

“Perfiles de sensibilización clínica a polen de amarantáceas”.

Ana Agulló García.

Hospital Clínico Lozano Blesa de Zaragoza.

Abstract

Introducción

En los últimos años se han realizado diferentes estudios en la población de Zaragoza para valorar la sintomatología de los pacientes alérgicos a polen de Chenopodiaceae/Amaranthaceae. De esta forma sabemos que no todos los síntomas de los pacientes alérgicos a este polen se deben a todas las especies y que existen patrones clínicos y patrones de floración.

Material y métodos

Estudio descriptivo observacional en el que se incluyeron 50 pacientes diagnosticados de hipersensibilidad a polen de *Salsola kali* procedentes del Hospital Clínico Universitario de Zaragoza a los que se realizó cuestionario de síntomas y análisis in vitro de alérgenos.

Resultados

Se agruparon los pacientes en función de los patrones clínicos presentados. En el grupo 1 (pico a finales de Julio y principios de agosto, intensidad baja) se incluyeron 13 pacientes, en el grupo 2 (dos picos: uno a finales de Julio y principios de Agosto y otro a finales de Agosto, intensidad moderada) 10 pacientes y en el grupo 3 (síntomas prolongados durante toda la estación, intensidad alta) 27 pacientes. Posteriormente se analizaron los alérgenos Sal k1, Sal k4, Sal k5, Sal k6, Sal k7, Che a1, Che a2, Che a3 y Ole e1 presentes en cada uno de los grupos, observándose los niveles más altos en el grupo 3.

Conclusiones

Se identifican diversos patrones clínicos que se pueden asociar a diferentes patrones de sensibilización. Se necesitan más estudios para identificar más pacientes sensibles a otros componentes distintos de Sal k1 para comprobar si verdaderamente tienen un comportamiento diferente.

Introducción

El polen de quenopodiáceas, no es posible diferenciarlo por microscopía óptica, por lo que el conteo de polen ambiental, no nos ayuda a diferenciar, qué especies están polinizando en cada momento, lo que hace aún más difícil el estudio y valoración de la relevancia clínica de cada una de ellas.

En los últimos años se han estado realizando diferentes estudios¹ en la población de Zaragoza para valorar la sintomatología de los pacientes alérgicos a este polen, y el desarrollo de un tratamiento a través de inmunoterapia específica². En estos estudios se ha observado que pacientes monosensibles a polen de quenopodiáceas presentaban un decalaje entre la sintomatología y la concentración de este polen.

En el Estudio EPOSAL realizado por Dra. Ferrer y cols, con pacientes del área de Zaragoza monosensibilizados a polen de quenopodiáceas, se realizó un recuento diario de síntomas desde el 1 de mayo hasta el 31 de octubre de 2007 (mediante escala analógica visual y consumo de medicación diaria) así como un recuento diario de polen de Chenopodiaceae/Amaranthaceae durante los años 2007 y 2008. La detección de granos de polen desde Mayo a Octubre parecía corresponder a la sucesión de la floración de las diferentes especies, lo que podría explicar el amplio periodo sintomático de la mayoría de los pacientes. En este estudio concluyeron que la polinización de *C. album* no se correlacionaba con la sintomatología de los pacientes y *S. kali*, parecía no ser la única responsable de la sintomatología, siendo necesario tener en cuenta otras especies como *C. vulvaria* y *A. patula*³.

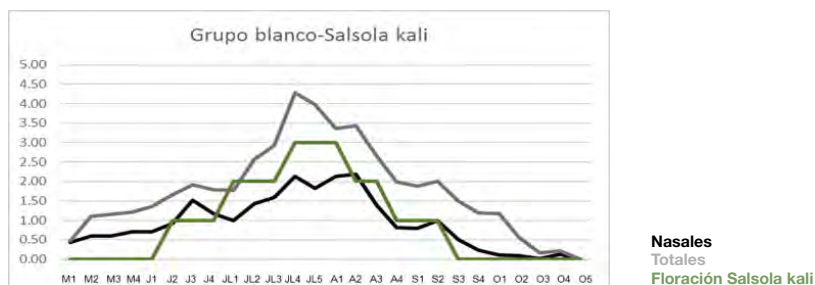
En el 2009 se continuó el estudio EPOSAL (Dra. Abós y cols) incluyendo pacientes diferentes, también monosensibilizados a polen de quenopodiáceas. Se les realizó un estudio clínico (organizado en 5 visitas donde se les realizó cuestionarios, consumo de medicación y pruebas complementarias), estudio ambiental (recuento diario de polen y floración de Chenopodiaceae/Amaranthaceae durante el año 2009) y estudio in vitro (determinación de IgE específica, inmunoblot e inmunoblot inhibición para estudio de reactividad cruzada). Se identificaron 4 patrones clínicos de pacientes. El primero presentaba síntomas de forma continua durante toda la estación (desde mayo hasta octubre), el segundo presentaba síntomas más al final de la estación (pico en septiembre), el tercero presentaba síntomas en los meses centrales (pico en agosto-septiembre) y el cuarto presentaba síntomas más al inicio de la estación. Posteriormente se compararon estos patrones clínicos con los de floración de las distintas especies para intuir la relación entre los mismos. Se concluyó que existen perfiles clínicos que se corresponden con determinadas floraciones de quenopodiáceas y no con otras, siendo las que mayor ajuste presentaron *S. kali*, *S. vermiculata*, *B. scoparia* y *A. halimus*⁴.

Identificación de patrones

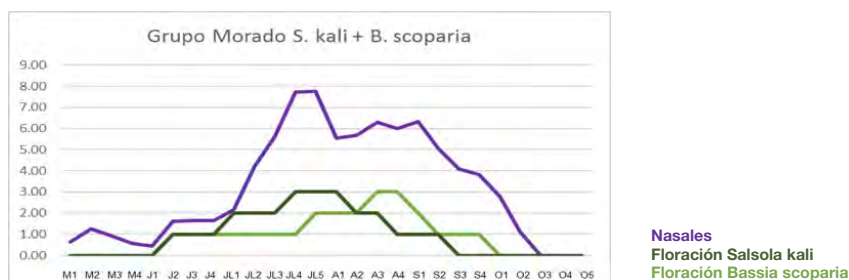
Para poder identificar perfiles clínicos, es decir, pacientes con comportamiento similar, se utilizó un análisis clúster o de conglomerados. Los datos y variables que se utilizaron

para el análisis fueron los datos de floración obtenidos durante los años 2007 y 2008 y los datos clínicos del recuento diario de síntomas realizado en el estudio EPOSAL3. De esta forma se agruparon los pacientes en 3 clúster. Estos perfiles clínicos se compararon con la floración de las distintas especies de quenopodiáceas, obteniendo 3 grupos:

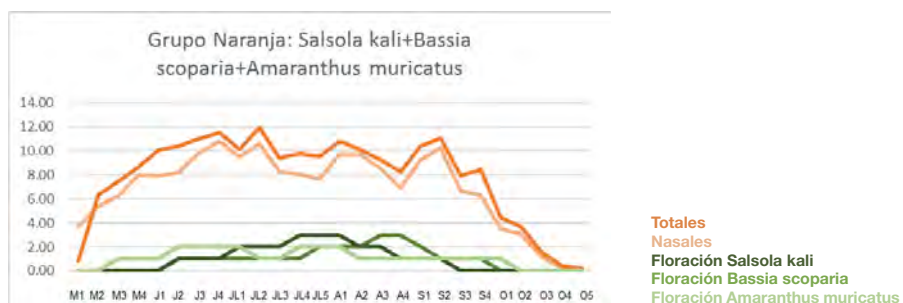
-Grupo 1: pacientes con un pico de síntomas a finales de Julio y principios de Agosto, con una intensidad de síntomas baja. Este se correspondía con la floración de *Salsola kali*.



-Grupo 2: pacientes con dos picos de síntomas: uno a finales de Julio y principios de Agosto y otro a finales de Agosto, con una intensidad de síntomas media. Se correspondía con la floración de las especies *Salsola kali* y *Bassia scoparia*.



-Grupo 3: pacientes con síntomas prolongados durante toda la estación, con una intensidad de síntomas alta-muy alta. Este se correspondía con la sucesión de la floración de *Amarantus muricatus*, *Salsola kali* y *Bassia scoparia*.



Estudio actual

Con los estudios previos sabemos que no todos los síntomas de los pacientes alérgicos a polen de Chenopodiaceae/Amaranthaceae se deben a todas las especies, si no a algunas de ellas, y que existen patrones clínicos y patrones de floración.

Nuestro objetivo actual es identificar perfiles de sensibilización molecular y relacionarlos con la clínica presentada por los pacientes y con la floración de las distintas especies de Chenopodiaceae.

Diseño del estudio:

Se diseñó un estudio descriptivo observacional en el que, mediante una base de datos que disponía el servicio de Alergología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza, se seleccionaron 50 pacientes diagnosticados de hipersensibilidad a polen de *Salsola kali* y con valores elevados de IgE específica a dicho alérgeno, durante los años 2015 a 2018. Los pacientes incluidos firmaron el consentimiento informado, se les entregó un cuestionario de síntomas y se les realizó una extracción sanguínea que posteriormente fue enviada al departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad Ciencias Químicas de la Universidad Complutense (Madrid) para realizar el estudio in vitro.

Población a estudio:

Los criterios de inclusión fueron los siguientes:

- Pacientes con historia clínica compatible a sensibilización por Chenopodiaceae y pruebas cutáneas positivas a *Salsola kali*.
- Edad mayor de 18 años.
- Sintomatología concordante con rinitis y/o asma con estigmas clínicos de alergia al polen.
- IgE específica a *Salsola kali* o a Sal k1 > 0,35 KU/L.
- Diagnosticados durante los últimos 4 años (2015 a 2018) en Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa.

Los 50 pacientes incluidos, tras firmar el consentimiento informado del estudio, rellenaron un cuestionario de síntomas en el que, mediante una escala analógica visual, valoraban la intensidad de los síntomas (oculares, nasales, bronquiales y totales) presentados durante los seis meses de floración de Chenopodiaceae/Amaranthaceae.

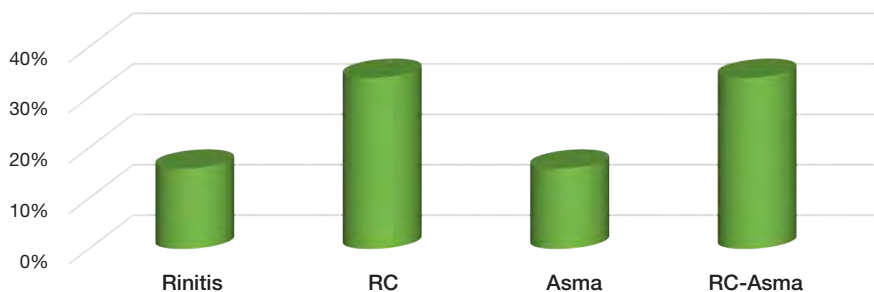
Características de los pacientes:

- Edad: las edades estaban comprendidas entre 18 y 68 años, siendo la media 36 y la mediana 38.
- Sexo: el 62% de los pacientes eran mujeres y el 38% hombres.
- País de procedencia: el 82% procedían de España, mayoritariamente de la zona geográfica en la que vivimos.

- Vivienda: el 66% vivía en hábitat urbano.
- Tiempo de evolución: el 64% de los pacientes presentaba síntomas compatibles con alergia al polen desde hacía más de 5 años.

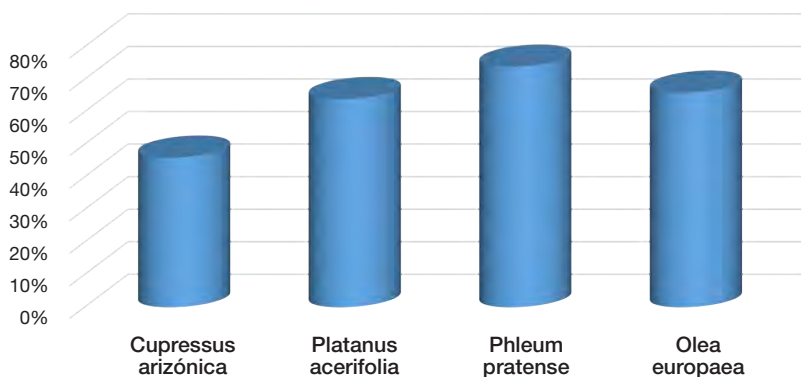
Clínica:

Respecto a la clínica, un 68% presentaba clínica rinoconjuntival y un 50% síntomas bronquiales.



Otras sensibilizaciones:

Cada vez es más difícil encontrar pacientes monosensibilizados por lo que muchos de los pacientes incluidos estaban sensibilizados a otros pólenes (46% *Cupressus arizónica*, 64% *Platanus acerifolia*, 74% *Phleum pratense* y 66% *Olea europea*), lo que puede suponer una limitación para nuestro estudio ya que puede haber solapamiento en los meses de primavera.



Valores analíticos:

Valores analíticos:

Los valores de nSal k1 variaban desde 1,28 hasta >100 KU/L, siendo la media 46,41 KU/L y la mediana 41,25 KU/L.

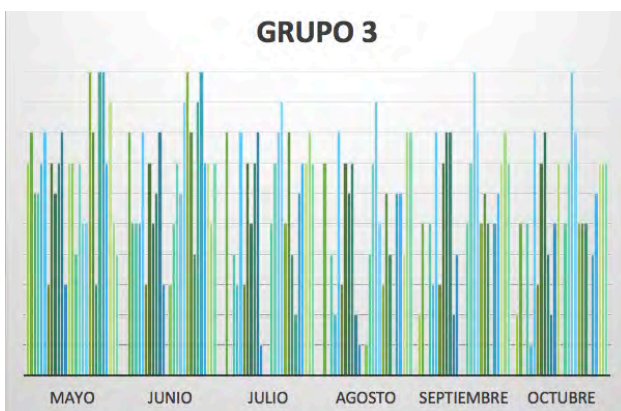
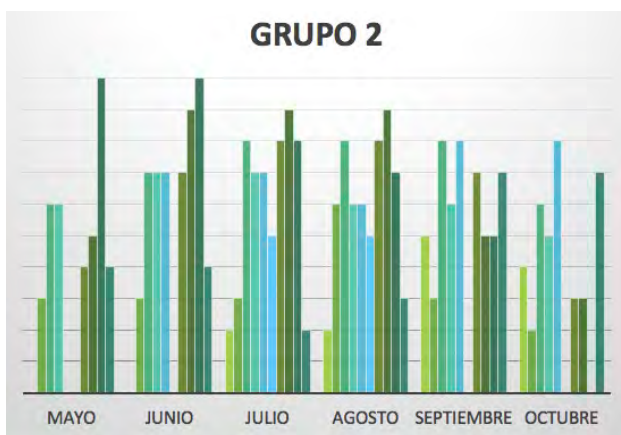
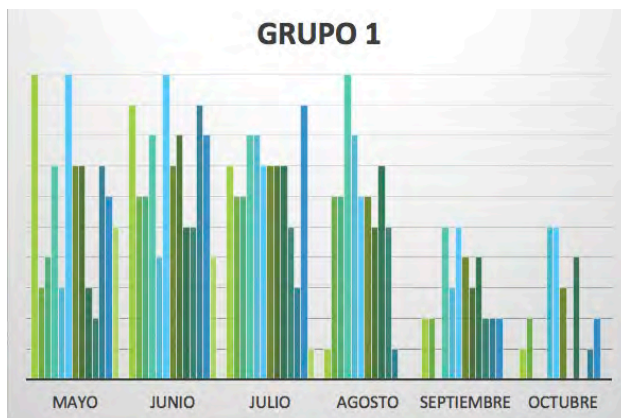
Los valores del extracto total de Salsola kali variaban desde 0,84 hasta 42,9 KU/L, siendo la media 23,61 KU/L y la mediana 11,2 KU/L.

La media de IgE total fue de 542,16 UI/ml y la mediana 285,5 KU/L.

Perfiles clínicos:

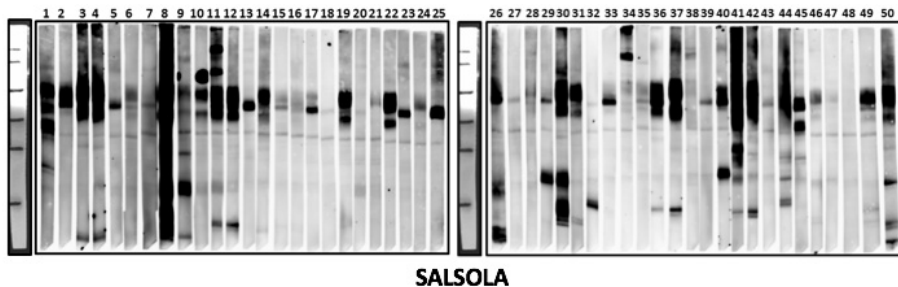
Se agruparon los pacientes en los tres patrones clínicos identificados previamente. En el grupo 1 (pico a final de julio-principios de agosto, intensidad leve) se incluyeron 13 pacientes, en el grupo 2 (dos picos: uno a final de julio-principios de agosto y otro a finales de agosto, intensidad moderada) 10 pacientes y en el grupo 3 (síntomas continuos durante toda la estación, intensidad alta) 27 pacientes.

En los siguientes gráficos están representados los pacientes incluidos en cada uno de los tres perfiles descritos. Cada color representa a un paciente diferente y la altura de las barras corresponde a la intensidad de los síntomas en cada uno de los meses indicados, valorada de 1 a 10 según escala analógica visual.



Alérgenos:

1. Salsola kali



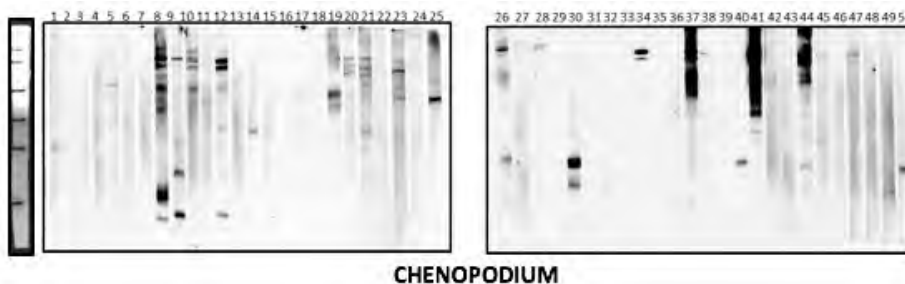
El 90% de los pacientes estaba sensibilizado al alérgeno mayoritario Sal k1. Sal k1 fue el primer alérgeno identificado en el polen de Salsola kali y es responsable de aproximadamente el 80% de los casos de sensibilización a S. kali5.

Un 12% de los pacientes estaban sensibilizados a Sal k4 (profilina), otro 12% a Sal k5, un 10% a Sal k6 y solo un 6% a Sal k7 (polcalcina). La sensibilización a Sal k5 y Sal k6 es menor que la observada en otros estudios^{6,7}.

Con estos datos vemos que los alérgenos causantes de reactividad cruzada como profilinas o polcalcinas tienen poca relevancia en nuestros pacientes, apoyando más una sensibilización primaria al polen de Chenopodiaceas.

Si analizamos estos datos en función de los tres perfiles descritos, la profilina (Sal k4) es más prevalente en los pacientes del grupo 1 (23%) y la polcalcina (Sal k7) en el grupo 2 (20%).

2. Chenopodium álbum

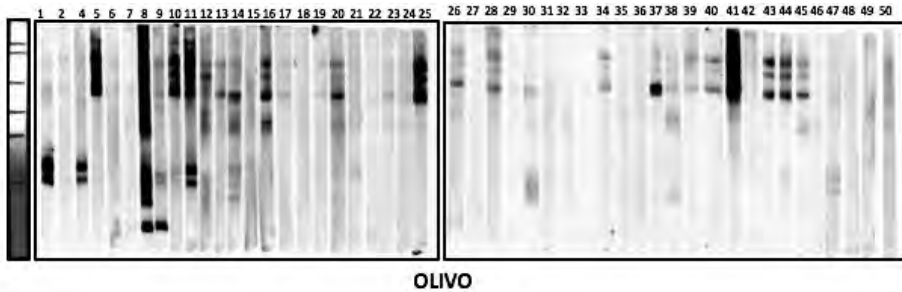


Solo un 10% de los pacientes tenía banda en Che a1, un 2% a Che a2 (profilina) y un 6% a Che a3 (polcalcina).

En otros estudios la presencia de Che a1 entre los pacientes con alergia a chenopodiaceas era mayor⁸.

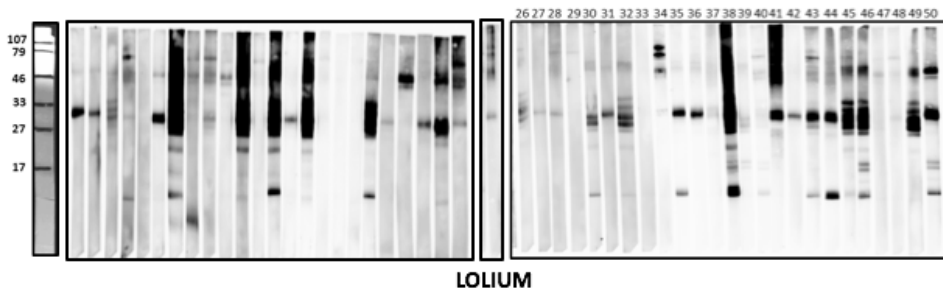
Se vuelve a demostrar la escasa relevancia clínica de Chenopodium en la sintomatología de los pacientes alérgicos a polen de Chenopodiaceas.

3. Olea europea



Un 24% de los pacientes (n=12) estaban sensibilizados a Ole e1. La mayoría de estos pacientes presentaban síntomas durante los seis meses, observando la mayor intensidad de los mismos en mayo y junio. Se detectaron dos pacientes que solo referían síntomas en los meses de mayo a julio.

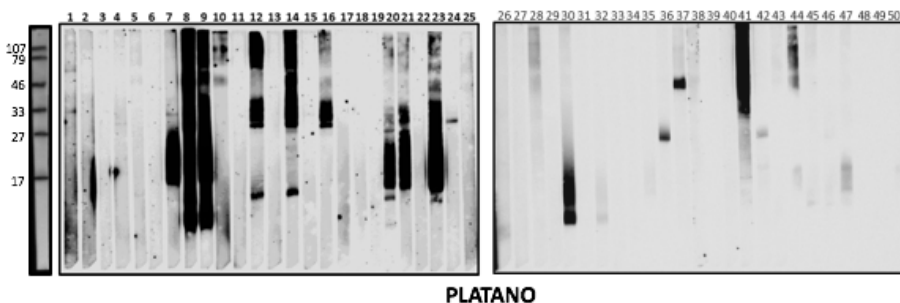
4. Lolium perenne



Un 56% de los pacientes (n=28) estaban sensibilizados a Lol p1, alérgeno mayoritario de Lolium perenne. Estos pacientes referían clínica durante los seis meses pero esta era más intensa durante los meses de mayo a junio. Esto podría deberse al solapamiento de los pólenes de gramíneas y chenopodiáceas durante esos meses.

Un 12% estaba sensibilizado a Lol p4. Al contrario que con los sensibilizados a Lol p1, estos solo detectaban Sal k1 y Che a3.

5. Platanus acerifolia



Solo un 12% de los pacientes (n=6) presentaban bandas en Pla a1. Todos estos pacientes presentaron síntomas desde mayo hasta junio, observándose un pico de intensidad en el mes de mayo y otro en octubre.

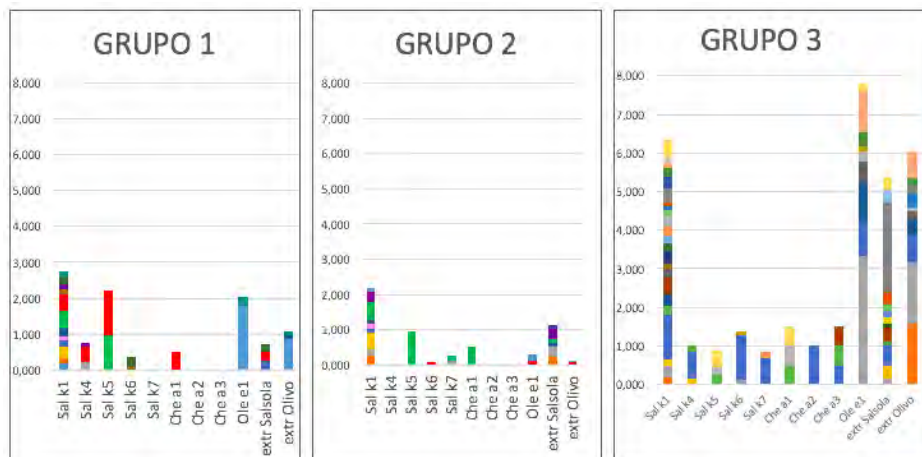
Perfil molecular:

Posteriormente, se valoró el patrón molecular que tenían los tres grupos.

En el grupo 3 los valores de cada uno de los alérgenos son mayores que en los grupos 1 y 2. Esto puede corresponderse con la clínica, ya que el grupo 3 era el que presentaba síntomas constantes durante toda la estación y de intensidad alta-muy alta.

También hay que destacar que el grupo 3 tiene unos valores muy elevados de extracto de olivo y de Ole e1.

En los siguientes gráficos podemos observar los niveles de IgE específica de los alérgenos estudiados en cada uno de los grupos. Cada color representa a un paciente diferente y la altura de cada barra corresponde a las unidades de absorbancia (UA) de cada alérgeno medidas mediante ELISA. Hay que tener en cuenta que para hacer esta determinación se tuvieron que diluir los sueros 1:5, por lo que los resultados son aparentemente más bajos.



Conclusiones

Parece que hay diversos patrones clínicos y, a grandes rasgos, se pueden asociar a diferentes patrones de sensibilización.

Se necesitarán más estudios para identificar más pacientes sensibles a otros componentes distintos de Sal k1 para comprobar si verdaderamente tienen un comportamiento diferente y para verificar si la respuesta terapéutica tras inmunoterapia es diferente en estos perfiles de pacientes.

Bibliografía

1. Colás C, Monzon S, Venturini M, Lezaun A, Laclaustra M, Lara S, et al. Correlation between Chenopodiaceae/Amaranthaceae pollen counts and allergic symptoms in *Salsola kali* monosensitized patients. *Journal of investigational allergology & clinical immunology*. 2005;15(4):254-8.
2. Colás C, Monzon S, Venturini M, Lezaun A. Double-blind, placebo-controlled study with a modified therapeutic vaccine of *Salsola kali* (Russian thistle) administered through use of a cluster schedule. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2006;117(4):810-6.
3. Ferrer L, Carnes J, Rojas-Hijazo B, Lopez-Matas MA, Sobrevia MT, Colas C. Assessing degree of flowering implicates multiple Chenopodiaceae/Amaranthaceae species in allergy. *International archives of allergy and immunology*. 2012;158(1):54-62.
4. Abós T. Polinosis por quenopodiáceas: de los alérgenos a la clínica. *Debates sobre Alergología*. 2017.
5. Villalba M, Barderas R, Mas S, Colás C, Batanero E, Rodríguez R. Amaranthaceae Pollens: Review of an Emerging Allergy in the Mediterranean Area. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2014;24(6):371-81.
6. Castro L, Mas S, Bardenas R, Colás C, García-Sellés J, Barber D, Rodríguez R, Villalba M. Sal k 5, a member of the widespread Ole e 1-like protein family, is a new allergen of Russian thistle (*Salsola kali*) pollen. *Int Arch Allergy Immunol*. 2014;163:142-53.
7. Mas S, Oeo-Santos C, Cuesta-Herranz J, Díaz-Perales A, Colás C, Fernández J, Barber D, Rodríguez R, de los Ríos V, Barderas R, Villalba M. A relevant IgE-reactive 28 kDa protein identified from *Salsola kali* pollen extract by proteomics is a natural degradation product of an integral 47 kDa polygalacturonase. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*. 2017;1865(8):1067-76.
8. Barderas R, Villalba M, Lombardero M, Rodríguez R. Identification and characterization of Che a 1 allergen from *Chenopodium album* pollen. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002;127:47-54.