes y se perdía la significación estadística. Optamos, por este motivo, por hacer subgrupos de edades pareadas para ver si los resultados se mantenían, cosa que en efecto ocurría, por lo que cabe la posibilidad de que la edad, a pesar de ser un factor de confusión, no fuera el único factor que influyera

en el hecho de que los niños del grupo cuyas madre tomaron ácido fólico desarrollaran menos enfermedades alérgicas.

En las últimas décadas se ha producido un constante incremento tanto en la frecuencia como en la gravedad de las enfermedades atópicas, sobre todo en los países desarrollados, lo que resulta difícil de atribuir únicamente a factores ambientales, aunque el ambiente se ha modificado rápidamente, y mucho menos genéticos, de muy lento desarrollo. Una posible explicación podría ser las modificaciones epigenéticas, que podrían constituir un posible nexo de unión entre los factores genéticos y ambientales, aportando un mecanismo plausible para explicar por qué los cambios en el estilo de vida pueden modificar la expresión génica, y por lo tanto, permitir que se establezca la enfermedad. La Epigenética se basa en el estudio de cualquier cambio potencial equilibrado y hereditario (pero reversible) en la expresión génica o fenotipo celular que ocurre sin cambios en el genotipo, y podría ofrecer nuevas perspectivas en este sentido. Las modificaciones epigenéticas incluyen un gran número de mecanismos que implican cambios en el DNA y en la cromatina, y la metilación del DNA sea quizá la modificación epigenética mas estudiada. Un componente de la dieta que podría influir directamente en las modificaciones epigenéticas es el ácido fólico, ya que constituye una fuente de donantes de grupos metilo para la metilación del DNA, y es un suplemento recomendado en mujeres embarazadas para reducir el riesgo de malformaciones congénitas en el feto.

Se ha publicado recientemente un estudio en un modelo murino que sugiere que los suplementos con ácido fólico incrementan el riesgo de enfermedad atópica²³⁶. En el ser humano Haberg y colaboradores²³⁷ investigaron, en un estudio muy reciente, los efectos de los suplementos de ácido fólico en el embarazo y concluyeron que se asociaban con un incremento en el riesgo de desarrollar sibilancias e infecciones del

tracto respiratorio inferior en los niños. Husemoen y colaboradores²³⁸ estudiaron, en una población danesa, el genotipo TT del polimorfismo 677 C>T del gen que codifica la MTHFR, (metilentetrahidrofolato reductasa), polimorfismo que produce una alteración en el metabolito del ácido fólico y reduce la reserva intracelular de donantes de metilo²³⁹, y observaron que se asociaba con una mayor prevalencia de atopía. Por el contrario, Granell y colaboradores²⁴⁰, en una cohorte de niños seguidos desde el nacimiento y evaluados a los 7-8 años, no encuentran asociación entre el genotipo materno del SNP *MTHFR* 677 C>T y la atopía en la descendencia, por lo que concluyen que sus datos no apoyan la hipótesis de que los defectos en el metabolismo del ácido fólico se asocien con la alergia en su población adulta o infantil. Nuestros resultados sugieren que el ácido fólico puede ayudar a regular la respuesta inmune a los alérgenos, reduciendo la enfermedad atópica, apoyando los resultados del estudio realizado por Matsui y Matsui²⁴¹, en el que se proponen varios mecanismos para explicar la conexión entre el metabolismo del ácido fólico y la atopía, basado en una asociación entre un polimorfismo común del gen *MTHFR* y la sensibilización alérgica. Los niveles elevados de folato sérico se han asociado a un menor riesgo de desarrollar otras patologías inflamatorias, como la artritis^{242,243} o trastornos cardiovasculares^{244,245}. A nuestro entender, este es el primer estudio que relaciona la ingesta de ácido fólico durante el embarazo con un menor riesgo de enfermedad atópica en la infancia, después de que Matsui y Matsui hayan publicado recientemente que los niveles séricos elevados de folato se relacionaban con niveles de IgE total bajos y un menor riesgo de de atopía y sibilancias en población representativa de Estado Unidos cuyas edades iban desde los dos a los 85 años. Desafortunadamente, aún quedan muchas cuestiones por aclarar, por lo que creemos que serían necesarios más estudios para examinar si los suplementos de ácido fólico durante el embarazo están asociados con una disminución de la enfermedad

atópica, y tal vez serían necesarios mayores tamaños muestrales de tal forma que no hubiera factores de confusión como la edad.

Si una nutrición desequilibrada durante el embarazo altera la regulación epigenética y si esto puede estar asociado con un incremento en el riesgo de enfermedad en la edad adulta son cuestiones todavía pendientes de resolver. Las posibilidades de descubrir nuevos y tempranos biomarcadores y los factores de riesgo que influyen en el inicio de las enfermedades alérgicas son el objetivo de muchos estudios y este campo de la investigación está avanzando muy rápidamente.

Sensibilización a leche o huevo y desarrollo posterior de enfermedades atópicas.

Para estudiar las sensibilizaciones a la leche y al huevo, su posterior evolución y futuras sensibilizaciones, decidimos dividir a los pacientes en tres grupos: los que estaban sensibilizados a las proteínas de la leche pero no al huevo, los que estaban sensibilizados a las proteínas del huevo pero no a la leche, y un tercer grupo de niños que estaban sensibilizados a ambos alimentos. Observamos que los niños que presentaban sensibilización a las proteínas del huevo presentaron un mayor porcentaje de sensibilización posterior a pólenes en comparación con los que no lo estaban. Al comparar los pacientes que presentaban una sensibilización exclusivamente al huevo y los que presentaban sensibilización exclusiva a las proteínas de la leche de vaca también obtuvimos que los que estaban sensibilizados exclusivamente al huevo se sensibilizaron a pólenes en un porcentaje superior (OR = 9,20; IC 95%: 1,98-42,77). Lo mismo ocurrió cuando los comparamos con el grupo que estaba sensibilizado a los dos alimentos, que también desarrolló más sensibilización a los pólenes que el grupo de los sensibilizados solo a la leche. De esta manera comprobamos que el grupo de los

pacientes sensibilizados a ambos alimentos se comportaba de forma parecida al grupo de los sensibilizados exclusivamente al huevo en todos los análisis que realizamos por lo que optamos en no incluir en nuestros resultados los del grupo con ambas sensibilizaciones. Otros hallazgos que encontramos fueron que los pacientes que estaban sensibilizados al huevo desarrollaron mayor porcentaje de sensibilización posterior a algún aeroalérgeno (OR = 11,34; IC 95%: 2,38-54), un porcentaje significativamente superior de asma a lo largo del seguimiento evolutivo (OR = 6,18; IC 95%: 1,29-29,60) y desarrollaron en mayor porcentaje dermatitis atópica que los que no estaban sensibilizados al huevo (OR = 8,52; IC 95%: 1,83-39,74). Esto es, los pacientes sensibilizados a la leche pero no al huevo se comportaban de forma diferente, más favorable, que los pacientes sensibilizados al huevo, pero no a la leche. Es decir, parece que en nuestra población de estudio la sensibilización al huevo era, por lo tanto, el principal marcador de futuras sensibilizaciones y enfermedades atópicas. El análisis de correlación canónica no lineal confirma este resultado, al independizar claramente por un lado el grupo de pacientes sensibilizados a la leche del grupo de paciente sensibilizados al huevo (véase figura 40).

La duración del seguimiento evolutivo presentaba un rango amplio, por lo que, para evitar factores de confusión con respecto al periodo de seguimiento (ya que los niños de los que se había registrado un tiempo de evolución mayor tendrían más posibilidades de haber desarrollado nuevas sensibilizaciones), decidimos repetir el mismo estudio pero seleccionando sólo aquellos pacientes de los que disponíamos un seguimiento evolutivo superior a 5 años y obtuvimos resultados idénticos: el grupo de los pacientes sensibilizados a las proteínas del huevo presentó una evolución significativamente peor que el sensibilizado exclusivamente a la leche, ya que también desarrollaron un mayor porcentaje de sensibilizaciones a los aeroalérgenos, siendo el

polen el de mayor relevancia, así como mayores porcentaje de asma, dermatitis atópica y mala evolución según criterios de atopia.

Son múltiples los estudios que evalúan la relación entre la sensibilización a alimentos y el desarrollo posterior de enfermedades atópicas. Schäfer y colaboradores realizaron un estudio de casos y controles basado en las pruebas intraepidérmicas y en la historia clínica concluyendo que los sujetos alérgicos a algún trofoalérgeno padecían rinitis, asma, eccema atópico y urticaria con más frecuencia que los controles²⁴⁶. En 1998, Kulig y colaboradores realizaron un estudio prospectivo con 508 niños a los que realizaron un seguimiento evolutivo hasta que alcanzaban la edad de 5 años y concluyeron que una sensibilización persistente a alérgenos alimentarios combinada con la existencia de antecedentes familiares de atopia constituían factores predictivos de un posterior desarrollo de rinitis y asma, con un incremento del riesgo del 50 y el 67% respectivamente, por lo que los pacientes con estas características deberían considerarse de alto riesgo para padecer una enfermedad atópica respiratoria y, en consecuencia, adoptar medidas preventivas⁸². Hattevig y colaboradores, realizaron un estudio evolutivo con 86 niños, seguidos desde el nacimiento hasta los 4 años de edad, con posterior revisión a los 7, y concluyeron que la especificidad de los niveles elevados de IgE frente a los alérgenos alimentarios en la predicción de en los primeros 7 años de vida era de un 95%²⁴⁷. Otros estudios han demostrado alergia alimentaria en pacientes atópicos así como niveles elevados de IgE frente a alimentos en niños con dermatitis atópica^{248,249}. En un trabajo realizado con un modelo murino se demostró la aparición de lesiones eccematosas en un tercio de los ratones sensibilizados a trofoalérgenos después de suministrarles pequeñas cantidades de proteínas de leche de vaca y de cacahuete²⁵⁰. Estudios realizados en población infantil han demostrado también una asociación entre la alergia a proteínas alimentarias y el desarrollo de asma o la rinitis alérgica²⁵¹⁻²⁵⁵. La

conclusión final es que una alergia a proteínas alimentarias en épocas tempranas de la vida puede conducir al posterior desarrollo de enfermedad atópica, no solo cutánea sino también respiratoria.

Se ha descrito que la exposición a determinados alimentos durante el embarazo puede ser importante para determinar un desarrollo posterior de alergia alimentaria y atopia. Los alérgenos alimentarios, como la ovoalbúmina y la beta-lactoglobulina, ingeridos por la madre, pueden ser detectados en el cordón umbilical y en la placenta²⁵⁶, y también se ha descrito que las células mononucleares de cordón fetal pueden presentar reactividad frente a estos agentes²⁵⁷. Durante el embarazo se produce una polarización de los linfocitos T colaboradores hacia un patrón Th2 tanto en la madre como en el feto²⁵⁸. Cabe pensar que si el sistema inmune neonatal no es capaz de contrarregular el predominio del patrón Th2 preexistente podría desarrollarse un fenotipo alérgico²⁵⁸. La alergia a las proteínas de la dieta refleja una pérdida de la tolerancia frente a las mismas, y puede no solo coexistir con la presencia de enfermedades atópicas, sino que podría influir en el desarrollo de éstas. En cuanto a la alergia a las proteínas de los alimentos que han sido objeto de estudio en nuestro trabajo, numerosos autores han publicado artículos sobre la alergia a leche y al huevo como marcadores de atopia. La alergia alimentaria se relaciona con la atopia en general y no solo afecta a la piel, como se ha estudiado en el caso de la sensibilización al huevo de gallina, que se relaciona de forma significativa con la aparición de asma de la misma manera que con episodios de dermatitis atópica grave²⁵⁹. Se ha observado que ratones con alergia gastrointestinal experimental por proteínas alimentarias (ovoalbúmina) presentan también respuestas pulmonares tanto específicas (ovoalbúmina) como frente a alérgenos no relacionados (ácaros del polvo doméstico)²⁶⁰. Tariq y colaboradores demostraron que la alergia al huevo en el primer año de vida era factor predictivo no

solo de desarrollo de asma sino también de la sensibilización a antígenos como los ácaros del polvo doméstico, y que esta sensibilización no dependía de la persistencia de la alergia al huevo⁸⁹. También se ha escrito que los niños con sensibilización a las proteínas de leche de vaca que también presentan dermatitis atópica tienen mayor riesgo de desarrollar asma en el futuro²⁶¹. En el año 2004, Han y colaboradores publicaron un trabajo en el que habían estudiado 266 pacientes con dermatitis atópica y concluyeron que el estar sensibilizado a determinados alimentos como la leche, el huevo o el cacahuete se relacionaba con padecer dermatitis atópica, pero que, de todos ellos, el alérgeno alimentario con mayor relevancia era el huevo²⁶². Diversos estudios indican que la reactividad inmunológica al huevo puede ser el principal y más precoz marcador serológico de riesgo de una posterior sensibilización a aeroalérgenos y del desarrollo de patología alérgica respiratoria. Kulig y colaboradores realizaron en el año 1999 un estudio prospectivo con 216 niños alérgicos y concluyeron que el marcador más temprano de atopia fue, en primer lugar el nivel de IgE específica para huevo, seguido del de la leche, y que el desarrollo de una sensibilización posterior a aeroalérgenos ocurría, en la mayoría de los casos, después de la infancia¹³⁰. En el año 2001 Helen y colaboradores realizaron en Inglaterra un estudio prospectivo con 100 recién nacidos con riesgo de padecer asma debido a sus antecedentes familiares de atopia, y también concluyeron que el presentar sensibilización a las proteínas de leche de vaca o al huevo durante el primer año de vida constituía un factor predictivo de padecer asma en la edad adulta¹³². Además, si la alergia al huevo se asocia con dermatitis atópica, el riesgo de presentar patología alérgica respiratoria a los 4 años puede ser hasta del 80%.

Al igual que Kulig y colaboradores, y otros muchos autores antes mencionados, nosotros estamos de acuerdo con que el huevo es el alérgeno con mayor potencia y que

produce mayor porcentaje de sensibilizaciones posteriores a aeroalérgenos y por lo tanto mayor clínica de alergia.

Como se puede observar, son múltiples los trabajos que abordan el tema de la asociación que parece existir entre el tener alergia alimentaria, en especial al huevo, y presentar futuras sensibilizaciones a múltiples aeroalérgenos, y por lo tanto presentar a su vez mayor riesgo de patología respiratoria, y nuestros resultados avalan lo hasta ahora escrito en la literatura sobre este tema, que el estar sensibilizado a las proteínas del huevo sería el más precoz e importante marcador de atopia, que predeciría un mayor riesgo a padecer sensibilizaciones posteriores, tanto en la infancia como en la edad adulta, y por lo tanto mayor riesgo de desarrollar patología alérgica en general.

Análisis de la tolerancia a la leche y al huevo.

Realizamos también un análisis en lo referente a la tolerancia precoz o tardía a los alimentos y el riesgo de desarrollar sensibilizaciones posteriores. En el caso de la leche, no encontramos asociaciones significativas. En el caso del huevo pudimos observar que los niños que toleraban el huevo por encima de los 3 años se sensibilizaban posteriormente a los ácaros del polvo en mayor porcentaje que los que lo habían tolerado antes de los 3 años (OR = 2,48; IC 95%: 1,13-5). Cuando realizamos este análisis según la tolerancia al alimento en el momento de finalizar nuestro estudio también observamos que los niños que no lo toleraban se habían sensibilizado a los ácaros del polvo en un mayor porcentaje que los que ya lo toleraban (OR = 4,52; IC 95%: 2,15-9).

Análisis multivariante de correlación canónica no lineal.

La decisión de dividir la muestra de nuestros pacientes en 7 grupos de estudio fue debido a los requerimientos técnicos del Análisis de Correlación Canónica no lineal (éste supone las variables estructuradas en $K \geq 2$ grupos) y del programa informático (el programa SPSS en la versión con la cual se ha trabajado, sólo admite hasta un máximo de 9 agrupaciones de variables). Por ello decidimos cuáles podían ser las agrupaciones “naturales” según los contenidos. Aunque desde el punto de epidemiológico las variables presentaban agrupaciones clínicas “naturales” (sensibilización al huevo, antecedentes familiares, genotipo, etc.), desde el punto de vista de la técnica (punto de vista estadístico) y acorde a los requerimientos del programa utilizado (SPSS 17), dichas agrupaciones no resultaban en todos los casos operativas, por lo que se decidió agruparlas en 7 grupos operativos tanto desde el punto de vista clínico y epidemiológico como desde el estadístico.

Como ya comentamos al analizar los resultados, la discriminación entre las 3 agrupaciones (*cluster*) encontradas aparece más clara en relación a la 2ª dimensión, si bien incluso para esta dimensión hay individuos cuyo grupo de pertenencia no se diferencia claramente en la figura. Esta ha sido una constante a lo largo del estudio, ya que no aparece en el mismo una clara agrupación de los individuos en relación a cualquiera de las variables directamente relacionadas con las alergias alimentarias, en ninguno de los análisis exploratorios realizados. Sí que es posible encontrar agrupaciones de pacientes que presentan unas características más acentuadas que otras en relación a una o varias variables, pero no una agrupación clara en las soluciones factoriales. Pensamos que quizás esto sea debido a las características intrínsecas del problema de este tipo de sensibilizaciones, aunque posiblemente también esté

determinada por la gran cantidad y heterogeneidad de variables analizadas en el estudio y la inespecificidad de algunas de ellas en el tema que nos ocupa.

Hay que admitir que la caracterización *Cluster* de la variable “sensibilización sólo a leche” es la que mejor se corresponde con la existente en la realidad, aunque también las otras dos sensibilizaciones contempladas en el presente estudio tienen puntos en común con los grupos encontrados en el Análisis de Cluster.

Como ya se ha señalado con anterioridad, dicha tipología dista de ser exacta, además de las razones ya comentadas, también por las características de la base de datos manejada, en la que se realiza un estudio transversal, pero en el que, a través por ejemplo de los historiales clínicos, se contemplan aspectos longitudinales que las técnicas multivariantes no son capaces de desentrañar.

Cabe señalar así mismo que los resultados obtenidos para el grupo de pacientes “sensibilizados solo a la leche”, no son absolutos y deben tomarse con cautela, pues podrían deberse tan sólo a que este grupo de pacientes es el más pequeño de la muestra que estamos estudiando, constituido tan sólo por 14 individuos.

Como ya comprobamos con el control de consistencia los resultados encontrados son estables y consistentes, pues la solución básica obtenida inicialmente se mantiene con carácter general, tanto con la muestra de individuos más pequeña (107 pacientes frente a 205), como con una selección de variables con mayores saturaciones en los ejes factoriales de la primera solución (48 frente a 84).

Todos estos resultados en los cuales no encontramos una diferenciación clara entre individuos que permitiese su caracterización en relación a sus característica alérgicas alimentarias, nos hace pensar, como ya se señaló previamente, que nos

encontramos ante una matriz de datos compleja mediante la cual se pretende realizar un estudio transversal, pero en el que, a través -por ejemplo- de los historiales clínicos registrados, se contemplan aspectos longitudinales que las técnicas multivariantes, incluidas esta que presentamos, no son capaces de desentrañar.

Aspectos genéticos.

Como se ha comentado en varias ocasiones a lo largo del presente trabajo, en la actualidad se asume que en la alergia alimentaria influyen tanto factores genéticos como ambientales. Las reacciones alérgicas a los alimentos parecen presentarse con mayor frecuencia en individuos que padecen otras enfermedades atópicas²⁶³⁻²⁶⁵. Así como existen numerosos estudios sobre las bases genéticas del asma y la rinitis alérgica, aun no se ha descubierto ningún marcador genético que se relacione con la alergia a los alimentos. Los estudios genéticos de alergia alimentaria son complejos. A modo de ejemplo, Blanco y colaboradores investigaron el ligamiento de las moléculas de HLA clase II para el síndrome de látex-frutas en una población española empleando *tipaje* de DNA de alta resolución, estudiando 78 pacientes con alergia al látex sin espina bífida y 68 controles, y, al contrario que investigadores previos, que habían estudiado grandes poblaciones de pacientes alérgicos al látex, no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la población sensibilizada al látex y la población control^{266,267}. Sin embargo, si comparaban pacientes alérgicos a las frutas y pacientes tolerantes a las frutas sensibilizados al látex, los pacientes sensibilizados al látex revelaban hallazgos importantes. Analizando los alelos HLA DQ, encontraron que la presencia del alelo DQB1*0201 estaba asociada a una alta susceptibilidad para la reactividad a las frutas. La evaluación inicial de los alelos DRB1 no reveló asociaciones estadísticas, pero

cuando estos datos se analizaban reagrupando los alelos conocidos en siete grupos funcionales, como fue descrito por Ou y colaboradores¹³⁹, encontraron que la presencia de los alelos HLA-DRB1 que pertenecían al grupo “E” confirmaban la susceptibilidad a la alergia a las frutas. Estos hallazgos mejoraban cuando se calculaba la presencia o ausencia de un alelo específico. En este análisis concreto, DRB1*0301 y DRB1*0901 se identificaron como los alelos susceptibles, que aumentaban la probabilidad de padecer alergia a las frutas, mientras que DQB1*0202, DRB1*0701 y DRB1*1101 se identificaron como los alelos resistentes, que no provocaban alergia a las frutas²⁶⁶. Debido a que los determinantes HLA reconocen péptidos específicos, el análisis de los alelos HLA como determinantes genéticos de alergia alimentaria puede depender del reconocimiento de importantes péptidos que conducen a la activación de células T.

En nuestro estudio nos planteamos buscar si existía alguna asociación entre los SNP de distintos genes de las vías de los leucotrienos y prostaglandinas con la sensibilización a dos de los tres alimentos más frecuentemente implicados en la infancia. En este sentido hemos estudiado determinados polimorfismos de los genes *LTC4S*, *CYSLTR1* y *PTGDR*.

En cuanto al estudio del polimorfismo -444 A>C LTC4S, se observó una asociación entre el genotipo AC y la sensibilización a las proteínas del huevo, tanto respecto a los controles como respecto a los pacientes no sensibilizados a dichas proteínas. También se observó, en el caso de la APLOB, una asociación con una peor evolución en los pacientes sensibilizados a la leche, en concreto con la ausencia de tolerancia en el momento de finalizar el estudio y, de forma más débil, con la tolerancia tardía a este alimento, es decir, por encima a los 3 años. En el análisis estadístico ya habíamos observado que aquellos pacientes que toleraban de forma tardía la leche de vaca eran aquellos que también estaban sensibilizados simultáneamente a las proteínas

del huevo, si bien este resultado no alcanzó significación estadística. Por lo tanto podríamos sugerir que el genotipo AC estaría asociado a una peor evolución en cuanto a la sensibilización a las proteínas del huevo se refiere, y podría ser uno de los factores relacionados con que los niños sensibilizados simultáneamente al huevo fueran los que tardaran más en tolerar la leche. En este caso estaríamos ante una probable asociación con factores de mala evolución en los pacientes sensibilizados al huevo, y como consecuencia a la atopia en general, ya que consideramos que la sensibilización a las proteínas del huevo es el principal y más precoz marcador de atopia, como hemos podido observar según los resultados de este trabajo.

Como ya comentamos en la introducción, el gen *LTC4S* está localizado en el cromosoma 5q, en una región en la que se ubican también otros genes que están asociados con el asma y la atopia, aunque en la bibliografía se pueden encontrar resultados controvertidos en los diferentes trabajos que estudian la posible asociación entre el polimorfismo -444 A>C *LTC4S* y el fenotipo de asma^{157-159,161,268}. Sin embargo, hasta donde nosotros sabemos, esta es la primera vez que se sugiere una relación entre este polimorfismo y la alergia alimentaria.

En cuanto al polimorfismo 927 T>C *CYSLTR1* que, como ya comentamos en apartados anteriores, se localiza en el cromosoma X, es necesario analizar por separado a los hombres y a las mujeres. En nuestro trabajo, el estudio de la población femenina permitió detectar cierta asociación entre el genotipo TC y la sensibilización a las proteínas del huevo; sin embargo esta asociación no fue confirmada con el estudio de regresión por lo que debe de ser tomada con cautela. Por otro lado, en el grupo de los varones detectamos una relación entre el alelo C y la ausencia de sensibilización a los ácaros del polvo. El SNP 927T>C¹⁷⁰, uno de los más estudiados de este gen, fue descrito

por primera vez por Choi y colaboradores¹⁷⁰ y ha sido asociado con asma y dermatitis atópica en varones¹⁴⁹.

Por otra parte, los estudios que analizan polimorfismos aislados están obviando las interrelaciones con otros polimorfismos¹⁴¹ por lo que pueden proporcionar una información incompleta. Por ese motivo, en este estudio decidimos analizar la combinación de los dos polimorfismos porque se ha sugerido que, aunque la mayoría de los polimorfismos identificados tienen una influencia pequeña en las enfermedades multifactoriales, la combinación de polimorfismos genéticos tiene efectos funcionales mayores que las variantes individuales²⁶⁹. De esta manera, observamos que la combinación AC (A *LTC4S*, C *CYSLTR1*) en el grupo de pacientes de sexo femenino se asociaba con la sensibilización al huevo; este resultado está en concordancia con la observación antes comentada de que la presencia del alelo C de *CYSLTR1* en heterocigosis parece asociarse con la sensibilización al huevo en este grupo de pacientes. Sin embargo, es muy interesante comentar que la asociación de carácter protector detectada para el alelo C respecto a la presencia de sensibilización a los ácaros del polvo fue matizada al realizar el estudio de epistasia; de este modo, el estudio conjunto de *LTC4S* y *CYSLTR1* mostró cómo la asociación cambiaba de sentido en función del alelo de *CYSLTR1*. Este fenómeno ya había sido descrito previamente para otros estudios de asociación y recalca la necesidad de analizar los SNP en un contexto más amplio. En este sentido, muy recientemente, nuestro grupo de trabajo realizó un estudio en el que se analizó esta misma combinación génica en una población de niños (varones) con asma, y concluyó del mismo modo que el sentido de la asociación del SNP de *LTC4S* con asma y dermatitis atópica variaba en función del alelo del gen *CYSLTR1* con el que se encontraba combinado¹⁴⁸. Este fue el primer estudio publicado

de la combinación de éstos dos genes en población pediátrica y podría ayudar a explicar parte de las discrepancias que se detectan en los estudios de asociación.

Es muy interesante destacar la distinta tendencia a la asociación que se produce en relación con el sexo de los pacientes. La influencia del sexo ha sido previamente descrita en el asma y en la dermatitis atópica. Del mismo modo, DunnGalvin y colaboradores²⁷⁰ refieren diferencias en la alergia a los alimentos en cuanto al sexo e implican mecanismos fisiológicos en relación al denominado “dimorfismo inmune” en directa referencia a las diferencias en la regulación y respuesta inmune según el sexo. En este sentido, se han asociados factores hormonales como los estrógenos, que deprimen la respuesta T y aumentan la producción de anticuerpos. En un estudio reciente se observó que los ratones hembra desarrollaban una respuesta más exacerbada a la estimulación con ovoalbúmina en aerosol que los ratones macho²⁷¹. Estas diferencias han llevado a sugerir que el sexo debería ser una variable de obligada inclusión en todos los estudios de alergia a los alimentos. En nuestro estudio está claro que la localización en el cromosoma X del SNP de *CYSLTR1* contribuye a determinar las diferencias en cuanto al sexo y que, probablemente, dichas diferencias estén relacionadas con la presencia de una segunda copia de dicho gen en el caso de las mujeres.

En cuanto a los resultados obtenidos con *PTGDR*, observamos una asociación entre el polimorfismo -197T>C y la sensibilización a la leche o al huevo; en concreto más del 77% de los pacientes con genotipo TC estaban sensibilizados a alguno de los dos alimentos en comparación con el 22% de los controles. Como ya se ha comentado anteriormente, el gen *PTGDR* ha sido relacionado con el asma y la atopia^{177,178}. Se ha comprobado que este receptor es necesario para el desarrollo de asma en animales de experimentación¹⁷⁹. Oguma y colaboradores¹⁴⁰ fueron los primeros en observar una

asociación entre los polimorfismos T-549C, C-441T y T-197C de la región promotora del gen *PTGDR* y el riesgo de desarrollar asma. Por su parte, Zhu y colaboradores¹⁸⁰ realizaron un estudio que evidenció una asociación significativa entre los polimorfismos de *PTGDR* con los fenotipos de asma; no obstante, existe aún cierta controversia al respecto. El distinto origen étnico de las poblaciones estudiadas puede influir en las discrepancias de los resultados observados con otros estudios^{272,273}. Nuestro grupo de trabajo ha descrito una asociación entre -197T>C y el asma, y más recientemente¹⁴², analizó un nuevo polimorfismo en la región promotora de *PTGDR*, el -613C>T, que hasta donde nosotros sabemos no había sido estudiado previamente. No se han realizado estudios de asociación de *PTGDR* con la alergia a los alimentos.

Por otra parte, en el grupo de los pacientes sensibilizados al huevo se observó una asociación entre el polimorfismo -549 T>C *PTGDR* y la evolución de la dermatitis atópica. El genotipo TC se observó con una frecuencia superior en los pacientes en los que desapareció la dermatitis atópica a lo largo de la evolución frente a los que la mantuvieron. En relación con la dermatitis atópica, Park y colaboradores²⁷⁴ describieron una asociación significativa entre HLA-DRB1*1101 y la dermatitis atópica y una asociación débil entre HLA-DRB1*1501 y una susceptibilidad a padecerla. Observaron también una relación entre HLA-DRB1*0802 con una protección frente al desarrollo de la alergia al huevo y la dermatitis atópica.

Del mismo modo que para los estudios de epistasia, los estudios de haplotipos complementan a los de asociación en los que los polimorfismos se analizan de forma individualizada. En nuestro estudio se observó una tendencia a la asociación entre la distribución global de los diplotipos y el desarrollo posterior de sensibilización a los frutos secos, observándose que el diplotipo CCCT CTCT de asociaba con presentar

sensibilización a los frutos secos de forma estadísticamente significativa en comparación con el resto de diplotipos.

La alergia a los frutos secos, en concreto al cacahuete, es la alergia alimentaria que más ha sido estudiada. Esto se debe a su elevada incidencia, sobre todo en los Estados Unidos²⁶⁴. Además se estima que en el Reino Unido^{275,276} es el alimento que más reacciones alérgicas graves produce²⁷⁷. Los niños que están sensibilizados a los frutos secos y en concreto a los cacahuetes padecen con mayor frecuencia enfermedades atópicas, presentando mayor incidencia de eccema, asma y rinitis²⁷⁸⁻²⁸⁰. Se han descrito estudios en animales de experimentación sobre la posible inducción de alergia al cacahuete a través de modificaciones genéticas y ambientales. Sicherer y colaboradores demostraron que la expresión de la alergia al cacahuete tenía una clara base genética^{281,282}. Donovan y colaboradores²⁸³ concluyeron que a pesar de que la genética juega un claro papel en la expresión del fenotipo de la alergia alimentaria, el resto de las contribuciones deberían proceder del ambiente y del azar. Se ha evaluado distintos polimorfismos en diversos genes con la alergia a los alimentos en general o a un alimento concreto, como *STAT6* (frutos secos)²⁸⁴, genes del sistema HLA (cacahuete y frutos secos en general)^{138,285}, *SPINK5* (alergia alimentaria)¹³⁷ o CD14 (alergia alimentaria, si bien existe aún cierta controversia^{286,287}).

Los resultados obtenidos en los estudios de asociación génica deben interpretarse con mucha cautela, ya que los resultados positivos en la detección de variaciones genéticas que estén contribuyendo al desarrollo de enfermedades alérgicas pueden estar influidos por muchos factores. Debe tenerse especial cuidado en la caracterización de los fenotipos a estudiar y en la aplicación de las normas de control de calidad en la realización de los trabajos en el laboratorio^{288,289}. En nuestro trabajo los pacientes estaban bien caracterizados y seguimos las guías de la buena práctica de la

European Molecular Genetics Quality Network (EMQN). Por otro lado, es fundamental controlar estrictamente los resultados estadísticos. En ese sentido en este estudio se ha realizado un análisis de la probabilidad de emitir un resultado positivo falso. La probabilidad de emitir un resultado positivo falso fue inferior al 10% para una probabilidad *a priori* del 0,1 para la asociación del polimorfismo de *LTC4S* y los factores de mala evolución como la ausencia de tolerancia a las proteínas de leche, así como para el estudio combinado de *CYSLTR* y *LTC4S* y el estudio de asociación de *PTGDR* con dermatitis atópica. El estudio de diplotipos de *PTGDR* relacionado con frutos secos también presentó un FPRP inferior al 10%. Por otro lado, la realización de múltiples comparaciones ha de ser corregida en estos estudios. En estos casos, la aplicación de la corrección de Bonferroni permitiría seleccionar aquellos resultados con una significación inferior y más exigente que, en este caso, coinciden con los de menor FPRP. Sin embargo, estos no son los únicos aspectos que se debe considerar ya que el tamaño muestral es fundamental para calcular el poder estadístico del estudio. En los casos en los que el FPRP fue superior al 10% y el nivel de significación, aunque superó el 0,05 no superó la corrección de Bonferroni, el poder estadístico no alcanzó el 80%, lo que refuerza la idea de que estos resultados precisan ser confirmados en poblaciones más amplias.

Comentarios al estudio.

La obra del hombre es imperfecta por naturaleza, por lo que siempre es aconsejable e incluso necesario realizar una reflexión crítica sobre el propio trabajo. En este sentido, hemos realizado una valoración de los principales puntos que consideramos como más problemáticos.

En el presente estudio se han evaluado sensibilizaciones a la leche y al huevo y no reacciones alérgicas, por lo que el diagnóstico se ha basado en una historia clínica sugerente junto con pruebas intraepidérmicas y valores de IgE positivos, sin recurrir a la prueba de provocación diagnóstica. Aunque algunos autores piensan que la prueba de provocación oral es la prueba áurea en el diagnóstico de la alergia a los alimentos, hay otros que opinan que no es necesaria para el diagnóstico, ya que consume mucho tiempo y dinero, es molesta tanto para el paciente como para su familia y no está exenta de riesgo. En un estudio realizado en el Hospital La Paz de Madrid²⁹⁰, se aplicó un protocolo diagnóstico de alergia a la leche consistente en la realización de una historia clínica detallada, las correspondientes pruebas intraepidérmicas y la determinación de IgE específica para las proteínas de la leche o el huevo. No se realizaba la prueba de provocación si el paciente presentaba IgE específica para la leche o sus proteínas igual o superior a 3 kU/l por su alto valor predictivo positivo⁴⁰. Algunos autores han encontrado una buena correlación entre los niveles de IgE específica y los resultados de las pruebas de provocación^{45,119}. En la APLOB se ha observado que un nivel de IgE específica para leche superior a 2,5 kU/l tiene un VPP del 90 %, por lo que en la población con prevalencia de APLOB del 44 %, con valores de IgE para leche iguales o superiores a 2,5 kU/l no sería necesario llevar a cabo la provocación, si bien estos puntos de corte varían en los diferentes estudios²⁹¹. Por ejemplo, en lo que a las proteínas del huevo se refiere, la EAACI ha propuesto que *“la provocación oral debe ser evitada en aquellos*

casos en los que las pruebas positivas la hagan innecesaria, como es el caso de los niños con pruebas cutáneas positivas frente al huevo e IgE específica con unos valores de 0,35-17,5 kUA/L, ya que la probabilidad en estos casos de presentar una prueba de tolerancia oral positiva supera el 95%²⁹². Por lo tanto los niveles de IgE en concreto en población pediátrica se han considerado una prueba útil en el diagnóstico de APLOB y un método útil para predecir la tolerancia oral. Por este motivo, como apuntaban García-Ara y Martorell en sus respectivos estudios^{55,56}, podría verse suprimida la necesidad de realizar pruebas de tolerancia oral en un número significativo de pacientes, y proponerla solo en aquellos casos en los que aun siendo la historia clínica muy sugerente, tanto las pruebas cutáneas como la IgE específica sean negativas. García-Ara y colaboradores realizaron un estudio retrospectivo que confirmó que los pacientes con niveles más elevados de IgE específica eran más propensos a presentar pruebas de provocación oral positivas, incluso cuando se les administraba pequeñas cantidades de leche, por lo que Martorell propone monitorizar los niveles de IgE específica durante el seguimiento del paciente para predecir el momento idóneo de la tolerancia. Por este motivo, Marseglia y colaboradores propugnan que a pesar de que la prueba de provocación oral es una herramienta importante para realizar el diagnóstico de APLOB, la historia clínica junto a las pruebas cutáneas y los valores de IgE específica podrían ser suficientes para alcanzar éste diagnóstico, especialmente en niños menores de 2,5 años⁵⁷. Alonso y colaboradores²⁸ ya propusieron hace unos años, en una sesión de actualización sobre alergia alimentaria en niños, que desde el punto de vista práctico una prueba cutánea y una IgE específica positivas junto con un episodio clínico reciente resulta diagnóstico de alergia y permite obviar la prueba de provocación. Aún así, en el presente trabajo hemos querido extremar la prudencia, por lo que se ha considerado siempre el término “sensibilización” en lugar de “alergia”, tanto en el caso de la leche

como en el del huevo, sobre todo para evitar confusiones a la hora de exponer nuestros resultados, por ejemplo en el caso de análisis de la tolerancia a dichos alimentos.

Otro aspecto que hay que considerar es que no se ha dispuesto de un grupo control de niños no sensibilizados a los que se les hubiera realizado el mismo seguimiento. Sin obviar que hubiera sido de gran utilidad, hay que especificar que para el análisis descriptivo de la población no resulta necesario, precisamente por su propia naturaleza descriptiva. Por otro lado, para el análisis genético sí se ha dispuesto de una población control, en este caso de adultos para permitir que las posibles enfermedades atópicas se hubieran manifestado en el momento del estudio, cosa que no hubiera sucedido en el caso de emplear una población control de la misma edad. Este aspecto ya se ha comentado en el apartado de discusión de los datos correspondientes a la ingestión de ácido fólico durante el embarazo, donde se ha referido la notable influencia que ejerce la edad en el análisis de los datos. Por último, para obviar esta falta de grupo control en el análisis de la evolución de las sensibilizaciones, hemos utilizado al grupo de niños alérgicos a la leche como control del grupo de niños alérgico. Ya se han comentado, a este respecto, los datos bibliográficos que describen que el huevo se comporta como el principal marcador de futuras sensibilizaciones. Pero además, el análisis de correlación canónica no lineal diferenciaba claramente estas dos poblaciones, que se comportaban de manera muy diferente, por lo que pensamos que los resultados se pueden asumir.

Por último, un tercer punto de comentario, ligado fundamentalmente al análisis genético es el tamaño muestral y las comparaciones múltiples. Los estudios de asociación genética para la detección de variantes que contribuyan a la aparición de enfermedades tan complejas como la atopia deben ser considerados con precaución por cuanto intervienen múltiples factores. Los estudios de asociación exigen unos fenotipos

muy bien definidos y la aplicación de procedimientos de laboratorio, control de calidad y análisis estadístico muy rigurosos, con la finalidad de evitar asociaciones genéticas espurias. En este sentido, como se indica previamente, hemos sido exquisitamente cuidadosos en cuanto al procesado y manejo de las muestras y muy exigentes en cuanto al análisis estadístico. Además, para cada análisis se ha realizado el FPPR y se ha calculado el poder estadístico, por lo que pensamos que hemos manejado correctamente los posibles errores de tipo I y de tipo II inherentes a los estudios de estas características.

7. CONCLUSIONES



7. CONCLUSIONES

PRIMERA.

Nuestra población de niños sensibilizados a la leche y/o al huevo presenta unas características clínico-biológicas y evolutivas similares a las de otras poblaciones descritas.

SEGUNDA.

La exposición al humo del tabaco durante la gestación o en las primeras etapas de la vida y el padecimiento de bronquiolitis o sibilancias asociadas a infecciones respiratorias se asocian con una mayor probabilidad de desarrollar asma en un futuro.

TERCERA.

La asistencia a la guardería se asocia a un mayor riesgo de desarrollar sensibilización a los ácaros, y el hecho de habitar en un domicilio con humedad se asocia una mayor probabilidad de desarrollar sensibilización a los ácaros y a los hongos.

CUARTA.

Los pacientes sensibilizados exclusivamente a las proteínas del huevo se comportan de manera diferente a los sensibilizados exclusivamente a las proteínas de la leche de vaca, ya que desarrollan un mayor porcentaje de sensibilizaciones a los aeroalérgenos en general y a los pólenes en particular, así como un mayor porcentaje de dermatitis atópica y asma alérgica.

QUINTA

Se puede considerar la sensibilización al huevo como un marcador de desarrollo futuro de sensibilizaciones a aeroalérgenos y de dermatitis atópica y enfermedades respiratorias alérgicas, por lo que consideramos que, desde el punto de vista alergológico, estos niños precisan un seguimiento evolutivo prolongado.

SEXTA

Los niños sensibilizados exclusivamente a la leche de vaca alcanzan la tolerancia antes que los sensibilizados exclusivamente al huevo, sin que hayamos encontrado en nuestro estudio ningún factor implicado que justifique esta diferencia. Cabe señalar, no obstante, que los niños que presentan sensibilización simultánea a la leche y al huevo alcanzan la tolerancia al primero de los alimentos a una edad significativamente superior.

SÉPTIMA

En nuestra población existe cierta asociación entre los polimorfismos estudiados y algunas características clínico-biológicas de los pacientes. La presencia del alelo C del polimorfismo -444 A>C de LTC4S se relaciona con características de peor pronóstico, como la sensibilización al huevo o la no tolerancia a las proteínas de la leche de vaca.

OCTAVA

El estudio combinado de -444 A>C de LTC4S y 927T>C de CYSLTR1 proporciona una información más completa sobre la asociación génica, en especial en relación con el posterior desarrollo de sensibilidad a los ácaros en varones. La distinta influencia del

sexo sobre estas asociaciones podría estar explicada, entre otros factores, por la localización del gen *CYSLTR1* en el cromosoma X.

NOVENA

El polimorfismo -549 T>C del gen *PTGDR* podría estar relacionado con el posterior desarrollo de dermatitis atópica. La asociación con la sensibilización a los frutos secos observada en el estudio de diplotipos deberá ser confirmada en estudios más amplios.

8. BIBLIOGRAFÍA



8. BIBLIOGRAFÍA

1. Martín Esteban M, Boné Calvo J, Martorell Aragonés A, Nevot Falcó S, Plaza Martín AM. Adverse reactions to cow's milk proteins. *Allergol Immunopathol.* 1998; 26(4): 171-94.
2. Moneret-Vautrin DA. Allergie au lait de vache. *Allergie et Immunologie.* 1999; 6: 201-9.
3. Johansson SGO, Hourricane JOB, Bousquet J, Bruijnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T, et al. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy.* 2001; 56(9): 813-24.
4. Host A. Frequency of cow's milk allergy in childhood. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2002; 89(6 suppl 1): 33-7.
5. Sanz Ortega J, Martorell A, Michavilla A, Nieto A. Grupo de Trabajo para Alergia Alimentaria. Estudio de la incidencia mediada por IgE frente a la proteína de leche de vaca en el primer año de vida. *Ann Esp Pediatr.* 2000; 54(6): 536-9.
6. Garcia Ara MC, Boyano MT, Díaz Pena JM, Martín Muñoz F, Pascual C, García Sanchez G, Martín Esteban M. Incidencia de Alergia a leche de vaca y su repercusión en el consumo de hidrolizados en la Comunidad de Madrid. *An Pediatr.* 2003; 56: 100-5.
7. Alergia a alimentos. En: SEAIC- Alergia e Inmunología Abelló S.A. Factores epidemiológicos, clínicos y sociológicos de las enfermedades alérgicas en España. 1995; p.163-83.
8. Crespo J F, Pascual C, Burks AW, Helm RM, Esteban MM. Frequency of food allergy in a pediatric population from Spain. *Pediatr Allergy Immunol* 1995; 6(1): 39-43.
9. Crittenden RG, Bennett LE. Cow's milk allergy: a complex disorder. *J Am Coll Nutr.* 2005; 24(6 Suppl): 582S-91S.
10. De Jong MH, Scharp-van der Linden V, Aalberse RC, Oosting J, Tijssen J P, de Groot C J. Randomised controlled trial of brief neonatal exposure to cow's milk on the development of atopy. *Arch Dis Child.* 1998; 79(2): 126-30.
11. Saarinen KM, Juntunen-Backman K, Jarvenpaa A-L, Kuitunen P, Lope L, Renlund M, et al. Supplementary feeding in maternity hospitals and the risk of cow's milk allergy: A prospective study of 6209 infants. *J Allergy Clin Immunol.* 1999; 104 (2 Pt 1): 457-61.
12. Saarinen KM, Savilahti E. Infant feeding patterns affect the subsequent immunological features in cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy.* 2000; 30: 400-6.
13. Saarinen KM, Varala O, Klemetti P, Savilathi E. Transforming growth factor-beta 1 in mother's colostrums and immune responses to cow's milk proteins in infants with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 1999; 104(5): 1093-8.
14. Böttcher MF, Jenmalm MC, Garofalo RP, Björkstén B. Cytokines in breast milk from allergic and nonallergic mothers. *Pediatr Res.* 2000; 47(1): 157-62.
15. Wal JM. Cow's milk proteins/allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2002; 89(6 suppl 1): 3-10.
16. Savilahti E, Kuitunen M. Allergenicity of cow milk proteins. *J Pediatr.* 1992; 121: 12-20.
17. Docena GH, Fernández R, Chirido FG, Fossati CA. Identification of casein as the major allergenic and antigenic protein of cow's milk. *Allergy.* 1996; 51(6): 412-6.

18. Takagi K, Teshima R, Okunuki H, Sawada J. Comparative study of in vitro digestibility of food proteins and effect of preheating on the digestion. *Biol Pharm Bull.* 2003; 26(7): 969-73.
19. Rytönen J, Karttunen TJ, Karttunen R, Valkonen KH, Jenmalm MC, Alatosava T, et al. Effect of heat denaturation on beta-lactoglobulin-induced gastrointestinal sensitization in rats: denatured beta-LG induces a more intensive local immunologic response than native beta-LG. *Pediatr Allergy Immunol.* 2002; 13(4): 269-77.
20. Restani P, Gaiaschi A, Plebani A, Beretta B, Velona T, Cavagni G, et al. Evaluation of the presence of bovine proteins in human milk as a possible cause of allergic symptoms in breast-fed children. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2000; 84: 353-60.
21. Chatchatee P, Järvinen K, Bardina L, Vila L, Beyer K, Sampson H. Identification of IgE and IgG binding epitopes on Beta and alfa casein in cow's milk allergic patients. *Clin Exp Allergy.* 2001; 31: 1256-62.
22. Werfel S, Cooke SK, Sampson HA. Clinical reactivity to beef in children allergic to cow's milk. *J Allergy Clin Immunol.* 1997; 99(3): 293-300.
23. Restani P, Beretta B, Fiocchi A, Ballabio C, Galli CL. Cross-reactivity between mammalian proteins. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2002; 89(6 Suppl1): 11-5.
24. Fiocchi A, Restani P, Riva E, Qualizza R, Bruni P, Restelli Ar, Galli Cl. Meat allergy: Specific IgE to BSA and OSA in atopic beef sensitive children. *J Am Coll Nutr.* 1995; 14(3): 239-44.
25. Kanny G, Hautelocque C, Moneret-Vautrin D. Food anaphylaxis to bovine serum albumin. *J Allergy Clin Immunol.* 1998; 101(1): 137-40.
26. Alonso E, Martín MF, Martorell A, Rico MA. Alergia a proteínas de leche de vaca. En: Ibáñez MDP. *Alergia a alimentos. Monografía del comité de reacciones adversas a alimentos de la SEAIC.* Barcelona: EUROMEDICE; 2004. p. 27-49.
27. Vaswani SK, Sampson HA, Chang B, Hamilton RG. Adult-onset sensitization to casein after occupational exposure to aerosolized Tryptone powder. *J Allergy Clin Immunol.* 1999; 104: 1108-9.
28. Alonso E, Fernández L, Somoza ML. Alergia a leche y huevo en niños. *Alergol Inmunol Clin.* 2001; 6: 96-110.
29. Sampson H, Sicherer S. Eczema and food Hypersensitivity. *Immunol Allergy Clin North Am.* 1999; 19(3): 496-518.
30. Jones S. Triggers of atopic dermatitis. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2002; 22(1): 55-72.
31. Iacono G, Carroccio A, Cavataio F, Montalto G, Kazmierska I, Lorello D, et al. Gastroesophageal reflux and cow's milk allergy in infants: A prospective study. *J Allergy Clin Immunol.* 1996; 97(8): 822-7.
32. Salvatore S, Vandenplas Y. Gastroesophageal reflux and cow milk allergy: Is there a link? *Pediatrics.* 2002; 110(5): 972-84.
33. Ibáñez MD, Martínez M, Muñoz MC, Rosales MJ, Alonso E, Laso MT. Valoración de las pruebas diagnósticas en alergia a alimentos. *Allergol Immunopathol.* 1996; 24:6-17.
34. Coombs RRA, Holgate ST. Allergy and cot death: with special focus on allergic sensitivity to cow's milk and anaphylaxis. *Clin Exp Allergy.* 1990; 20(4): 359-66.
35. Alvarado MI, Alonso E, G^a Alvarez M, Ibáñez MD, Laso MT. Persistencia de sensibilización a proteínas de leche de vaca: estudio clínico. *Allergol Immunopathol.* 2000; 28: 189-92.

36. Aas K, Backman A, Belin L, Weeke B. Standardization of allergen extracts with appropriate methods. The combined use of skin prick testing and radio-allergosorbent tests. *Allergy*. 1978; 33(3): 130-7.
37. Bjorksten F, Haahtela T, Backman A, Suoniemi I. Assay of the biologic activity of allergen skin test preparations. *J Allergy Clin Immunol*. 1984; 73(3): 324-31.
38. Sampson HA. Comparative study of commercial food antigen extracts for the diagnosis of food hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol*. 1988; 82(5 Pt 1): 718-26.
39. Norgaard A, Skov P S, Bindslev-Jensen C. Egg and milk allergy in adults: comparison between fresh foods and commercial allergen extracts in skin prick test and histamine release from basophils. *Clin Exp Allergy*. 1992; 22: 940-7.
40. García-Ara MC, Boyano-Martinez MT, Díaz-Pena JM, Martín-Muñoz F, Reche-Frutos M, Martín-Esteban M. Specific IgE levels in the diagnosis of immediate hypersensitivity to cow's milk protein in the infant. *J Allergy Clin Immunol*. 2001; 107(1): 185-90.
41. Eigenmann PA, Sampson HA. Interpreting skin prick tests in the evaluation of food allergy in children. *Pediatr Allergy Immunol*. 1998; 9(4): 186-91.
42. James J M, Sampson H A. Immunologic changes associated with the development of tolerance in children with cow milk allergy. *J Pediatr*. 1992; 121: 371-7.
43. Martín-Muñoz F, Díaz Pena JM, García Ara MC, Boyano T, Pascual C, Blanca M, Martín Esteban M. Factores predictivos de tolerancia en niños con alergia alimentos. *Alergología Inmunología Clínica*. 2001; 6: Extr. 2: 126-33.
44. Sicherer SH, Sampson HA. Cow's milk protein- specific IgE concentrations in two age groups of milk-allergic children and in children achieving clinical tolerance. *Clin Exp Allergy*. 1999; 29: 507-12.
45. Sampson HA, Ho DG. Relationship between food -specific IgE concentrations and the risk of positive food challenges in children and adolescents. *J. Allergy Clin Immunol*. 1997; 100: 444-51.
46. García M, Boyano M, Belver M, Diaz J, Quirce S. Dosis de provocación positiva con leche de vaca y niveles de IgE específica para leche. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2008; 18: 131-172.
47. Isolauri E, Turjanmaa K. Combined skin prick and patch testing enhances identification of food allergy in infants with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 1996; 97(1 Pt 1): 9-15.
48. Niggemann B, Reibel S, Wahn U. The atopic patch test (APT) a useful tool for the diagnosis of food allergy in children with atopic dermatitis. *Allergy*. 2000; 55(3): 281-5.
49. Majamaa H, Turjanmaa K, Kautiainen H, Hala K, Moisiö P. Cow's milk allergy: diagnostic accuracy of skin prick and patch tests and specific IgE. *Allergy*. 1999; 54(4): 346-51.
50. Giménez Camarasa JM. *Dermatitis de Contacto*. 1999 Ed. Aula médica, pag 80-81.
51. Martorell A, García C, Febrer I, Rodríguez M, de la Cuadra J. Implicación de la alergia a alimentos en la dermatitis atópica. *Alergología Inmunopatología Clínica*. 2001; 6 extr 2: 86-94.
52. De Boissieu D, Dupont C. Archives de pédiatrie. Allergie au lait de vache non IgE-médiée. *Archives de pédiatrie* 13. 2006: 1471-1473.
53. Vanto T, Koivikko A, Valovirta E, Juntunen-Backman K, Klemola T, Syvänen P, et al. The patch test, skin prick test, and serum milk-specific IgE as diagnostic tools in cow's milk allergy in infants. *Allergy*. 1999; 54(8): 837-842.

54. Moreno A, Alonso E, Beitia JM, Rico P, Zapatero L, Martínez M I. Utilidad del test de frotamiento en el diagnóstico de alergia alimentaria. *Alergología Inmunología Clínica*. 2002; 17 Extr 2: 208.
55. García-Ara MC, Boyano MT, Díaz-Pena JM, Quirce S. Eliciting doses of positive challenge test in cow's milk allergy are related to cow's milk specific IgE levels. *Allergol et Immunopathol*. 2008; 36(6): 315-9.
56. Martorell A, García-Ara MC, Plaza AM, Boné J, Nevot S, Echeverría L, et al. The predictive value of specific immunoglobulin E levels in serum for the outcome of development of tolerance in cow's milk allergy. *Allergol et Immunopathol*. 2008; 36(6): 325-30.
57. Marseglia GL, Caimmi D, Caimmi S, Castellazzi AM. Cow's milk allergy: how to deal with it. *Allergol et Immunopathol*. 2008; 36(6): 313-4.
58. Vázquez S, Reig I, Cano S, Rodríguez P, Martínez C, Fernández M. Determinación de niveles umbrales en pacientes alérgicos a huevo. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2008; 18: 131-172.
59. Plaza A M, Martín Mateos MA, Giner MT, Sierra JI. Challenge testing in children with cow milk protein allergy. *Allergol Immunopathol*. 2002; 29(2): 50-4.
60. Sampson HA, Zeiger RS, Bock SA, Burks AW. Prevalence of soy allergy in young children with milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 1997; 99:1S490:1989.
61. Pedrón C, Alonso E. Reacciones adversas a proteínas de leche de vaca. *Inf Ter Sist Nac Salud*. 2002; 26: 141-151.
62. Bauer A, Ekanayake S, Wigger-Alberti W, Eisner P. Oral rush desensitisation to milk. *Allergy*. 1999; 54: 894-5.
63. Poisson A, Thomas G, Jean -Landis N, Giaufre E. Accoutumance rapide par voie orale au lait de vache dans un cas d'allergie alimentaire sévère chez l'enfant. *Alergie Immunol*. 1988; 20: 67-8.
64. Patriarca G, Schiavino D, Nucera E, Schinco G, Milani A, Gasbarrini GB. Food Allergy in children: Results of a standardized protocol for oral desensitization. *Hepato-Gastroenterology*. 1998; 45(19): 52-58.
65. Patriarca G, Nucera E, Roncallo C, Pollastrini E, Bartolozzi F, De Pasquale T, et al. Oral desensitizing treatment in food allergy: clinical and immunological results. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003; 17(3): 459-65.
66. Martorell A, Perez C, Cerdá JC, Ferriols E, Vila R Alvarez V. Inducción de tolerancia clínica en alérgicos a leche de vaca. *Allergol Immunopathol*. 2002; 30: 183-5.
67. Zapatero L, Alonso E, Molero MI. Desensibilización oral a leche en niños. *Allergol Immunopathol*. 2005; 33(Sup 1): 59-60.
68. Félix R, Martorell A, Cerdá JC, El-Qutob D, Morales C. Desensibilización oral en pauta lenta en dos pacientes altamente sensibilizados a proteínas de leche de vaca. *Allergol e Immunol*. 2005; 20:193.
69. Meglio P, Bartone E, Plantamura M, Arabito E, Giampietro PG. A protocol for oral desensitization in children with IgE-mediated cow's milk allergy. *Allergy*. 2004; 59(9): 980-7.
70. Félix R, Martorell A, Cerdá JC, El-Qutob D, Morales C. Seguimiento de tres años en pacientes desensibilizados a proteínas de la leche de vaca. *Allergol e Immunol*. 2005; 20:193.
71. Zapatero L, Alonso E, Dávila G, Martínez MI. Tolerancia a la leche de vaca en niños incluidos en un protocolo de desensibilización. 2006; *JIACI*: 138.

72. Ojeda P, Ojeda I, García a, Pineda F, Ojeda JA. Tratamiento de desensibilización en pacientes en edad pediátrica alérgicos a proteínas de leche. 2006; JIACI: 139.
73. Beyer K, Wahn U. Oral Immunotherapy for food allergy in children. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2008; 8(6): 553-556.
74. Burks AW, Laubach S, Jones SM. Oral tolerance, food allergy, and immunotherapy: implications for future treatment. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 121(6):1344-1350.
75. De Boisseu D, Dupont C. Sublingual immunotherapy for cow's milk protein allergy: a preliminary report. *Allergy*. 2006; 6(10): 1238-9.
76. Host A. Clinical course of cow's milk protein allergy and intolerance. *Pediatr Allergy Immunol* 1998; 9 (suppl1): 48-52.
77. Alvarado M I, Alonso E, Alvarez M MG, Ibáñez MD, Muñoz MC, Laso MT. Sensibilización persistente a proteínas de leche de vaca. *Estudio Clínico. Alergol Immunopatol Clín*. 2000; 15: Extr 3: 19-20.
78. García MC, Boyano T, Martín M, Martín E, Díaz JM, Ojeda JA. Actitud terapéutica y pronóstico en la alergia a alimentos. *Allergol Immunopathol*. 1996; 24(Suppl 1): 31-5.
79. García-Ara MC, Boyano-Martínez MT, Díaz-Pena JM, Martín-Muñoz MF, Martín-Esteban M. Cow's milk-specific immunoglobulin E levels as predictors of clinical reactivity in the follow-up of the cow's milk allergy infants. *Clin Exp Allergy*. 2004; 34(6): 866-79.
80. Vanto T, Helppilä S, Juntunen-Backman K, Kalimo K, Klemola T, Korpela R, Koskinen P. Prediction of the development of tolerance to milk in children with cow's milk hypersensitivity. *J Pediatr*. 2004; 144(2): 218-22.
81. Järvinen KM, Chatchatee P, Bardina L, Beyer K, Sampson HA. IgE and IgG epitopes on alpha-lactalbumina and beta-lactoglobulina in cow's milk allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2001; 126: 111-8.
82. Kulig M, Bergmann R, Tacke U, Wahn U, Guggenmoos-Holzmann I. Long-lasting sensitization to food during the first two years precedes allergic airway disease. The MÁS Study Group, Germany. *Pediatr Allergy Immunol* 1998; 9: 61-7.
83. Bishop JM, Hill D J, Hosking C S. Natural history of cow milk allergy: Clinical outcome. *J Pediatr*. 1990; 116(6): 862-7.
84. Host A, Jacobsen HP, Halken S, Holmenlund D. The natural history of cow's milk protein allergy/intolerance. *Eur J Clin Nutr*. 1995; 49 Suppl 1: S13-8.
85. Kramer MS. Maternal antigen avoidance during pregnancy for preventing atopic disease in infants of women at high risk (Cochrane Review). In: *The Cochrane Library*, Issue 1 ,1999.
86. Elx BM, Müller-Teicher G, Vandenplas Y. Preventive possibilities within the context of cow's milk allergy. *ACI International*. 2000; 12(2): 68-76.
87. Steinman H. "Hidden" allergens in foods. *J Allergy Clin Immunol*. 1996; 98: 241-250.
88. Rance F, Kanny G, Dutau G, Moneret-Vautrin DA. Food hypersensitivity in children: Clinical aspects and distribution of allergens. *Pediatr Allergy Immunol*. 1999; 10(1): 33-8.
89. Tariq SM, Matthews SM, Hakim EA, Arshad SH. Egg allergy in infancy predicts respiratory allergic disease by 4 years of age. *Pediatr Allergy Immunol*. 2000; 11(3): 162-167.

90. Kemeny DM, Price JF, Richardson V, Richards D, Lessof MH. The IgE and IgG subclass antibody response to foods in babies during the first year of life and their relationship to feeding regimen and the development of food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 1991; 87(5): 920-9.
91. Hattevig G, Kjellman B, Johansson SG, Björkstén B. Clinical symptoms and IgE responses to common food protein in atopic and healthy children. *Clin Allergy.* 1984; 14(6): 551-9.
92. Cant A, Marsden RA, Kilshaw PJ. Egg and cow's milk hypersensitivity in exclusively breast fed infants with eczema, and detection of egg protein in breast milk. *Br Med J.* 1985; 291(6500): 932-5.
93. Van Asperen PP, Kemp AS, Mellis CM. Immediate food hypersensitivity reactions on the first known exposure to the food. *Arch Dis Child.* 1983; 58(4): 253-6.
94. Monti G, Muratore MC, Peltran A, Bonfante G, Silvestro L, Oggero R, et al. High incidence of adverse reactions to egg challenge on first known exposure in young atopic dermatitis children: predictive value of skin prick test and radioallergosorbent test to egg proteins. *Clin Exp Allergy.* 2002; 32(10): 1515-9.
95. Anet J, Back JF, Baker RS, Barnett D, Burley RW, Howden MEH. Allergens in the white and yolk of hen's egg. A study of IgE binding by egg proteins. *Int Arch Allergy Immunol.* 1985; 77(3): 364-371.
96. Walsh BJ, Barnett D, Burley RW, Elliott C, Hill DJ, Howden ME. New allergens from Hen's egg white and egg yolk. In vitro study of ovomucin, apovitellenin I and VI, and phosvitin. *Int Arch Allergy Immunol.* 1988; 87(1):81-86.
97. Bernhisel-Broadbent J, Dintzis H, Dintzis R, Sampson H. Allergenicity and antigenicity of chicken egg ovomucoid (Gald III) compared with ovoalbumin (Gall d I) in children with egg allergy and in mice. *J Allergy Clin Immunol.* 1994; 93: 1047-59.
98. Urisu A, Ando H, Morita Y, Wada E, Yasaki T, Yamada K, et al. Allergic activity of heated and ovomucoid-depleted egg white. *J Allergy Clin Immunol.* 1997; 100(2): 171-176.
99. Järvinen KM, Beyer K, Vila L, Bardinal L, Mishoe M, Sampson HA. Specificity of IgE antibodies to sequential epitopes of hen's egg ovomucoid as a marker for persistence of egg allergy. *Allergy.* 2007; 62(7): 758-65.
100. Urisu A, Yamada K, Tokuda R, Ando H, Wada E, Kondo Y, et al. Clinical significance of IgE binding activity to enzymatic digests of ovomucoid in the diagnosis and the prediction of the outgrowing of egg white hypersensitivity. *Int Arch Allergy Immunol.* 1999; 120(3):192-8.
101. Fremont S, Kanny G, Nicolas JP, Moneret- Vautrin DA. Prevalence of lysozyme sensitization in an egg allergic population. *Allergy.* 1997; 52(2): 224-8.
102. Pichler WJ, Campi P. Allergy to lysozyme/egg white-containing vaginal suppositories. *Ann Allergy.* 1992; 69(6): 521-5.
103. Szepefalusi Z, Ebner C, Pandjaitan R, Orlicek F, Scheiner O, Boltz-Nitulescu G, et al. Egg yolk alpha-livetin (chicken serum albumin) is a cross-reactive allergen in the bird-egg syndrome. *J Allergy Clin Immunol.* 1994; 93: 932-42.
104. Anibarro B, Garcia-Ara C, Ojeda JA. Bird-egg syndrome in childhood. *J Allergy Clin Immunol.* 1993; 92(4): 628-30.
105. Anibarro Bausela B, Martin Esteban M, Martinez Alzamora F, Pascual Marcos C, Ojeda Casas JA. Egg protein sensitization in patients with bird feather allergy. *Allergy.* 1991; 46(8): 614-8.
106. De Blay F, Hoyet C, Candolfi E, Thierry R, Pauli G. Identification of alpha livetin as a cross reacting allergen in a bird-egg syndrome. *Allergy Proc.* 1994; 15(2): 77-8.

107. Quirce S, Marañón F, Umpierrez A, de las Heras M, Fernandez-Caldas E, Sastre J. Chicken serum albumin (Gal d 5*) is a partially heat-labile inhalant and food allergen implicated in the bird-egg syndrome. *Allergy*. 2001; 56(8): 754-62.
108. Langeland T. A clinical and immunological study of allergy to hen's egg white. IV. Specific IGE-antibodies to individual allergens in hen's egg white related to clinical and immunological parameters in egg-allergic patients. *Allergy*. 1983; 38(7): 493-500.
109. Añibarro B, Seoane FJ, Vila C, Lombardero M. Allergy to eggs from duck and goose without sensitization to hen egg proteins. *J Allergy Clin Immunol*. 2000; 105(4): 834-6.
110. Kelso JM, Cockrell BS, Helm R, Burks AW. Common allergens in avian meats. *J Allergy Clin Immunol*. 1999; 104(1): 202-4.
111. Martínez JC, Domínguez FJ, Fuentes MJ. Angioedema due to sensitization to chicken meat. *Allergol Immunopathol*. 2003; 31(1): 50-2.
112. Liccardi G, Szépfalusi Z, Noschese P, Nentwich I, D'Amato M, D'Amato G. Allergy to chicken meat without sensitization to egg proteins: A case report. *J Allergy Clin Immunol*. 1997; 100(4): 577-9.
113. Ford RP, Taylor B. Natural history of egg hypersensitivity. *Arch Dis Child*. 1982; 57(9): 649-52.
114. Boyano MT, Martín M, Díaz JM, Ojeda JA. Alergia a alimentos en el niño. I. Clínica y diagnóstico. *An Esp Pediatr*. 1987; 26: 235-40.
115. Sampson HA, Sacanlon SM. Natural history of food hypersensitivity in children with atopic dermatitis. *J Pediatr*. 1989; 115: 23-7.
116. Sporik R, Hill D J, Hosking C S. Specificity of allergen skin testing in predicting positive open food challenges to milk, egg and peanut in children. *Clin Exp Allergy*. 2000; 30(11): 1540-6.
117. Knight AK, Shreffler WG, Sampson HA, Sicherer SH, Noone S, Mofidi S, et al. Skin prick test to egg white provides additional diagnostic utility to serum egg white -specific IgE antibody concentration in children. *J Allergy Clin Immunol*. 2006; 117(4): 842-7.
118. Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2001; 107(5): 891-6.
119. Boyano Martínez T, García-Ara C, Díaz-Pena JM, Muñoz FM, García Sánchez G, Esteban MM. Validity of specific IgE antibodies in children with egg allergy. *Clin Exp Allergy*. 2001; 31(9): 1464-9.
120. Boyano MT, García-Ara MC, Martín M, Martín MF, Díaz JM, Ojeda JA. Alergia al huevo: III. Validación de test diagnósticos. *Allergol Immunopathol* 1999; 27: 115.
121. Martorell A, Alonso E, Martín MF. Alergia al huevo. En: Ibáñez MDP. Alergia a alimentos. Monografía del comité de reacciones adversas a alimentos de la SEAIC. Barcelona: EUROMEDICE; 2004. p. 51-64.
122. Zeiger RS, Heller S. The development and prediction of atopy in high-risk children: follow-up at age seven years in a prospective randomized study of combined maternal and infant food allergen avoidance. *J Allergy Clin Immunol*. 1995; 95(6): 1179-90.
123. Schoetzau A, Gehring U, Grübl A, Koltzko S, von Berg A, Berdel D, et al. Maternal compliance with nutritional recommendations in an allergy preventive programme. *Arch Dis Child*. 2002(3); 86: 180-4.

124. Real Decreto 2220/2004, de 26 de noviembre, por el que se modifica la norma general de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios, aprobada por el Real Decreto 1334/1999, de 31 de julio. BOE 27 Nov 2004: 39355-7.
125. Martorell A, Boné J, Garcia MC, Nevot S, Plaza AM. Alergia a las proteínas del huevo. Documento de posición. *Allergol Immunopathol.* 2001; 29: 84-95.
126. Zeiger R. Current issues with influenza vaccination in egg allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 110: 834-40.
127. Buchanan AD, Green TD, Jones SM, Scurlock AM, Christie L, Althage KA, et al. Egg oral immunotherapy in nonanaphylactic children with egg allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2007; 119(1): 199-205.
128. Staden U, Rolinck-Werninghaus C, Brewe F, Wahn U, Niggemann B, Beyer K. Specific oral tolerance induction in food allergy in children: efficacy and clinical patterns of reaction. *Allergy.* 2007; 62(11): 1261-69.
129. Han DK, Kim MK, Yoo JE, Choi SY, Kwon BC, Sohn MH, et al. Food sensitization in infants and young children with atopic dermatitis. *Yonsei Medical Journal.* 2005; 45(5): 803-9.
130. Kulig M, Bergmann R, Klettke U, Wahn V, Tacke U, Wahn U. Natural course of sensitization to food and inhalant allergens during the first 6 years of life. *J Allergy Clin Immunol.* 1999; 103(6): 1173-9.
131. Nickel R, Kulig M, Forster J, Bergmann R, Bauer CP, Lau S, et al. Sensitization to hen's egg at the age of twelve months is predictive for allergic sensitization to common indoor and outdoor allergens at the age of three years. *J Allergy Clin Immunol.* 1997; 99(5): 613-7.
132. Rhodes HL, Sporik R, Thomas P, Holgate ST, Cogswell JJ. Early life risk factors for adult asthma: A birth cohort study of subjects at risk. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 108(5): 720-5.
133. Fenech A, Hall IP. Pharmacogenetics of asthma. *Br J Clin Pharmacol.* 2002; 53(1): 3-15.
134. Xu J, Meyers DA, Ober C, Blumenthal MN, Mellen B, Barnes KC et al. Genomewide screen and identification of gene-gene interactions for asthma-susceptibility loci in three U.S. populations: collaborative study on the genetics of asthma. *Am J Hum Genet.* 2001; 68(6):1437-1446.
135. Ober C, Tsalenko A, Parry R, Cox NJ. A second-generation genomewide screen for asthma-susceptibility alleles in a founder population. *Am J Hum Genet* 2000; 67(5):1154-1162.
136. Gao PS, Huang SK. Genetic aspects of asthma. *PANMINERVA MED* 2004; 46:121-34.
137. Takashi Kusunoki, Ikuo Okafuji, Takakazu Yoshioka et al. SPINK5 polymorphism is associated with disease severity and food allergy in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2005; 115(3): 636-8.
138. Hand S, Darke C, Thompson J, Stingl C, Rolf S, Jones K.P, Davies B.H. Human leucocyte antigen polymorphism in nut-allergic patients in South Wales. *Clin Exp Allergy.* 2004; 34(5): 720-4.
139. Ou D, Mitchell LA, Tingle AJ. A new categorization of HLA DR alleles on a functional basis. *Hum Immunol.* 1998; 59: 665-67.
140. Oguma T, Palmer LJ, Birben E, Sonna LA, Asano K, Lilly CM. Role of prostanoid DP receptor variants in susceptibility to asthma. *N Engl J Med.* 2004; 351(17):1752-63.

141. Sanz C, Isidoro-García M, Dávila I, Moreno E, Laffond E, Avila C et al. Promoter genetic variants of prostanoid DP receptor (PTGDR) gene in patients with asthma. *Allergy*. 2006; 61(5), 543-548.
142. Sanz C, Isidoro-García M, Dávila I, de Pedro MP, Méndez Sde A, Padrón J, et al. A new PTGDR promoter polymorphism in a population of children with asthma. *Pediatr Allergy Immunol*. 2009; 20(2): 151-156.
143. Oguma T, Asano K, Ishizaka A. Role of Prostaglandin D2 and Its Receptors in the Pathophysiology of Asthma. *Allergology International*. 2008; 57(4): 307-312.
144. Kedda MA, Shi J, Duffy D, Phelps S, Yang I, O' Hara K, et al. Characterization of two polymorphisms in the leukotriene C4 synthase gene in an Australian population of subject with mild, moderate and severe asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 113(5):889-95.
145. Isidoro-García M, Dávila I, Laffond E, Moreno E, Lorente F, González-Sarmiento R. Interleukin-4 (IL4) and Interleukin-4 receptor (IL4RA) polymorphisms in asthma: a case control study. *Clinical and Molecular Allergy* 2005, 3:15.
146. Kabesch M, Tzotcheva I, Carr D, Hofler C, Weiland SK, Fritzsich C, et al. A complete screening of the IL4 gene: novel polymorphisms and their association with asthma and IgE in childhood. *J Allergy Clin Immunol*. 2003, 112(5):893-898.
147. Hershey GK, Friedrich MF, Esswein LA, Thomas ML, Chatila TA. The association of atopy with a gain-of-function mutation in the alpha subunit of the interleukin-4 receptor. *N Engl J Med*. 1997; 337(24): 1720-1725.
148. Arriba-Méndez S, Sanz C, Isidoro-García M, Pascual M, Ávila C, Dávila I, Lorente F. Analysis of 927T > C CYSLTR1 and -444A > C LTC4S polymorphisms in children with asthma. *Allergol et Immunopathol*. 2008; 36(5): 259-63.
149. Arriba-Mendez S, Sanz C, Isidoro-Garcia M, Davild I, Laffond E, Moreno E, Avila C, Lorente F. 927T>C polymorphism of the cysteinylleukotriene type-1 receptor (CYSLTR1) gene in children with asthma and atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol*. 2006; 17(5): 323-328.
150. Lam BK, Penrose JF, Freeman GJ, Austen KF. Expression of cloning of a c-DNA for human leukotriene C4 synthase, an integral membrane protein conjugating reduced glutathione to leukotriene A 4. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994; 91(16): 7663-7.
151. Penrose JF, Spector J, Baldasaro M, Xu K, Boyce J, Arm JP et al. Molecular cloning of the gene for human leukotriene C4 synthase. Organization, nucleotide sequence, and chromosomal localization to 5q35. *J Biol Chem*. 1996; 271(19): 11356-11361.
152. Tantisira KG, Weiss ST. Complex interactions in complex traits: obesity and asthma. *Thorax*. 2001; 56 Suppl 2: 64-73.
153. Pace-Asciak CR, Klein J, Spielberg SP. Metabolism of leukotriene A4 into C4 by human platelets. *Biochim Biophys Acta* 1986; 877(1):68-74.
154. Penrose JF, Gagnon L, Goppelt-Struebe M, Myers P, Lam BK, Jack RM et al. Purification of human leukotriene C4 synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992; 89(23): 11603-6.
155. Christmas P, Weber BM, McKee M, Brown D, Soberman RJ. Membrane localization and topology of leukotriene C4 synthase. *J Biol Chem*. 2002; 277(32): 28902-8.
156. Mayatepek E. Leukotriene C4 synthesis deficiency: a member of a probably underdiagnosed new group of neurometabolic diseases. *Eur J Pediatr*. 2000; 159(11): 811-8.

157. Sampson AP, Siddiqui S, Buchanan D, Howarth PH, Holgate ST, Holloway JW et al. Variant LTC(4) synthase allele modifies cysteinyl leukotriene synthesis in eosinophils and predicts clinical response to zafirlukast. *Thorax*. 2000; 55 Suppl 2:S28-31.:S28-S31.
158. Isidoro-Garcia M, Dávila I, Moreno E, Lorente F, Gonzalez-Sarmiento R. Analysis of the leukotriene C4 synthase A-444C promoter polymorphism in a Spanish population. *J Allergy Clin Immunol*. 2005; 115(1):206-207.
159. Sayers I, Barton S, Rorke S, Beghe B, Hayward B, Van Eerdewegh P et al. Allelic association and functional studies of promoter polymorphism in the leukotriene C4 synthase gene (LTC4S) in asthma. *Thorax*. 2003; 58(5):417-424.
160. Cowburn AS, Sladek K, Soja J, Adamek L, Nizankowska E, Szczeklik A et al. Overexpression of leukotriene C4 synthase in bronchial biopsies from patients with aspirin-intolerant asthma. *J Clin Invest*. 1998; 101(4):834-846.
161. Sanak M, Pierzchalska M, Bazan-Socha S, Szczeklik A. Enhanced expression of the leukotriene C(4) synthase due to overactive transcription of an allelic variant associated with aspirin-intolerant asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2000; 23(3):290-296.
162. Van Sambeek R, Stevenson DD, Baldasaro M, Lam BK, Zhao J, Yoshida S et al. 5' flanking region polymorphism of the gene encoding leukotriene C4 synthase does not correlate with the aspirin-intolerant asthma phenotype in the United States. *J Allergy Clin Immunol*. 2000; 106(1 Pt 1): 72-76.
163. Sanz C, Isidro-García M, Dávila I, Moreno E, Laffond E, Lorente F. Analysis of 927T > C CYSLTR1 and -444A > C LTC4S Polymorphisms in Patients with Asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2006; Vol. 16(6): 331-337.
164. Sayers I, Sampson AP, Ye S, Holgate ST. Promoter polymorphism influences the effect of dexamethasone on transcriptional activation of the LTC4 synthase gene. *Eur J Hum Genet*. 2003; 11(8):619-22.
165. Nicosia S, Capra V, Rovati GE. Leukotrienes as mediators of asthma. *Pulm Pharmacol Ther*. 2001; 14(1): 3-19.
166. Lynch KR, O'Neill GP, Liu Q, Im DS, Sawyer N, Metters KM et al. Characterization of the human cysteinyl leukotriene CysLT1 receptor. *Nature*. 1999; 399(6738): 789-93.
167. Sarau HM, Ames RS, Chambers J, Ellis C, Elshourbagy N, Foley JJ et al. Identification, molecular cloning, expression, and characterization of a cysteinyl leukotriene receptor. *Mol Pharmacol*. 1999; 56(3): 657-63.
168. Nicosia S, Capra V, Ravasi S, Rovati GE. Binding to Cysteinyl-leukotriene receptors. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000; 161(2): S46-S50.
169. Metters KM. Leukotriene receptors. *J Lipid Mediators Cell Signal*. 1995; 12(2-3): 413-27.
170. Choi JH, Park HS, Oh HB, Lee JH, Suh YJ, Park CS et al. Leukotriene-related gene polymorphisms in ASA-intolerant asthma: an association with a haplotype of 5-lipoxygenase. *Hum Genet* 2004; 114(4): 337-44.
171. Zhang J, Migita O, Koga M, Shibasaki M, Arinami T, Noguchi E. Determination of structure and transcriptional regulation of CYSLTR1 and an association study with asthma and rhinitis. *Pediatr Allergy Immunol*. 2006; 17(4): 242-49.
172. Kim SH, Oh JM, Kim YS, Palmer LJ, Suh CH, Nahm DH et al. Cysteinyl leukotriene receptor 1 promoter polymorphism is associated with aspirin-intolerant asthma in males. *Clin Exp Allergy*. 2006; 36(4):433-39.

173. Boie Y, Sawyer N, Slipetz DM, Metters KM, Abramovitz M. Molecular cloning and characterization of the human prostanoid DP receptor. *J Biol Chem.* 1995; 270(32): 18910-6.
174. O'Sullivan S, Roquet A, Dahlen B, Dahlen S, Kumlin M. Urinary excretion of inflammatory mediators during allergen-induced early and late phase asthmatic reactions. *Clin Exp Allergy.* 1998; 28(11): 1332-9.
175. Kostenis E, Ulven T. Emerging roles of DP and CRTH2 in allergic inflammation. *Trends Mol Med.* 2006; 12(4): 148-158.
176. Hirai H, Tanaka K, Yoshie O, Ogawa K, Kenmotsu K, Takamori Y, et al. Prostaglandin D2 selectively induces chemotaxis in T helper type 2 cells, eosinophils, and basophils via seven-transmembrane receptor CRTH2. *J Exp Med.* 193: 255-261.
177. Daniels SE, Bhattacharya S, James A, Leaves NI, Young A, Hill MR, et al. A genome-wide search for quantitative trait loci underlying asthma. *Nature.* 1996; 383(6597): 247-250.
178. Mansur AH, Bishop DT, Markham AF, Morton NE, Holgate ST, Morrison JF. Suggestive evidence for genetic linkage between IgE phenotypes and chromosome 14q markers. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999; 159(6): 1796-802.
179. Matsuoka T, Hirata M, Tanaka H, Takahashi Y, Murata T, Kabashima K, Prostaglandin D2 as a mediator of allergic asthma. *Science.* 2000; 287(5460): 2013-7.
180. Zhu G, Vestbo J, Lenney W, I. Zhu G, Vestbo J, Lenney W, Silverman M, Whyte M, Helms P, Anderson WH, Pillai SG Association of PTGDR gene polymorphisms with asthma in two Caucasian populations. *Genes and Immunity* 2007; 8(5): 398-403.
181. Eichenfield LF, Hanifin JM, Beck LA, Lemanske RF, Jr., Sampson HA, Weiss ST et al. Atopic dermatitis and asthma: parallels in the evolution of treatment. *Pediatrics.* 2003; 111(3):608-616.
182. Mullol J, Valero A, Alobid I, Bartra J, Navarro AM, Chivato T, Khaltaev N, Bousquet J. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma update (ARIA 2008). The perspective from Spain. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2008; 18(5):327-34.
183. Martinez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ. Asthma and wheezing in the first six years of life. The Group Health Medical Associates. *N Engl J Med.* 1995; 332: 133-8.
184. Bisgaard H, Szeffler S. Prevalence of asthma-like symptoms in young children. *Pediatr Pulmonol.* 2007; 42: 723-8.
185. Sardón O, Korta J, Pérez-Yarza EG. Bronchiolitis. *Ann Pediatr Contin.* 2007; 5: 332-42.
186. McConnochie KM. Bronchiolitis. What's in the name? *Am J Dis Child.* 1983; 173: 11-3.
187. Aguilar Fernández A, González-Álvarez MI, Villa-Asensi JR. ¿Cómo definen los padres los ruidos respiratorios en los lactantes? *Asma.* 2006; 13: 17-8.
188. Warner J, Naspitz C. Third International Pediatric Consensus Statement on the management of childhood asthma. *Pediatr Pulmonol.* 1998; 25: 1-17.
189. Busquets Monge RM, Sanchez SE, Pardos RL, Villa A, Jr., Sanchez JJ, Ibero IM et al. [SENPEICAP (Spanish Society of Pediatric Pneumology. Spanish Society of Pediatric Clinical Immunology and Allergology) consensus on asthma, pneumonology, and pediatric allergy (Draft)]. *Allergol Immunopathol.* 2004; 32(3): 104-118.
190. GEMA 2003. Guía española para el manejo el asma. Realizado por Ediciones Luzán, S.A. Capítulo 5. Página 12.

191. GEMA 2009. Guía española para el manejo el asma. Realizado por Ediciones Luzán, S.A. Capítulo 2. Página 40.
192. Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease. American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995; 152(5 Pt 2): S77-121.
193. Allergen standardization and skin tests. Position Paper EAACI subcommittee for allergen standardization and skin tests. *Allergy.* 1993; 48 (Supl. 14): 49-82.
194. Skin tests used in type I allergy testing Position paper. Sub-Committee on Skin Tests of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy.* 1989; 44 Suppl 10:1-59.
195. Shi YY, He L. SHEsis, a powerful software platform for analyses of linkage disequilibrium, haplotype construction and genetic association at polymorphism loci: *Cell Res.* 2005; Feb; 15(2): 97-97.
196. *Statistical Methods for Rates and Proportions* por Joseph L. Fleiss (Segunda Edición., 1981, John Wiley & Sons, NY), capítulo 3.
197. Wacholder S, Chanock S, Garcia-Closas M, El Ghormli L, Rothman N. Assessing the probability that a positive report is false: an approach for molecular epidemiology studies. *J Natl Cancer Inst.* 2004; 96(6):434-42.
198. García-Marcos L, Quirós AB, Hernández GG, Guillen-Grima F, Díaz CG, Urena IC, et al. Stabilization of asthma prevalence among adolescents and increase among schoolchildren (ISAAC phases I and III) in Spain. *Allergy.* 2004; 59: 1301-7.
199. Martínez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ. Asthma and wheezing in the first six years of life. The Group Health Medical Associates. *N Engl J Med.* 1995; 332(3): 133-8.
200. Ibáñez MD, Garde JM. Allergy in Patients Under Fourteen Years of Age in *Alergológica* 2005 *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2009; 19 Suppl 2:61-8.
201. Martín MF, Alonso E, Rico MA, Osorio A. Peculiaridades clínicas de la alergia a los alimentos de origen animal. En: Peláez A, Dávila IJ. *Tratado de Alergología.* 1ª Edición. Madrid: Ergon; 2007. p. 879-914.
202. Kulig M, Luck W, Lau S, Niggemann B, Bergmann R, Klettke U, et al. Effect of pre- and postnatal tobacco smoke exposure on specific sensitization to food and inhalant allergens during the first 3 years of life. *Allergy.* 1999; 54: 220-228.
203. Jaakkola JJ, Kosheleva AA, Katsnelson BA, Kuzmin SV, Privalova LI, Spengler JD. Prenatal and postnatal tobacco smoke exposure and respiratory health in Russian children. *Respir Res.* 2006; 7:48.
204. Hanrahan JP, Tager IB, Segal MR, Tosteson TD, Castile RG, Van Vunakis H, et al. The effect of maternal smoking during pregnancy on early infant lung function. *Am Rev Respir Dis.* 1992; 145(5): 1129-35.
205. Hoo AF, Henschen M, Dezateux C, Costeloe K, Stocks J. Respiratory function among preterm infants whose mothers smoked during pregnancy. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 158(3): 700-5.
206. Lodrup Carlsen KC, Jaakkola JJ, Nafstad P, Carlsen KH. In utero exposure to cigarette smoking influences lung function at birth. *Eur Respir J.* 1997; 10(8): 1774-9.
207. Gilliland FD, Berhane K, McConnell R, Gauderman WJ, Vora H, Rappaport EB, et al. Maternal smoking during pregnancy, environmental tobacco smoke exposure and childhood lung function. *Thorax.* 2000; 55(4): 271-6.

208. Macaubas C, de Klerk NH, Holt BJ, Wee C, Kendall G, Firth M, et al. Association between antenatal cytokine production and the development of atopy and asthma at age 6 years. *Lancet*. 2003; 362(9391): 1192-7.
209. Noakes PS, Holt PG, Prescott SL. Maternal smoking in pregnancy alters neonatal cytokine responses. *Allergy*. 2003; 58(10): 1053-8.
210. Devereux G, Barker RN, Seaton A. Antenatal determinants of neonatal immune responses to allergens. *Clin Exp Allergy*. 2002; 32: 43-50.
211. Noakes PS, Hale J, Thomas R, Lane C, Devadason SG, Prescott SL. Maternal smoking is associated with impaired neonatal toll-like receptor-mediated immune responses. *Eur Respir J*. 2006; 28: 721-9.
212. Martorell A, Plaza AM, Boné J, Nevot S, García-Ara MC, Echeverría L, et al. Cow's milk protein allergy. A multi-centre study: clinical and epidemiological aspects *Allergol et Immunopathol*. 2006; 34: 46-53.
213. Martín Esteban M. Alimentación y alergia. Nutrición profiláctica y terapéutica. Madrid: Saned; 1991: 95-112.
214. Ghisolfi J, Olives JP, Le Tallec C, Cohen J, Ser N. Milk feeding of infants and cow's milk protein hypersensitivity. *Arch Pediatr*. 1995; 2(6): 526-31.
215. García-Ara MC, Boyano T, Martín Esteban M, Martín Muñoz F, Díaz Pena JM, Ojeda Casa JM. Actitud terapéutica y pronóstico en la alergia a alimentos. *Allergol et immunopathol*. 1996; 24: 31-35.
216. James JM, Sampson HA. Immunologic changes associated with the development of tolerance in children with cow milk allergy. *J Pediatr*. 1992; 121(3): 371-7.
217. García-Ara MC, Boyano-Martínez MT, Díaz Pena JM, Martín Muñoz MF, Martín Esteban M. Cow's milk-specific immunoglobulin E levels as predictors of clinical reactivity in the follow-up of cow's milk allergy in infants. *Clin Exp Allergy*. 2004; 34: 866-70.
218. Liu MC, Bleecker ER, Lichtenstein LM, Kagey-Sobotka A, Niv Y, McLemore TL, et al. Evidence for elevated levels of histamine, prostaglandin D₂, and other bronchoconstricting prostaglandins in the airways of subjects with mild asthma. *Am Rev Respir Dis*. 1990; 142(1): 126-32.
219. Campeotto F, Waligora-Dupriet AJ, Doucet-Populaire F, Kalach N, Dupont C, Butel MJ. Establishment of the intestinal microflora in neonates. *Gastroenterol Clin Biol* 2007; 31(5): 533-42.
220. Schiffrin EJ, Blum S. Interactions between the microbiota and the intestinal mucosa. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56 Suppl 3: S60-4.
221. Annesi-Maesano I, Moreau D, Strachan D. In utero and perinatal complications preceding asthma. *Allergy*. 2001; 56:491-7.
222. Eggesbo M, Boten G, Stigum H, Nafstad P, Magnus P. Is delivery by cesarean section a risk factor for food allergy? *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112(2): 420-426.
223. Eggesbo M, Boten G, Stigum H, Samuelsen SO, Brunekreef B, Magnus P. Cesarean delivery and cow milk allergy/intolerance. *Allergy* 2005; 60(9): 1172-1173.
224. Sánchez-Valverde F, Gil F, Martínez D, Fernández B, Aznal E, Oscoz M, Olivera JE. The impact of caesarean delivery and type of feeding on cow's milk allergy in infants and subsequent development of allergic march in childhood. *Allergy* 2009; 64: 884-889.

225. Villalbí JR, Navarro A, Plasencia A. Variabilidad en la práctica de cesáreas. *Gac Sanit.* 1995; 9: 141-6.
226. Mohapatra SS, Boyapalle S. Epidemiologic, experimental, and clinical links between respiratory syncytial virus infection and asthma. *Clin Microbiol Rev.* 2008; 21(3): 495-504.
227. Carroll KN, Hartert TV. The impact of respiratory viral infection on wheezing illnesses and asthma exacerbations. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2008(3); 28:539-61.
228. Oh JW. Respiratory viral infections and early asthma in childhood. *Allergol Int.* 2006; 55: 369-72.
229. Singh AM, Moore PE, Gern JE, Lemanske RF Jr, Hartert TV. Bronchiolitis to asthma: a review and call for studies of gene-virus interactions in asthma causation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007; 175(2): 108-19.
230. Everard ML. The relationship between respiratory syncytial virus infections and the development of wheezing and asthma in children. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2006; 6: 56-61.
231. Sigurs N, Gustafsson PM, Bjarnason R, Lundberg F, Schmidt S, Sigurbergsson F, et al. Severe respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy and asthma and allergy at age 13. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 171(12): 137-141.
232. Xepapadaki P, Papadopoulos NG. Viral infections and allergies. *Immunobiology.* 2007; 212(6): 453-9.
233. Cobos N, Liñán S. Infecciones en la primera infancia: ¿beneficio o perjuicio en el asma? *Arch Bronconeumol* 2004;40(Supl 3):18-25 However, evidence on this hypothesis is not consistent as far as respiratory viruses are concerned.
234. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *Br Med J* 1989; 1259-1260.
235. Peat JK, Dickerson J, Li J. Effects of damp and mould in the home on respiratory health: a review of the literature. *Allergy* 1998; 53(2):120-8.
236. Hollingsworth JW, Maruoka S, Boon K, Garantziotis S, Li Z, Tomfhor J, et al. In utero supplementation with methyl donors enhances allergic airway disease in mice. *J Clin Invest* 2008; 118: 3462-9.
237. Haberg SE, London SD, Stigum H, Nafstad P, Nystad W. Folic acid supplements in pregnancy and early childhood respiratory health. *Arch Dis Child.* 2009; 94(6): 180-4.
238. Husemoen LL, Toft U, Fenger M, Jørgensen T, Johansen N, Linneberg A. The association between atopy and factors influencing folate metabolism: is low folate status causally related to the development of atopy? *Int J Epidemiol.* 2006; 35: 954-61.
239. Friso S, Choi SW, Girelli D, Mason JB, Dolnikowski GG, Bagley PJ, Olivieri O, Jacques PF, Rosenberg IH, Corrocher R, Selhub J. A common mutation in the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene affects genomic DNA methylation through an interaction with folate status. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99: 5606-11.
240. Granell R, Heron J, Lewis S, Davey SG, Sterne JA, Henderson J. The association between mother and child MTHFR C667T polymorphism, dietary folate intake and childhood atopy in a population-based, longitudinal birth cohort. *Clin Exp Allergy.* 2008; 38: 320-8.
241. Matsui EC, Matsui W. Higher serum folate levels are associated with a lower risk of atopy and wheeze. *J Allergy Clin Immunol.* 2009; 123: 1253-59.

242. Schroecksadel K, Frick B, Kaser S, Wirleitner B, Ledochowski M, Mur E, Herold M, Fuchs D. Moderate hyperhomocysteinaemia and immune activation in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta*. 2003; 338: 157-64.
243. Kurzawski M, Pawlik A, Safranow K, Herczynska M, Drozdik M. 677C>T and 1298A>C MTHFR polymorphisms affect methotrexate treatment outcome in rheumatoid arthritis. *Pharmacogenomics*. 2007; 8(11): 1551-9.
244. Connor SL, Ojeda LS, Sexton G, Weidner G, Connor WE. Diets lower in folic acid and carotenoids are associated with the coronary disease epidemic in Central and Eastern Europe. *J Am Diet Assoc* 2004; 104(12): 1793-9.
245. Klerk M, Verhoef P, Clarke R, Blom HJ, Kok FJ, Schouten EG. MTHFR 677C-->T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA*. 2002; 288(16): 2023-31.
246. Schäfer T, Böhler E, Ruhdorfer S, Weigl L, Wessner D, Heinrich J et al. Epidemiology of food allergy/food intolerance in adults: associations with other manifestations of atopy. *Allergy*. 2001; 56(12): 1172-9.
247. Hattevig G, Kjellman B, Björkstén B. Clinical symptoms and IgE responses to common food proteins and inhalants in the first 7 years of life. *Clin Allergy*. 1987; 17(6): 571-8.
248. Niggemann B, Sielaff B, Beyer K, Binder C, Wahn U. Outcome of double-blind, placebo-controlled food challenge test in 107 children with atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy*. 1999; 29: 91-96.
249. Hill DJ, Heine RG, Hosking CS, Brown J, Thiele L, Allen KJ et al. IgE food sensitization in infants with eczema attending a dermatology department. *J. Pediatr*. 2007; 151(4): 359-363.
250. Li XM, Kleiner G, Huang CK, Lee SY, Schofield B, Soter NA, Sampson HA. Murine model of atopic dermatitis associated with food hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol*. 2001; 107(4): 693-702.
251. Sandin A, Annus T, Björkstén B, Nilsson L, Riiikjäv MA, van Hage-Hamsten M, Bråbäck L. Prevalence of self-reported food allergy and IgE antibodies to food allergens in Swedish and Estonian schoolchildren. *Eur. J. Clin. Nutr*. 2005; 59(3): 399-403.
252. Pénard-Morand C, Raheison C, Kopferschmitt C, Caillaud D, Lavaud F, Charpin D, Bousquet J, Annesi-Maesano I. Prevalence of food allergy and its relationship to asthma and allergic rhinitis in schoolchildren. *Allergy*. 2005; 60(9): 1165-71.
253. Kanny G, Moneret-Vautrin DA, Flabbee J, Beaudouin E, Morisset M, Thevenin F. Population study of food allergy in France. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2001; 108(1): 133-140.
254. Host A, Halken S. The prospective study of cow's milk allergy in Danish infants during the first year of life. *Allergy*. 1990; 45(8): 587-96.
255. Host A, Halken S, Jacobsen HP, Christensen AE, Herskind AM, Plesner K. Clinical course of cow's milk protein allergy/intolerance and atopic diseases in childhood. *Pediatr. Allergy Immunol*. 2002; 13 (Suppl 15): 23-28.
256. Edelbauer M, Loibichler C, Nentwich I, Gerstmayr M, Urbanek R, Szepefalusi Z. Maternally delivered nutritive allergens in cord blood and in placental tissue of term and preterm neonates. *Clin Exp Allergy*. 2004; 34: 189-193.
257. Sopo SM, Pesaresi MA, Guerrini B, Federico G, Stabile A. Mononuclear cell reactivity to food allergens in neonates, children and adults. *Pediatr Allergy Immunol*. 1999; 10: 249-252.

258. Calder PC, Krauss-Etschmann S, de Jong Ec, Dupont C, Frick JS, Frokiaer H. Early nutrition and immunity-progress and perspectives. *Br J Nutr.* 2006; 96: 774-790.
259. Ricci G, Patrizi A, Baldi E, Menna G, Tabanelli M, Masi M. Long-term follow-up of atopic dermatitis: retrospective analysis of related risk factors and associations with concomitant allergic diseases. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2006; 55(5): 765-771.
260. Brandt EB, Scribner TA, Akei HS, Rothenberg ME. Experimental gastrointestinal allergy enhances pulmonary responses to specific and unrelated allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006; 118(2): 420-427.
261. Baena-Cagnani CE, Teijaro A. Role of food allergy in asthma and in childhood. *Curr. Opin. Allergy Clin Immunol.* 2001; 1(2): 145-149.
262. Dong Ki Han, Myung Kwan Kim, Jae Eun Joo et al. Food sensitization in infants and young children with atopic dermatitis. *Yonsei Medical Journal* 2005; 45: 803-9.
263. Sampson HA. Update on food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; 113: 805-19.
264. Burks W, Bannon GA, Sicherer S, Sampson HA. Peanut-induced anaphylactic reactions. *Int Arch Allergy Immunol.* 1999; 119(3): 165-72
265. Warner JO. Peanut allergy: a major public health issue. *Pediatr Allergy Immunol.* 1999; 10(1):14-20.
266. Blanco C, Sánchez-García F, Torres-Galván MJ, et al. Genetic basis of the latex-fruit syndrome: association with with HLA class II alleles in a Spanish population. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; 114: 1070-6.
267. Rish HP, Chen Z, Rueff F, Cremer R, Raulf-Heimsoth M, Baur X, et al. HLA-DQ8 and the HLA-DQ8-DR4 haplotype are positively associated with the hevein-specific IgE immune response in health care workers with latex allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110(3): 507-14.
268. Kawagishi Y, Mita H, Taniguchi M, Maruyama M, Oosaki R, Higashi N et al. Leukotriene C4 synthase promoter polymorphism in Japanese patients with aspirin-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109(6):936-942.
269. Cookson, W, Moffatt M. Making sense of asthma genes. *N Engl J Med.* 2004; 351(17):1794-6.
270. DunnGalvin A, Hourihane JO, Frewer L, Knibb RC, Oude Elberink JN, Klinge I. Incorporating a gender dimension in food allergy research: a review. *Allergy.* 2006; 61(11): 1336-43.
271. Melgert BN, Postma DS, Kuipers I, Geerlings M, Luinge MA, van der Strate BW, et al. Female mice are more susceptible to the development of allergic airway inflammation than male mice. *Clin Exp Allergy.* 2005 Nov; 35(11):1496-503.
272. Tsai YJ, Choudhry S, Kho J, Beckman K, Tsai HJ, Navarro D, et al. The PTGDR gene is not associated with asthma in 3 ethnically diverse populations. *J. Allergy Clin Immunol.* 2006; 118(6):1242-8. Epub 2006 Sep 26.
273. Noguchi E, Shibasaki M, Kamioka M, Yokouchi Y, Yamakawa- Kobayashi K, Hamaguchi H, et al. New polymorphisms of haematopoietic prostaglandin D synthase and human prostanoïd DP receptor genes. *Clin Exp Allergy.* 2002; 32(1): 93-96.
274. Park HY, Park MH, Ahn KM, Lee SIL. HLA-DRB1 polymorphism in atopic dermatitis with egg white allergy in korean children *World Allergy Organization Journal.* 2007; p. S139-S140.
275. Sicherer SH, Sampson HA. Peanut and tree nut allergy. *Curr Opin Pediatr.* 2000; 12: 567-573.

276. Emmett SE, Angus FJ, Fry JS, Lee PN. Perceived prevalence of peanut allergy in Great Britain and its association with other atopic conditions and with peanut allergy. *Allergy* 1999; 54:380-385.
277. Sampson HA, Mendelson L, Rosen JP. Fatal and near-fatal anaphylactic reactions to food in children and adolescents. *N Engl J Med* 1992; 327: 380-384.
278. Sicherer SH, Furlong TJ, Muñoz-Furlong A, Burks AW, Sampson HA. A voluntary registry for peanut and tree nut allergy: characteristics of the first 5149 registrants. *J Allergy Clin Immunol*. 2001; 108(1): 128-32.
279. Tariq SM, Stevens M, Matthews S, Ridout S, Twiselton R, Hide DW. Cohort study of peanut and tree nut sensitization by age of 4 years. *BMJ*. 1996; 313: 514-517.
280. Grundy J, Matthews S, Bateman B, Dean T, Arshad SH. Rising prevalence of allergy to peanut in children: data from 2 sequential cohorts. *J Allergy Clin Immunol*. 2002; 110(5): 784-89.
281. Sicherer SH, Furlong TJ, Maes HH, Desnick RJ, Sampson HA, Gelb BD. Genetics of peanut allergy: a twin study. *J Allergy Clin Immunol*. 2000; 106(1 Pt 1):53-6.
282. Hourihane JO, Dean TP, Warner JO. Peanut allergy in relation to heredity, maternal diet, and other atopic diseases: results of a questionnaire survey, skin prick testing, and food challenges. *BMJ*. 1996; 313: 518-21.
283. Donovan GR, Manolios N, Weiner JM, Grennan D, Huang Q, Dunckley H, Baldo BA. A family study of allergy: segregation with HLA but not with T-cell receptor genes. *J Allergy Clin Immunol*. 1996; 97(2): 712-3.
284. Amoli MM, Hanz S, Hajeer H, Jones KP, Rolf S, Sting C, Davies BH, Ollier WER. Polymorphism in the STAT6 gene encodes risk for nut allergy. *Genes and immunity*. 2002; 3(4): 220-224.
285. Howell WM, Turner SJ, Hourihane JO, Dean TP, Warner JO. HLA class II DRB1, DQB1 and DPB1 genotypic associations with peanut allergy: evidence from a family-based and case-control study. *Clin Exp Allergy*. 1998; 28:156-62.
286. Campos E, Shimojo N, Inoue Y, Arima T, Suzuki S, Tomiita M, et al. No Association of Polymorphism in the 5' region of the CD14 Gene and Food allergy in a Japanese population. *Allergology International*. 2007; 56: 23-27.
287. Woo JG, Assa'ad A, Heizer AB, Bernstein JA, Hershey GK. The -159 C ---T polymorphism of CD14 is associated with nonatopic asthma and food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 112:438-444.
288. Colhoun HM, McKeigue PM, Davey SG. Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet*. 2003 Mar 8; 361(9360):865-72.
289. Gomes I, Collins A, Lonjou C, Thomas NS, Wilkinson J, Watson M, Morton N. Hardy-Weinberg quality control. *Ann Hum Genet*. 1999; 63(Pt 6):535-8.
290. Garcia-Ara MC, Boyano Martinez MT, Diaz Pena JM, Martin Muñoz F, Pascual Marcos C, García Sánchez G, et al. Incidencia de alergia a proteínas de leche de vaca en el primer año de vida y su repercusión en el consumo de hidrolizados. *An Pediatr*. 2003; 58: 100-5.
291. Van der Guten AC, den Otter M, Meijer Y, Pasmans SG, Knulst AC, Hoekstra MO. Usefulness of specific IgE levels in predicting cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 121(2): 531-3.
292. Bindslev-Jensen C, Ballmer-Weber BK, Bengtsson U, Blanco C, Ebner C, Hourihane J, et al. European Academy of Allergology and Clinical Immunology. Standardization of food challenges

in patients with immediate reactions to foods-Position paper from the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy*. 2004; 59: 690-7.

9. ANEXOS



9. ANEXOS

9.1. ANEXO 1: PROTOCOLO DE RECOGIDAS DE DATOS.

PROTOCOLO DE RECOGIDA DE DATOS

APELLIDOS: _____

NOMBRE: _____

Sexo: Varón Mujer

Num. Historia Clínica: _____

Fecha de nacimiento: _____

Edad: _____ años

Peso: _____ kgr

Talla: _____ cm

Percentil peso: _____

Percentil talla: _____

Dirección: _____

Teléfono: _____

ANTECEDENTES PERSONALES

Embarazo:

- Normal
- Patológico _____

Parto:

- Eutócico
- Distócico _____

Nacimiento:

- A término
- Prematuro

Sufrimiento fetal SI NO

Distres respiratorio SI NO

Precisó ventilación SI NO

Intervenciones Quirúrgicas NO SI _____

Bronquiolitis/bronquitis espásticas SI NO

Enfermedades importantes:

- NO
- SI _____
- No sabe

Infecciones graves:

- NO
- SI _____
- No sabe

Otitis:

- NO
- SI
- No sabe

Amigdalitis:

- NO
- SI
- No sabe

Sinusitis:

- NO
- SI
- No sabe

ALIMENTACIÓN

Materna

- NO
- SI : menos de 4 meses más de 4 meses
mixta exclusiva

Fórmula adaptada

- Biberón "pirata" : NO
SI : aislado en periodos
No sabe

INTRODUCCIÓN ALIMENTACIÓN COMPLEMENTARIA

Cereales Fruta Verdura Carne Pescado Legumbres Huevo
_____ meses

CALENDARIO VACUNAL COMPLETO

SI NO faltan _____

RETRASO PONDERO-ESTATURAL SI NO

ENFERMEDADES ALÉRGICAS ASOCIADAS

- Conjunt NO No sabe SI
- Rinitis NO No sabe SI : leve moder-grave interm persist
- Asma NO No sabe SI : Episódica ocasional Episód frecuent
Persistente moderada Persist grave

- Infecciones con sibilancias SI NO No sabe
- Urticaria/angioedema agudo SI NO No sabe
- Urticaria/angioedema crónico SI NO No sabe
- Dermatitis atópica SI NO No sabe
- Alergia a medicamentos SI : _____ NO No sabe

OTROS ALERGENOS (prick)

- Pólenes SI NO
- Acaros SI NO
- Epitelios SI NO
- Hongos SI NO
- Cucaracha SI NO
- Latex SI NO
- Anisakis SI NO

ANTECEDENTES FAMILIARES

- ATOPIA Padre SI NO No sabe
Madre SI NO No sabe

ALERGIA ALIMENTOS Padre SI NO No sabe
Madre SI NO No sabe
Num. hermanos atópicos orden ___/___

OTROS DE INTERÉS NO SI : _____

FACTORES DE RIESGO AMBIENTAL

Fumó la madre durante el embarazo SI NO No sabe

Fuman actualmente padre SI NO

madre SI NO

Acudió a guardería NO SI desde los __meses hasta los __meses

Humedad en casa SI NO

Contacto con animales NO SI : animal de compañía

animal de granja

Vivienda piso granja/chalet

Zona de vivienda 1 _____

2 _____

3 _____

4 _____

5 _____

Otros factores de riesgo NO SI : _____

OTROS (Suplementos)

Tomó la madre ácido fólico?

NO SI : Antes del embarazo

Durante el embarazo

Toma el niño suplementos vitamínicos? NO SI

LECHE

Manifestaciones clínicas relacionadas SI NO

Edad de la reacción: ____ meses

1ª toma aparente SI NO

Tolerancia previa SI NO

Tiempo de tolerancia: ____ meses

Latencia:

Num. de reacciones

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

- Rechazo SI NO
- Síndrome oral SI NO
- Urticaria SI NO
- Angioedema SI NO
- Rinitis SI NO
- Conjuntivitis SI NO
- VRS SI NO
- VRI SI NO
- Mareo/astenia SI NO
- Pérdida de conocimiento SI NO
- Digestivas SI NO
- Agravamiento de la DA SI NO
- Riesgo vital SI NO
- Otros NO SI : _____

Duración de la reacción: _____ minutos

HUEVO

Manifestaciones clínicas relacionadas SI NO

Edad de la reacción: ____ meses

1ª toma aparente SI NO

Tolerancia previa SI NO

Tiempo de tolerancia: ____ meses

Latencia:

Num. de reacciones

Problemas con la vacuna TV NO SI : _____

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

- Rechazo SI NO
- Síndrome oral SI NO
- Urticaria SI NO
- Angioedema SI NO
- Rinitis SI NO
- Conjuntivitis SI NO
- VRS SI NO
- VRI SI NO
- Mareo/astenia SI NO
- Pérdida de conocimiento SI NO
- Digestivas SI NO
- Agravamiento de la DA SI NO
- Riesgo vital SI NO
- Otros NO SI : _____

Duración de la reacción: _____ minutos

TRATAMIENTO NO SI : domiciliario urgencias

- Antihistamínico SI NO
- Esteroides SI NO
- β 2 SI NO
- Anti LT SI NO
- Corticoides orales SI NO
- Adrenalina SI NO

INMUNOTERAPIA

NO SI : _____

ESTUDIO ALÉRGICO

Fecha 1ª visita:

Tiempo desde la última reacción: _____ meses

- Test cutáneos
 - Leche
 - Lactoalbúmina
 - Lactoglobulina
 - Caseína
 - Huevo
 - Clara
 - Yema
 - Ovoalbúmina
 - Ovomucoide

- Ig E total:

- IgE específica
 - Leche
 - Lactoalbúmina
 - Lactoglobulina
 - Caseína
 - Huevo
 - Clara
 - Yema
 - Ovoalbúmina
 - Ovomucoide
 - Conalbúmina

FECHA VISITA INTERMEDIA:

- Test cutáneos
 - Leche
 - Lactoalbúmina
 - Lactoglobulina
 - Caseína
 - Huevo
 - Clara
 - Yema
 - Ovoalbúmina
 - Ovomucoide
- Ig E total:
- IgE específica
 - Leche
 - Lactoalbúmina
 - Lactoglobulina
 - Caseína
 - Huevo
 - Clara
 - Yema
 - Ovoalbúmina
 - Ovomucoide
 - Conalbúmina

- Provocación NO
 - SI negativa
 - positiva

- Cutaneas SI NO
- Respirat. SI NO
- Digestivas SI NO
- Dermatitis SI NO
- Cardiovasc SI NO

TOLERANCIA ACTUAL DEL ALIMENTONO SI :

- Edad de tolerancia: _____ años
- Tiempo transcurrido desde la primera reacción: _____ meses
- Test cutáneos en tolerancia
 - Leche
 - Lactoalbúmina
 - Lactoglobulina
 - Caseína
 - Huevo
 - Clara
 - Yema
 - Ovoalbúmina
 - Ovomucoide

- IgE específica en tolerancia
 - Leche
 - Lactoalbúmina
 - Lactoglobulina
 - Caseína
 - Huevo
 - Clara
 - Yema
 - Ovoalbúmina
 - Ovomucoide
 - Conalbúmina

EVOLUCIÓN

Visita nº: _____

- Conjuntivit. NO No sabe SI
- Rinitis NO No sabe SI : leve moder-grave interm persist
- Asma NO No sabe SI : Episódica ocasional Episód frecuente
Persistente moderada Persist grave
- Urticaria/angioed NO SI edad: ___años tº desde diag. ___meses
- Dermatitis atópica NO SI edad: ___años tº desde diag. ___meses

SENSIBILIZACIONES POSTERIORES

Pólenes NO SI edad: ___años tº desde diag. _____meses
Ácaros NO SI edad: ___años tº desde diag. _____meses
Hongos NO SI edad: ___años tº desde diag. _____meses
Epitelios NO SI edad: ___años tº desde diag. _____meses
Látex NO SI edad: ___años tº desde diag. _____meses
Pescados NO SI edad: ___años tº desde diag. _____meses
Mariscos NO SI edad: ___años tº desde diag. _____meses
Legumbres NO SI edad: ___años tº desde diag. _____meses
Frutos secos NO SI edad: ___años tº desde diag. _____meses
Cereales NO SI edad: ___años tº desde diag. _____meses

DIAGNOSTICO DEFINITIVO: _____

Tiempo de evolución en años: _____

Evolución mala según atopia: NO SI

Clínica	VISITA 1 Meses:	VISITA 2 Meses:	VISITA 3 Meses:	VISITA 4 Meses:
Rinoconjuntivitis				
Asma				
Urtic/angioedema				
Dermat. Atópica				
Sensib. neumoalerg.				
Pólenes				
Ácaros				
Hongos				
Epitelios				
Sensib. alimentos				
Pescados				
Mariscos				
Frutos secos				
Cereales				
Estudio alérgico				
Prick				
IgE total				
IgE específica				

9.2. ANEXO 2: VARIABLES DE LA BASE DE DATOS.

ABSOLUTAIgE: si alguna de las 3 mediciones tiene IgE >100
 ACARO: alergia a ácaros primera visita
 ACFOL: tomo la madre ac fólico en el embarazo
 ACFOL: tomo la madre ac fólico en embarazo
 ACFOL2: si tomo ac fólico en SI o NO
 ALIMADRE: si la madre tiene alergia a alimentos
 ALIMAT: si la madre le dio el pecho
 ALIMPADRE: si el padre tiene alergia a alimentos
 AMBTAB: si alguien dentro de casa fuma
 Amigdal: si ha padecido amigdalitis
 ANIM: si tiene contacto con animales
 ASMA1: si presentaba asma en la primera visita
 ASMA12: si presentaba asma en la primera visita SI o NO
 ATOPMADRE: la madre tiene/ha tenido atopia
 ATOPPADRE: el padre tiene/ha tenido atopia
 BIBPIR: si le dieron biberón pirata
 Bronq: si ha padecido bronquiolitis y/o bronquitis espásticas
 C441T: polimorfismo 441 de PTG
 C613T: polimorfismo 613 de PTG
 CARN: Fecha Introducción de carne en meses
 CASOCONTR: si es un caso o un control
 CER: Fecha Introducción de cereales en meses
 CIgECAS1: clase de IgE caseína en primera visita
 CIgECASM: clase de IgE caseína en visita intermedia
 CIgECAST: clase de IgE caseína en tolerancia
 CIgECLAR1: clase de IgE clara en primera visita
 CIgECLARM: clase de IgE clara en visita intermedia
 CIgECLARM: IgE clara en visita intermedia
 CIgECLART: clase de IgE clara en tolerancia
 CIgECON1: clase de IgE conalbúmina en primera visita
 CIgECONM: clase de IgE conalbúmina en visita intermedia
 CIgECONT: clase de IgE conalbúmina en tolerancia
 CIgEGLOT: clase de IgE lactoglobulina en tolerancia
 CIgEHUE1: clase de IgE huevo en primera visita
 CIgEHUEM: clase de IgE huevo en visita intermedia
 CIgEHUET: clase de IgE huevo en tolerancia
 CIgEL1: clase de IgE leche en primera visita
 CIgELALB1: clase de IgE lactoalbúmina en primera visita
 CIgELALBM: lactoalbúmina en visita intermedia
 CIgELALBT: clase de IgE lactoalbúmina en tolerancia
 CIgELGLO1: clase de IgE lactoglobulina en primera visita
 CIgELGLOM: clase de IgE lactoglobulina en visita intermedia
 CIgELM: clase de IgE leche en visita intermedia
 CIgELT: clase de IgE leche en tolerancia
 CIgEOVOAL1: clase de IgE ovoalbúmina en primera visita
 CIgEOVOALM: clase de IgE ovoalbúmina en visita intermedia
 CIgEOVOALT: clase de IgE ovoalbúmina en tolerancia

CIgEOVOM: clase de IgE ovomucoide en visita intermedia
 CIgEOVOM1: clase de IgE ovomucoide en primera visita
 CIgEOVOMT: clase de IgE ovomucoide en tolerancia
 CIgET1: clase de IgE total en primera visita
 CIgETM: clase de IgE total en visita intermedia
 CIgETT: clase de IgE total en tolerancia
 CIgEYEM: clase de IgE yema en primera visita
 CIgEYEMM: clase de IgE yema en visita intermedia
 CIgEYEMT: clase de IgE yema en tolerancia
 CONJ1: si presentaba conjuntivitis en la primera visita
 CREC: si tiene retraso estatura-ponderal
 CYS: polimorfismo CYSLTR1
 DA: dermatitis atópica primera visita
 Distresp: si tuvo distrés respiratorio
 EASMA: si ha desarrollado asma en la evolución
 ECONJ: si ha desarrollado conjuntivitis en la evolución
 EDA: si ha presentado dermatitis atópica
 EDAALERG: si ha presentado dermatitis atópica
 EDAALERGNEUMOERG: si ha presentado dermatitis atópica
 EDAALERGTRFO: si ha presentado dermatitis atópica
 Edad: edad en años en el momento actual
 EDASMA: edad a la que presento asma en años
 EDCONJ: Edad a la que ha presentado conjuntivitis en años
 EDDA: edad a la que presento dermatitis en años
 EDRIN: Edad a la que ha presentado rinitis en años
 EDSACAR: edad a la que se ha sensibilizado en años a acaros
 EDSCER: edad a la que se ha sensibilizado en años a cereales
 EDSEPIT: edad a la que se ha sensibilizado en años a epitelios
 EDSFRUSEC: edad (años) a la que se ha sensibilizado a frutos secos
 EDSFRUVER: edad a la que se ha sensibilizado en años a frutas
 EDSHONG: edad a la que se ha sensibilizado en años a hongos
 EDSLAT: edad a la que se ha sensibilizado en años a látex
 EDSLEG: edad a la que se ha sensibilizado en años a legumbres
 EDSMAR: edad a la que se ha sensibilizado en años a mariscos
 EDSPESEC: edad a la que se ha sensibilizado en años a pescados
 EDSPOL: edad a la que se ha sensibilizado en años a pólenes
 EDUAE: edad a la que presento urticaria/angioedema en años
 EGUARD: edad a la que fue a la guardería en meses
 EGUARD: meses que ha estado en la guardería
 EI: si ha padecido otras enfermedades importantes
 Emb: si el embarazo fue normal o patológico
 EPIT: alergia a epitelios primera visita
 ERIN: si ha desarrollado rinitis en la evolución
 ETOLH: edad a la que ha tolerado el huevo en años
 ETOLL: edad a la que tolera la leche en años
 EUAE: si ha presentado urticaria/angioedema
 FPV: Fecha de la primera visita
 FRUT: Fecha Introducción de frutas en meses
 FVM: fecha de una visita intermedia en el estudio
 GUARD: acudió a la guardería

HADR: adrenailna
HAH1: antihistamínico habitual
HALT: antileucotrieno
HB2: beta2 habitual
HCADA: clínica agravamiento de la dermatitis atópica
HCAE: clínica de angioedema
HCCONJ: clínica de conjuntivitis
HCD: clínica digestiva
HCI: Corticoide inhalado habitual
HCLIN: manifestaciones clínicas en relación con el huevo
HCM: clínica mareo o cansancio
HCO: otras manifestaciones clínicas
HCORO: corticoide oral habitual
HCORT: corticoide tópico habitual
HCPC: clínica pérdida de conocimiento
HCR: clínica de rechazo
HCRIN: clínica de rinitis
HCRV: clínica de riesgo vital con el huevo
HCSO: clínica de síndrome oral
HCU: clínica de urticaria
HCVRI: clínica de vías respiratorias inferiores
HCVRS: clínica de vías respiratorias superiores
HERM: edad de la reacción en meses
HERMATOP2: si tiene algún hermano atópico
HINTP: si ha recibido inmunoterapia y con que
HONGO: alergia a hongos primera visita
HPT: reacción fue en la primera toma aparente
HPTV: si ha tenido problemas con la vacuna triple vírica
HTP: si había tolerado previamente el huevo
HTT: si había tolerado tiempo de tolerancia en meses
HTTO: utiliza tratamiento habitual
HUEV: Fecha Introducción de huevo en meses
HUM: si hay humedad en casa
IG: si ha padecido infecciones graves
IgEALB1: IgE lactoalbúmina en primera visita
IgECAS1: IgE caseína en primera visita
IgECASM: IgE caseína en visita intermedia
IgECAST: IgE caseína en tolerancia
IgECLAR1: IgE clara en primera visita
IgECLART: IgE clara en tolerancia
IgECON1: conalbúmina en primera visita
IgECONM: IgE conalbúmina en visita intermedia
IgECONT: IgE conalbúmina en tolerancia
IgEHUE1: IgE huevo en primera visita
IgEHUEM: IgE huevo en visita intermedia
IgEHUET: IgE huevo en tolerancia
IgEL1: IgE leche en primera visita
IgELALBM: IgE lactoalbúmina en visita intermedia
IgELALBT: IgE lactoalbúmina en tolerancia
IgELGLO1: IgE lactoglobulina en primera visita

IgELGLOM: IgE lactoglobulina en visita intermedia
 IgELGLOT: IgE lactoglobulina en tolerancia
 IgELM: leche en visita intermedia
 IgELT: IgE leche en tolerancia
 IgEOVOAL1: IgE ovoalbúmina en primera visita
 IgEOVOALM: IgE ovoalbúmina en visita intermedia
 IgEOVOALT: IgE ovoalbúmina en tolerancia
 IgEOVOM1: IgE ovomucoide en primera visita
 IgEOVOMM: IgE ovomucoide en visita intermedia
 IgEOVOMT: IgE ovomucoide en tolerancia
 IgET: IgE total en primera visita
 IgET1DEF: mayor o menor de 100
 IgETM: IgE total en visita intermedia
 IgETMDEF: mayor o menor de 100
 IgETT: IgE total en tolerancia
 IgETTDEF: mayor o menor de 100
 IgEYEM: IgE yema en primera visita
 IgEYEMM: IgE yema en visita intermedia
 IgEYEMT: IgE yema en tolerancia
 INFSIB: infecciones con sibilancias primera visita
 INIC: iniciales de los pacientes
 IQ: si tiene intervenciones quirúrgicas
 LCADA: agravamiento de la dermatitis atópica
 LCAE: clínica de angioedema
 LCCONJ: clínica de conjuntivitis
 LCD: manifestaciones digestivas con leche
 LCLINL: manifestaciones clínicas en relación con la leche
 LCM: clínica mareo o cansancio
 LCO: otras manifestaciones clínicas
 LCPC: clínica pérdida de conocimiento
 LCR: clínica de rechazo
 LCRIN: clínica de rinitis
 LCRV: riesgo vital con leche
 LCSO: clínica de síndrome oral
 LCU: clínica de urticaria
 LCVRI: clínica de VRI
 LCVRS: clínica de VRS
 LEG: Fecha Introducción de legumbres en meses
 LERM: edad de la reacción en meses
 LPT: reacción fue en la primera toma aparente
 LTC: polimorfismo LTC4S
 LTP: si había tolerado previamente la leche
 LTT: si había tolerado tiempo de tolerancia en meses
 MEASMA2: dos grupos con y/o sin asma en la evolución
 MEASMA2ALERG: dos grupos con y/o sin asma en la evolución
 MEASMA2ATNOAT: dos grupos ATOPICA NO ATOPICA
 MEATOPIA: mala evolución según criterios de atopia (asma o rinitis o conjuntivitis o sensibilización a alguno de los 4 aeroalérgenos)
 MECONJ2: dos grupos con o sin conjuntivitis en la evolución

MEDIC: alergia a medicamentos primera visita
 MERIN2: dos grupos con o sin rinitis en la evolución
 MESACAR: si se ha sensibilizado posteriormente a ácaros
 MESEPIT: si se ha sensibilizado posteriormente a epitelios
 MESHONG: si se ha sensibilizado posteriormente a hongos
 MESPOL: si se ha sensibilizado posteriormente a pólenes
 MONOBISENSI: si esta sensibilizado a uno o dos alimentos
 Nacim: si el nacimiento fue prematuro o a termino
 NHC: numero de historia clínica
 NUMATOPIC: cuantos de los hermanos son atópicos
 NUMHER: numero de hermanos en total
 Otitis: si ha padecido otitis
 OTROS: otros antecedentes familiares de interés
 Parto: si el parto fue eutócico o distócico
 Parto2: si fue cesárea o vaginal
 PCAS1: prick caseína en primera visita
 PCASM: prick caseína en visita intermedia
 PCAST: prick caseína en tolerancia
 PCLAR1: prick clara en primera visita
 PCLARM: prick clara en visita intermedia
 PCLART: prick clara en tolerancia
 PESC: Fecha Introducción de pescado en meses
 PHUE1: prick huevo en primera visita
 PHUEM: prick huevo en visita intermedia
 PHUET: prick huevo en tolerancia
 PL1: prick leche en primera visita
 PLALB: prick lactoalbúmina en visita intermedia
 PLALB1: prick lactoalbumina en primera visita
 PLALBT: prick lactoalbúmina en tolerancia
 PLGLO1: prick lactoglobulina en primera visita
 PLGLOM: prick lactoglobulina en visita intermedia
 PLGLOT: prick lactoglobulina en tolerancia
 PLM: prick leche en visita intermedia
 PLT: prick leche en tolerancia
 POLEN: alergia a pólenes primera visita
 POVOAL: prick ovoalbumina en primera visita
 POVOALM: prick ovoalbúmina en visita intermedia
 POVOALT: prick ovoalbúmina en tolerancia
 POVOM1: prick ovomucoide en primera visita
 POVOMM: prick ovomucoide en visita intermedia
 POVOMT: prick ovomucoide en tolerancia
 PPeso: percentil de peso
 PROVH: si se le ha realizado provocación con huevo y resultado de la misma
 PROVL: si se le ha realizado provocación con leche y resultado de la misma
 PTalla: percentil de talla
 PYEM1: prick yema en primera visita
 PYEMM: prick yema en visita intermedia
 PYEMT: prick yema en tolerancia

RADR: precisó adrenalina en la reacción
RAH1: precisó antihistamínico para la reacción
RALT: precisó antileucotrienos
RB2R: precisó beta2
RCORO: precisó corticoide oral o intramuscular en la reacción
RCORT: precisó corticoide tópico reacción
RIN1: si presentaba rinitis en la primera visita
SAEROAL: si ha desarrollado sensibilización a algún aeroalérgeno
SCER: si se ha sensibilizado posteriormente a cereales
SENSIALI: que este sensibilizado algún alimento, leche o huevo
Sexo: si es varón o mujer
SFRUSEC: si se ha sensibilizado posteriormente a frutos secos
SFRUVER: si se ha sensibilizado posteriormente a frutas
SH: si está sensibilizado a huevo
Sinusit: si ha padecido sinusitis
SL: si está sensibilizado a la leche
SLEG: si se ha sensibilizado posteriormente a legumbres
SLH2: si esta sensibilizado en 2 grupos
SLH3: si esta sensibilizado en 3 grupos
SMAR: si se ha sensibilizado posteriormente a mariscos
SPESC: si se ha sensibilizado posteriormente a pescados
STROFOAL: si ha desarrollado sensibilización a alguna alérgeno alimentario
Sufetal: si tuvo sufrimiento fetal
T197C: polimorfismo 197 de PTG
T549C: polimorfismo 549 de PTG
TABEMB: fumo la madre durante el embarazo
TOLAH: tolera el huevo en el momento actual
TOLAL: tolera la leche en el momento actual
TOLPH: si ha tolerado huevo antes de los 3 años
TOLPL: si tolera leche antes de los 3 años
TTOR: precisó tratamiento
UAEAG: urticaria y/o angioedema agudo primeara visita
UAECR: urticaria y/o angioedema crónico primera visita
VAC: si está bien vacunado
Vent: si precisó ventilación
VERD: Fecha Introducción de verduras en meses
VIV: donde vive, en campo o ciudad