



Ensayos de los Componentes de Alérgenos

Jay Weiss Ph.D and Gary Kitos, Ph.D. H.C.L.D.

Ensayos de los Componentes de Alérgenos

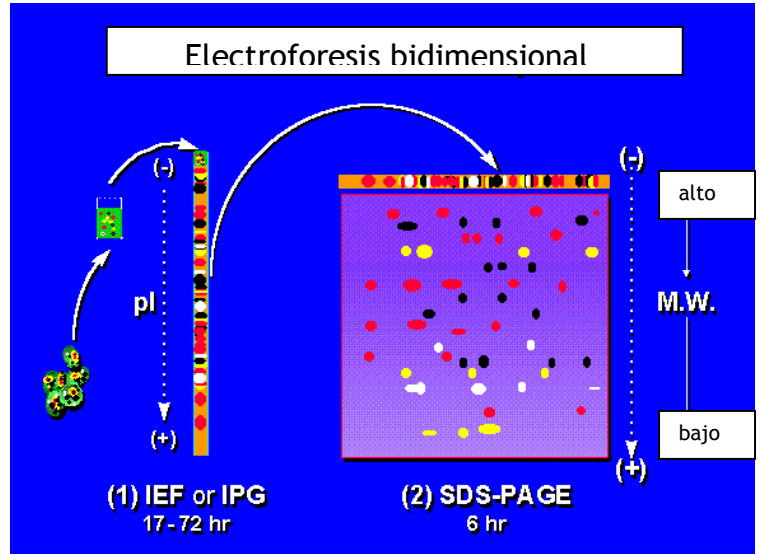
La enfermedad alérgica es una respuesta inmunológica a un alérgeno o alérgenos que provocan reacciones inmediatas de tipo que incluyen estornudos, picazón, dificultad para respirar y anafilaxis. En 1967, el anticuerpo responsable de estas reacciones, la inmunoglobulina E (IgE) fue descubierta y prometía revolucionar el diagnóstico y tratamiento de la alergia. Una modalidad de las pruebas diagnósticas se puso en marcha, la serología alérgeno IgE específica y un tratamiento, la terapia anti-IgE. Sin embargo, los avances en inmunoterapia con alérgeno han quedado rezagados, porque los alérgenos son complejos, variables y difíciles de examinar minuciosamente en sus componentes. A partir de la década de 1970, los alérgenos con proteína individuales empezaron a ser reconocidos y aislados. Con el advenimiento de la clonación molecular y proteómica, alérgenos individuales se han identificado, purificado, y desarrollado en forma de proteínas recombinantes. Muchos de los componentes alérgénicos se han extraído de la compleja mezcla de proteínas que se encuentran en los extractos de alérgenos. Estos componentes purificados ofrecen nuevas maneras de analizar y modificar la respuesta inmune de las personas alérgicas.

Extractos de alérgenos que se utilizan actualmente para la inmunoterapia y pruebas de diagnóstico por lo general son una mezcla cruda de proteínas que son en su mayoría no alérgicas. La inmunoterapia con proteínas específicas purificadas elimina la exposición del paciente a los alérgenos irrelevantes durante la inmunoterapia, y determina la causa concreta de las reacciones. Además la ingeniería molecular de alérgenos purificados ha demostrado que reduce la respuesta alérgica potencial, al tiempo que mantiene la actividad inmunogénica.ⁱ Una vacuna eficaz de inmunoterapia alérgica sería un gran avance en la curación de la alergia. Para que este tipo de tratamiento se convierta en realidad, la respuesta inmune de los pacientes alérgicos se debe comprender mejor.

Evaluación de la sensibilidad del paciente a los alérgenos específicos puede llevarse a cabo de muchas maneras. Hoy en día, la prueba de punción cutánea y la IgE específica de alérgenos son las metodologías más comunes utilizadas por los clínicos para identificar la causa de reacciones alérgicas. Métodos de investigación tales como Western blotting, las proteínas y las pruebas matriz de péptidos, activación de basófilos, y citometría de flujo también se utilizan para evaluar la respuesta inmune a alérgenos o proteínas alérgeno-específicas.

Identificando los componentes alérgenos específicos que desencadenan una respuesta inmune alérgica ha sido fundamental para mejorar el diagnóstico y la terapéutica.

Algunos extractos pueden tener cientos de proteínas y una docena o menos alergénicos. Por lo general, los alérgenos se identifican mediante la realización de electroforesis bidimensional y un método de detección anti-IgE para visualizar los puntos reactivos



demonstrado por el suero de individuos alérgicos. Es posible identificar cientos de proteínas cuando el gel se tiñe de proteínas. El número de alérgenos, las proteínas que unen específicamente la IgE, es una pequeña proporción de todos los puntos.

Nomenclatura de los alérgenos purificados incluye las primeras 3 letras del género alérgeno, la primera letra de la especie, y un número que se asigna en función del orden de descubrimiento (por ejemplo, es de maní *Arachis hypogaea* y uno de sus alérgenos es Ara h 1). Alérgenos principales unen IgE de más de la mitad de los sueros de pacientes alérgicos. La potencia de algunos

extractos de inmunoterapia se determina por la cantidad de un alérgeno mayor en el extracto (por ejemplo, Fel d 1 en el extracto de gato). Aunque no son perfectos, ayuda a reducir la variabilidad en la dosificación de la inmunoterapia. Claramente, el uso de varias proteínas alérgicas mejor podría reducir la variabilidad y la purificación de proteínas alérgicas eliminaría el problema por completo.

Proteómica, el estudio a gran escala de la estructura de proteínas y función, ha permitido identificar cada vez más pequeñas cantidades de proteínas. Proteómica ha identificado varios alérgenos en el veneno de abeja de la miel que se encuentran en abundancia muy baja en los extractos de IgE específica y de las personas alérgicas a las abejas de miel y suero de apicultores.² Tales alérgenos de baja abundancia pueden ser muy importantes para mejorar el rendimiento de pruebas diagnósticas y vacunas terapéuticas como formas naturales o recombinantes.

Algunas proteínas alérgeno purificadas se han utilizado para identificar y medir la cantidad de IgE específica en pacientes clínicamente alérgicos al extracto. Los estudios serológicos de alergia naturales y recombinantes incluyendo el maní,³ miel de abeja², leche, kiwi,⁴ cerezas,⁵ el trigo,⁶ el ácaro del polvo, hierba, árboles y malezas⁷ proteínas han demostrado algunas de las respuestas de IgE y IgG4 a los alérgenos. Los estudios han demostrado que en algunas poblaciones usando alérgenos purificados para las pruebas serológicas es tan sensible como extractos alérgicos crudo, y en otros el extracto crudo sigue siendo más sensible para identificar la alergia clínica.

Los estudios han comprobado que la reactividad de IgE a los alérgenos específicos puede ser clínicamente más relevante que otros.^{3,6} Matsuo et al., ha demostrado que la IgE específica frente a una proteína recombinante de trigo, ω -5 gliadina, era mucho más sensible identificando pacientes con asma de trigo inducida por ejercicio que por trigo o gluten. Nicolau et al., ha

demostrado que entre los niños de ocho años 933 del Reino Unido, 110 (11,8%) estaban sensibilizados a cacahuete. De los niños sensibilizados, se extrajo sangre de 69 que fueron clasificados alérgicos al maní, 17, o tolerantes al maní, 52. Además se extrajo sangre de 12 niños alérgicos al maní para aumentar el tamaño de la muestra de la alergia. La sangre de todos los 81 niños fue evaluada en un método de microarray que incluyó tres alérgenos de maní purificado (Ara h 1, 2, 3 y 8) y varios alérgenos purificados recombinantes que son de reacción cruzada con el extracto de maní. Entre ellos se incluyeron 5 alérgenos de hierba (Phl p 1, 4, 5B, 7 y 12) alérgeno de abedul (Bet v 1) y alérgenos melocotón (Pru p 3). Además, el determinante hidrocarbonado de reacción cruzada CCD) se puso a prueba. Natural Ara h2 mejor discriminaba entre los tolerantes y los grupos de alérgicos al maní. Ara h 1 y 3 h Ara también asociada con los grupos alérgicos al maní, pero no era tan exigente como Ara h 2. Algunos de los alérgenos recombinantes de hierba, Phl p 5b, 1, y 4 asociados más con el grupo tolerantes al maní, pero de nuevo no tan fuertemente como Ara h 2 asociado con el grupo de alérgicos al maní. Ara h 2 sólo, fue casi tan bueno en la identificación de los niños alérgicos de maní como un análisis complejo de todos los alérgenos individuales. Estos resultados de una cohorte de niños de ocho años en el Reino Unido sugieren que un alérgeno puede ser más importante al evaluar la alergia clínica.

Varios de los alérgenos alimentarios purificados presentan reactividad cruzada con alérgenos del polen y pueden tener diferentes grados de relevancia clínica en función de la geografía, la genética, la dieta y costumbres.⁸ Alérgenos relevantes en una población o ubicación pueden ser diferentes en otras. La complejidad de la exposición, la reactividad cruzada y la genética sugiere que no alérgeno purificado único tendrá importancia a nivel mundial. Sin embargo, los alérgenos regionales individuos pueden ser importantes para identificar a individuos con alergia clínica, y conducir a la inmunoterapia relevante en poblaciones específicas.

Allermetrix está desarrollando una prueba de IgE específica para el alérgeno de maní Ara h 2. Con Ara h 2 en un panel de alérgenos seleccionados para identificar reacciones cruzadas y las reacciones acertadas de maní puede ayudar a identificar a los individuos con alérgicas verdaderas a los cacahuets. Como se demuestra en el estudio de Nicolau et al., en una población abierta de niños de 8 años de edad, aproximadamente el 12% son inmunológicamente sensibilizados. Sin embargo, sólo el 22% de aquellos sensibilizados tenían "verdadera" alergia al maní. Poniendo a disposición el panel de pruebas ofrece más información disponible a los clínicos con pacientes sensibles al maní y pueden identificar con certeza mucho antes a aquellos pacientes con alergias al maní.

¹ Valenta R, et al. Allergy 64:569-580 (2009)

² De Graaf DC, et al. J of Proteomics, 72:14-154, (2009).

³ Nicolaou N, et al. J Allergy Clin Immunol 125:191-197 (2010)

⁴ Bublin M, et al. J Allergy Clin Immunol, 125:687-694 (2010)

⁵ Reuter A, et al. Clinical and Experimental Allergy, 36: 815-823 (2006)

⁶ Matsuo H, Allergy, 63:233-236, (2008)

⁷ Wöhrl S, et al Allergy, 61:633-639 (2006)

⁸ Sánchez-Monge R and Salcedo G, *Can cross-reactivity studies enable generic allergy preventio*