

DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN PACIENTES POLISENSIBILIZADOS A PÓLENES

J. Meseguer Arce
*Servicio de Alergia. Hospital
Universitario "Virgen de la Arrixaca".
Murcia (España)*

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

**Clasificación taxonómica y molecular
de alergen de pólenes**



**Caracterización y clonación de numerosas proteínas
de pólenes**

**Mejor conocimiento de componentes alergénicos específicos y
de reactividad cruzada o panalergen**



**Implicaciones prácticas en la
racionalización, optimización y
monitorización de la inmunoterapia con
alergen: IT basada en
"componentes alergénicos".**

Implicaciones diagnósticas

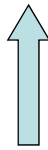
- Diferenciar verdadera polisensibilización y reactividad cruzada.
- Mejoría y consolidación de los extractos alergénicos.
- Papel que juegan los panalergen como alergen mayores y menores.

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

Taxonomía=Reactividad cruzada

ESPECIE
GÉNERO
FAMILIA



REACTIVIDAD CRUZADA

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

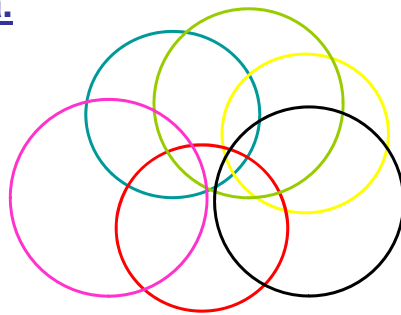
Panalergenos≠Taxonomía

- **Profilinas** y **polcalcinas** forman la mayoría de las familias alergenicas de polen.
- **Prolaminas** (comprende las **LTP**), cupinas, profilinas forman la mayoría de las familias alergenicas de plantas.
- **Prolaminas** constituyen la **mayor familia** de proteínas en cuanto a alergenicos.
- Las familias se definen por la **estructura terciaria** y por la **reactividad cruzada**.
- Muy poca reactividad cruzada entre cupinas y se han descubierto en bacterias, plantas y humanos.

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

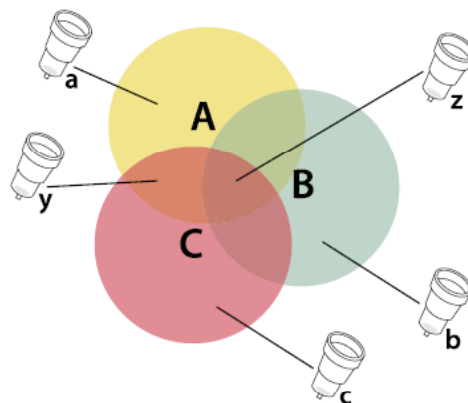
www.alergomurcia.com

A pesar de esto los datos referentes a la reactividad cruzada del polen son bastante limitados y **no se han llevado estudios en la mayoría de extractos utilizados en la práctica.**



Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com



*A, B y C – diferentes fuentes alérgicas
a, b y c – componentes alérgicos marcadores de la fuente específica para A, B y C
y - marcador para un componente alérgico de reactividad cruzada en A y C
z - marcador para un componente alérgico de reactividad cruzada en A, B y C*

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

Ejemplos de componentes alergénicos marcadores específicos

Componente alergénico	Fuente alergénica
Bet v 1	<ul style="list-style-type: none"> Componente alergénico específico del polen de abedul. También representa a los correspondientes componentes alergénicos en pólenes de <i>Fagales</i>, p. ej., avellano, aliso.
Phl p 1 Phl p 5b	<ul style="list-style-type: none"> Componentes alergénicos específicos del polen de hierba timotea. También representan a los correspondientes componentes alergénicos de otras gramíneas.
Ole e 1	<ul style="list-style-type: none"> Componente alergénico específico del polen de olivo. También considerado como marcador específico de alergia al polen de fresno, debido a un alto grado de similitudes estructurales.
Par j 2	<ul style="list-style-type: none"> Componente alergénico específico del polen de parietaria.

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

Ejemplos de componentes alergénicos marcadores de reactividad cruzada

Componente alergénico	Fuente alergénica
Profilinas: Bet v 2 – abedul Phl p 12 – gramíneas	<ul style="list-style-type: none"> Componentes alergénicos presentes en gramíneas, árboles, malezas y varias frutas. Alta reactividad cruzada. Profilinas de muchas fuentes diferentes muestran un alto grado de similitudes estructurales.
Proteínas portadoras de calcio (polcalcinas): Bet v 4 – abedul Phl p 7 – gramíneas	<ul style="list-style-type: none"> Componentes alergénicos presentes en pólenes de gramíneas, malezas y árboles. Alta reactividad cruzada. Proteínas portadoras de calcio de diferentes fuentes muestran un alto grado de similitudes estructurales.

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

OBJETIVOS

- Evaluar el papel que juegan los panalergenos y otros alergenicos de pólenes en nuestros pacientes polisensibilizados.
- Mejorar el diagnóstico y por consiguiente el tratamiento.

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

MUESTRA

- 94 pacientes entre 13 y 53 años (media de 31.23 ± 10.55) de un total de 100 con diagnóstico molecular.
- 55 mujeres y 39 hombres
- 38 Rinoconjuntivitis y 56 RC y Asma
- Polisensibilizados a 2 (2 pacientes), 3 (6 pacientes) o más pólenes (86 pacientes) en prick-tests.
- Evolución: 1- 40 años
- Con o sin IT previa

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

MÉTODOS

- Prick-test con profilina 50 mcg/ml y polcalcina de palmera (ALK-Abelló), piel de melocotón (ALK-Abelló) como marcador de LTP 30 mcg/ml y una amplia batería de pólenes.
- IgE específica a alérgenos de olivo (nOle e 1, rOle e 9), gramíneas (nPhl p1, nPhl p5), salsola (nSal k 1), chenopodium (rChe a 1), parietaria (nPar j 1), ciprés (nCup s 1), artemisia (nArt v 1), plantago (nPla l 1), plátano (Pla a 1+2), profilina (rMal d 4), polcalcina (rChe a 3) y LTP (rPru p 3) mediante la plataforma ADVIA-Centaur®.

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

PLATAFORMA TECNOLÓGICA ADVIA-CENTAURO

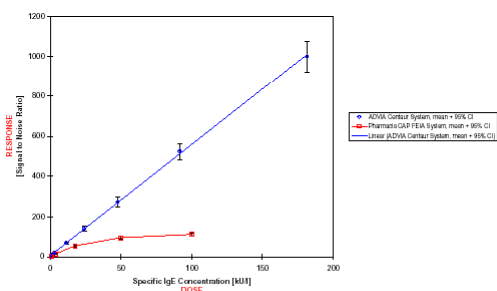


Dr Meseguer Arce
Enero 2009

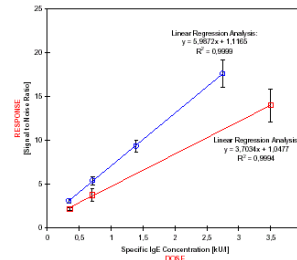
www.alergomurcia.com

Linearidad

Method Comparison: Linearity and Dose Response of Standard Curves



Method Comparison: Linearity and Dose Response c Low End



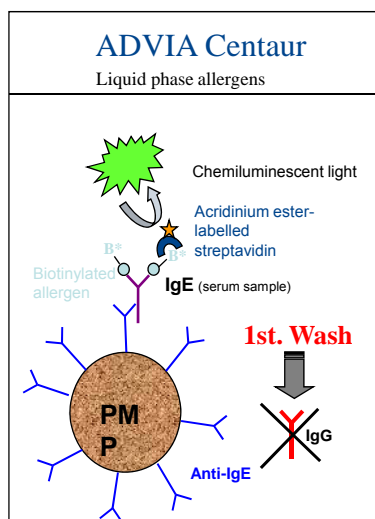
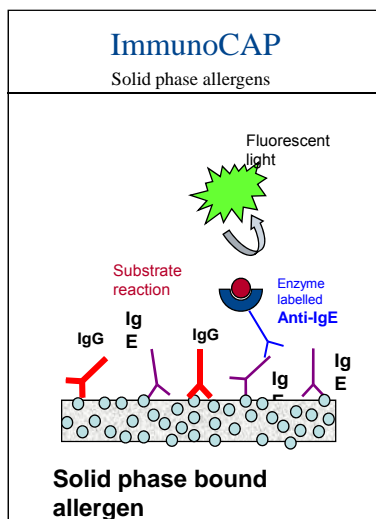
Summary: The ADVIA Centaur Specific IgE assay is almost perfectly linear across the range from 0.35 kU/L to 200 kU/L. The dynamic range of the ADVIA Centaur is at least twice the range of CAP FEIA, which reaches saturation at approximately 50 kU/L showing a non-linear dose-response of that system.

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

EAACI 2006

slgE assay architectures

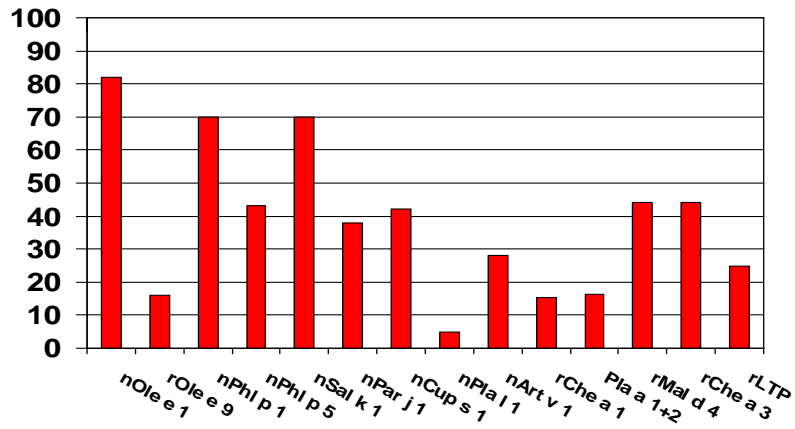


Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

(Petersen et al., Clin Biochem 2004, 37:882-92)

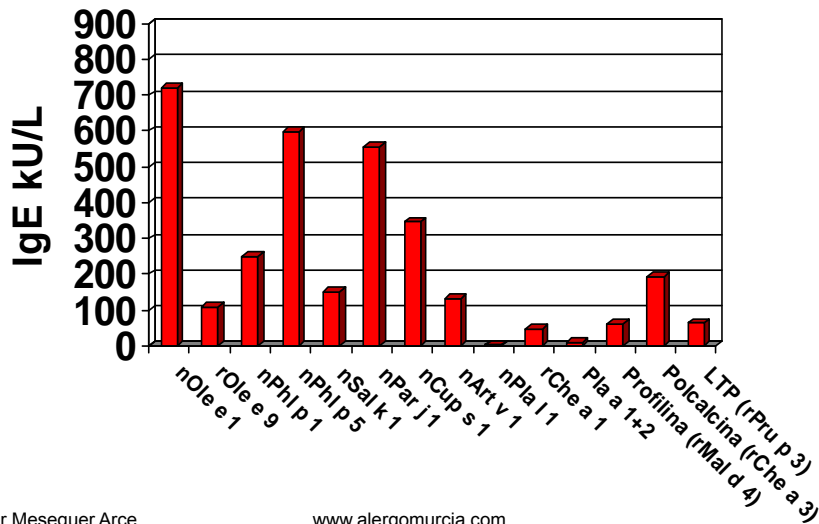
Prevalencia (%) de sensibilización molecular en 100 pacientes polisensibilizados a pólenes en p. cutáneas



Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

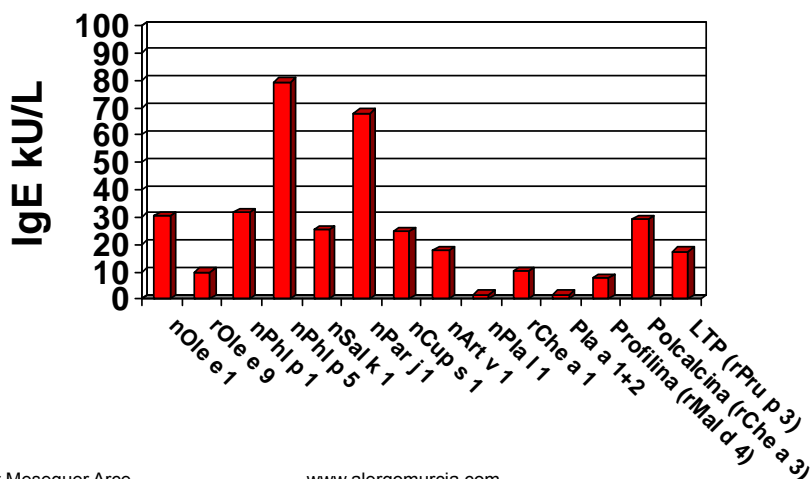
Valores máximos IgE



Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

Valores medios de IgE (media aritmética)



Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

Criterios de relevancia

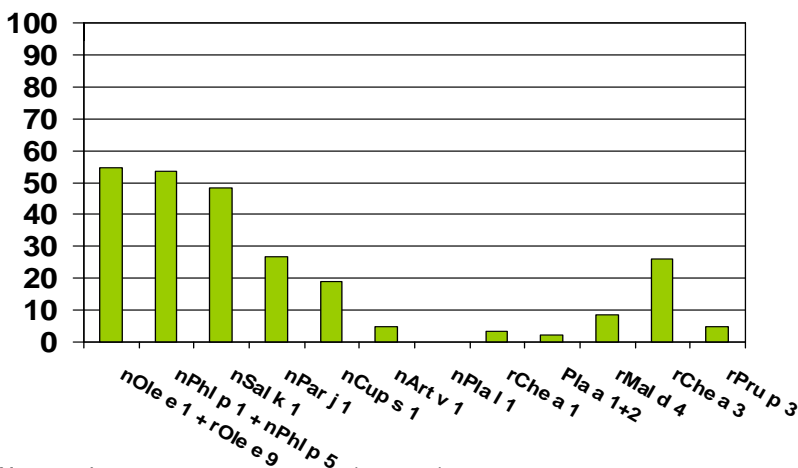
En cada paciente se determinó la relevancia de cada alérgeno en función de cualquiera de los siguientes parámetros:

- Tres primeros valores de IgE
- Valor de IgE específica similar o superior a la media aritmética de la población.
- IgE superior al 25% del valor más elevado en ese paciente, si cumplía cualquiera de los dos parámetros anteriores.

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

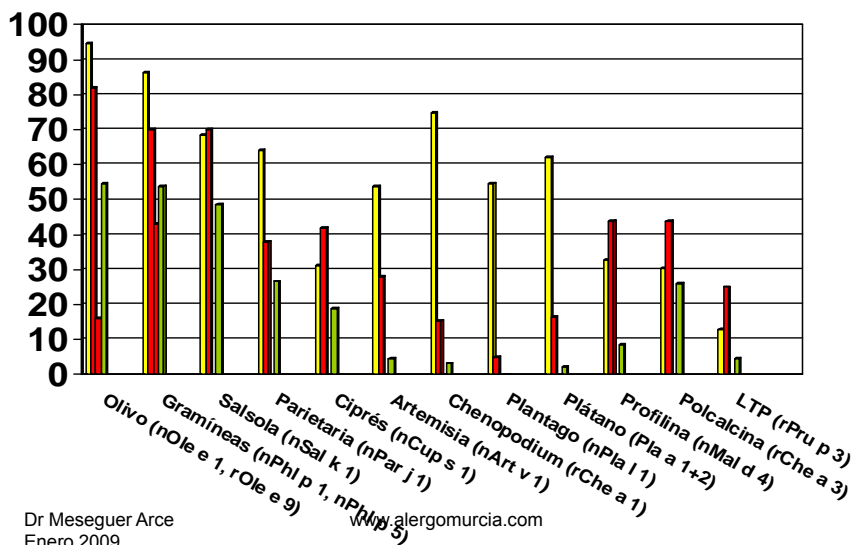
Prevalencia (%) de sensibilización molecular RELEVANTE en 100 pacientes polisensibilizados a pólenes en p. cutáneas



Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

Prevalencia (%) de pruebas cutáneas (■), sensibilización molecular (■) y relevancia (■)



Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

Análisis estadístico

- Correlación de sensibilización molecular a panalergenos con pruebas cutáneas.
- Correlación de sensibilización molecular entre panalergenos y otros componentes alergénicos.
- Concordancia de IgE y pruebas cutáneas.
- Asociación de componentes alergénicos con asma.
- Asociación de años de evolución con sensibilización molecular a panalergenos.
- Asociación de sensibilización molecular a panalergenos con nº de pruebas cutáneas positivas.
- Asociación de sensibilización molecular a panalergenos y nº de sensibilizaciones a otros componentes alergénicos.

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

CONCLUSIONES

- **Hay una alta prevalencia de sensibilización a panalergenos en nuestros pacientes polínicos polisensibilizados.**
- **Ole e 1, Phl p 1 + Phl p 5 y Sal k 1 son los alergenos más prevalentes y relevantes lo cual coincide con los resultados del *Estudio EXPO ALK-Abelló* en nuestra comunidad.**
- **Polcalcina se muestra como un panalergeno relevante.**
- **Extractos de profilina, polcalcina y piel de melocotón tienen alta especificidad y menor sensibilidad.**
- **Extractos de chenopodium, plantago y plátano de sombra son altamente inespecíficos (marcadores de profilina y polcalcina).**

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

CONCLUSIONES

- Extractos de gramíneas y parietaria parecen ser también marcadores de polcalcina.
- Extractos de mercurialis y palmera son marcadores de polcalcina y profilina.
- Extracto de artemisa es marcador de LTP.
- Extractos de salsola, ciprés y olivo son los más específicos.
- No encontramos asociación de asma con ningún componente alergénico.
- Asociación de sensibilización a polcalcina con años de evolución (>15 años).

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

CONCLUSIONES

- Asociación estadísticamente significativa entre sensibilización a panalergenos y mayor nº de pruebas cutáneas positivas.
- Correlación entre rPru p 3 (LTP) y Art v 1
- Correlación entre rChe a 3 (polcalcina) y Ole e 9

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

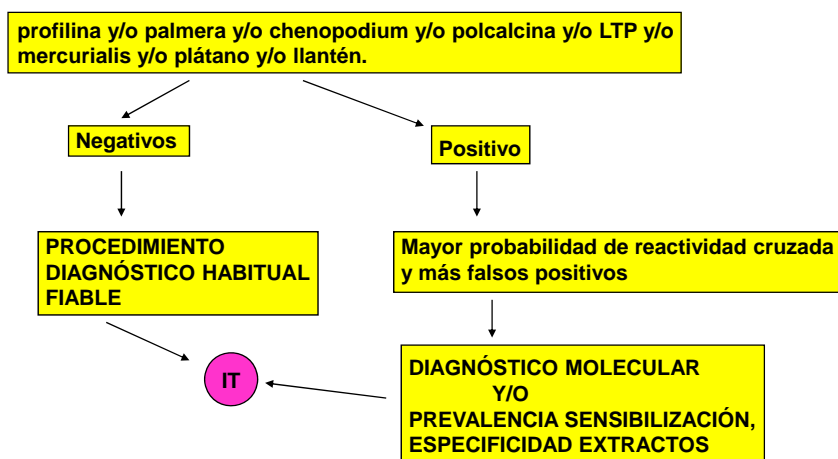
A NIVEL PRÁCTICO

- Disponemos de extractos de panalergenos para diagnóstico cutáneo: **Profilina, Polcalcina, LTP**.
- Extractos de **chenopodium, plantago** y **plátano de sombra** son altamente inespecíficos y marcadores de profilina y polcalcina junto con los extractos de **palmera** y **mercurialis**.
- Extracto de **artemisa** es marcador de LTP.
- Los 3 pólenes más relevantes en nuestra comunidad son **olivo, gramíneas** y **salsola** (EXPO ALK-Abelló).
- Sabemos qué extractos diagnósticos son los más específicos.

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

ALGORITMO DIAGNÓSTICO TEST CUTÁNEOS PÓLENES



Dr Meseguer Arce
Enero 2009

www.alergomurcia.com

Paciente: RGM Edad: 17 a. Sexo: Varón

Diagnóstico clínico: Rinoconjuntivitis

Tiempo de evolución de la enfermedad: 8 a.

Prueba cutánea		Determinación IgE	
Extracto	Tamaño pápula	Alergeno	Valor IgE kU/L
Gramíneas	5 x 5 mm	nPhl p 1	158
		nPhl p 5	108.3
<i>Olea europea</i>	5 x 4 mm	rOle e 9	0.36
<i>Parietaria judaica</i>	5 x 4 mm	nPar j 1	6.21
Chenopodium	4 x 4 mm	rChe a 3 (Polcalcina)	26.22
Profilina	9 x 5 mm	rMal d 4	12.6
Plantago	4 x 4 mm	nPla l 1	Negativo
<i>Platanus</i>	5 x 5 mm	Pla a 1+2	0.40

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

Paciente: MRJ Edad: 36 a. Sexo: Mujer

Diagnóstico clínico: Rinoconjuntivitis

Tiempo de evolución: > 10 a.

Prueba cutánea		Determinación de IgE	
Extracto	Tamaño de pápula	Alergeno	Valor IgE kU/L
Gramíneas	7 x 4 mm	nPhl p 1	0.48
		nPhl p 5	Negativo
<i>Olea europea</i>	12 x 8 mm	nOle e 1	50.13
		rOle e 9	7.88
<i>Parietaria judaica</i>	12 x 7 mm	nPar j 1	Negativo
<i>Salsola Kali</i>	5 x 5 mm	nSal k 1	29.86
Chenopodium	7 x 7 mm	rChe a 1	15.55
		rChe a 3	97.99
Plantago	9 x 4 mm	nPla l 1	0.63
<i>Platanus</i>	8 x 3 mm	Pla a 1+2	Negativo
<i>Mercurialis</i>	10 x 8 mm	N.D.	

Dr Meseguer Arce
Enero 2009

Paciente: GPS	Edad: 25 a.	Sexo: Varón
Diagnóstico clínico: Rinoconjuntivitis		
Prueba cutánea positiva		Determinación IgE
Extracto	Alergeno	Valor IgE kU/L
Gramíneas	nPhl p 1	51.86
	nPhl p 5	Negativo
<i>Olea europea</i>	nOle e 1	113.36
<i>Parietaria judaica</i>	nPar j 1	20.64
Salsola	nSal k 1	68.27
Artemisa	nArt v 1	14.96
Ciprés	nCup s 1	17.68
Dr Meseguer Arce Enero 2009	www.alergomurcia.com	

Paciente: DBJ	Edad: 24 a.	Sexo: Varón
Diagnóstico clínico: Rinoconjuntivitis		Evolución: 19 a.
Prueba cutánea positiva		Determinación IgE
Extracto	Alergeno	Valor IgE kU/L
Gramíneas	nPhl p 1	14.59
	nPhl p 5	77.50
<i>Olea europea</i>	nOle e 1	55.24
<i>Parietaria judaica</i>	nPar j 1	Negativo
Salsola	nSal k 1	22.28
Chenopodium	rChe a 1	Negativo
Ciprés	nCup s 1	44.93
Profilina	rMal d 4	25.19
Polcalcina	rChe a 3	10.95
Plátano	Pla a 1+2	Negativo
Palmera		
Plantago	nPla l 1	Negativo
Dr Meseguer Arce Enero 2009	www.alergomurcia.com	

Futuro de la inmunoterapia



¿Moléculas híbridas de varios componentes alergénicos?

Murcia: Ole e 1, Phl p 5, Phl p 1, Sal k 1, Par j 1, Polcalcina