

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

DEPARTAMENTO DE MEDICINA



**INMUNOTERAPIA EPICUTÁNEA,
UN NUEVO TRATAMIENTO PARA PACIENTES PEDIÁTRICOS
CON ALERGIA PERSISTENTE A LA AVELLANA**

TESIS DOCTORAL

M^a TERESA VALBUENA GARRIDO

MADRID, 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

DEPARTAMENTO DE MEDICINA



INMUNOTERAPIA EPICUTÁNEA,
UN NUEVO TRATAMIENTO PARA PACIENTES PEDIÁTRICOS
CON ALERGIA PERSISTENTE A LA AVELLANA

TESIS DOCTORAL

M^a TERESA VALBUENA GARRIDO


DIRECTORES:

Dra. Marta Reche Frutos

Prof. Rodolfo Álvarez-Sala Walther

A mi madre

Agradecimientos



La realización de mi Tesis Doctoral ha sido un proceso largo, lleno de trabajo y esfuerzo, pero también de ilusiones y esperanzas, en el que he tenido la enorme suerte de sentirme acompañada y apoyada, tanto en lo profesional como en lo personal, a lo largo de todo el camino.

Gracias a Marta Reche, mi directora de tesis, compañera de trabajo y amiga, por su dedicación en este proyecto y su generosidad para facilitarme las cosas y poder conseguir el objetivo.

A Rodolfo Álvarez-Sala, mi director de tesis, por su ayuda constante y todos los buenos consejos que me ha dado a lo largo de estos años, sin los cuales este trabajo no hubiera sido posible.

A todas mis compañeras y amigas de la Sección de Alergología del Hospital Universitario Infanta Sofía, por ayudarme en el proyecto, pero también por compartir buenos y malos momentos a lo largo de estos años.

A mis compañeros del Servicio de Farmacia del Hospital Universitario Infanta Sofía, especialmente a Juan Pablo Barro, por darme tan buenas ideas para el parche.

A mis compañeros del Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación del CSIC, con los que llevo años colaborando y formando parte de un gran equipo de investigación.

A Mónica Martínez-Blanco, que a pesar de la distancia ha contestado a todas mis dudas siempre que lo he necesitado.

Al laboratorio Immunotek, por facilitarnos el lio lizado de la avellana.

A Israel Thuissard y Cristina Andreu por su trabajo con el análisis estadístico y ayudarme a resolver tantas dudas que nunca dejaban de surgirme. Gracias por vuestras ideas y por hacerme más sencillo el mundo estadístico.

A Teresa Bellón y Arancha por aclararme dudas relacionadas con las técnicas *in vitro*. A pesar de llevar tantos años sin trabajar con ellas siempre están dispuestas a echarme una mano.



A Óscar Palomares, por ser tan accesible y dispuesto a ayudarme a comprender los entresijos de la inmunología.

A los pacientes de este estudio y sus familias, sin los que realmente este trabajo hubiera sido imposible. Por su conanza en el proyecto y su gran disposición a lo largo de los meses.

A mis amigas, las de Coruña, Pamplona y Madrid, por escucharme tantas veces con el mismo tema y darme ánimos. Especialmente a Azucena Díez y Marta Valdivielso que me han dado tantas ideas, buenos consejos y energía para conseguirlo.

Finalmente, a mi familia, esa roca que siempre está ahí, que siempre me ayuda y en la que me puedo apoyar pase lo que pase.

A mi marido y mis hijos por entender que en estos momentos de mi vida necesitaba pasar tanto tiempo con “la avellana”.

A mi madre, por animarme todos los días a seguir adelante.

A mi padre, que allí donde esté sé que estará orgulloso de que su hija al final lo haya conseguido.

A mi querido hermano Luis y su familia, a la familia de Gabriel, que también es la mía.

A todos vosotros que habéis estado conmigo a lo largo de esta aventura,
MUCHAS GRACIAS.

Índice

Listado de abreviaturas	23
Resumen	27
Summary	33
I. INTRODUCCIÓN	39
1. Alergia a los frutos secos	41
1.1. Definición y clasificación	41
1.2. Epidemiología	42
1.3. Inmunopatología	44
1.4. Vías de sensibilización	48
1.5. Prevención	49
1.6. Manifestaciones clínicas	50
1.7. Diagnóstico	52
1.7.1. Historia clínica	52
1.7.2. Pruebas cutáneas intraepidérmicas	52
1.7.3. Determinación en suero de IgE específica	53
1.7.4. Diagnóstico molecular por componentes	54
1.7.5. Test de activación de basófilos (TAB)	57
1.7.6. Pruebas de exposición oral controlada	58
1.8. Principales familias de proteínas en la alergia a los frutos secos	59
1.8.1. Proteínas de almacenamiento o reserva	59
1.8.1.1. <i>Superfamilia de las cupinas</i>	60
1.8.1.1.1. <i>Globulinas 7S, vicilinas, convicilinas o beta conglutininas</i>	60
1.8.1.1.2. <i>Globulinas 11S, leguminas o alfa conglutininas</i>	60

1.8.1.2. Superfamilia de las prolaminas	61
1.8.1.2.1. Albúminas 2S	61
1.8.2. Proteínas de defensa	61
1.8.2.1. PR-10 u homólogos de Bet v 1	62
1.8.2.2. PR-14 o proteínas transportadoras de lípidos	62
1.8.2.3. PR-5 o taumatinas	63
1.8.3. Proteínas estructurales	63
1.8.3.1. Profilinas	63
1.8.3.2. Oleosinas.	64
1.9. Principales alérgenos de frutos secos	64
1.9.1. Avellana	65
1.9.2. Cacahuete	68
1.9.3. Nuez de nogal	70
1.9.4. Pistacho	71
1.9.5. Anacardo	72
1.9.6. Almendra	73
1.9.7. Semilla de girasol.	74
1.9.8. Castaña	75
1.9.9. Piñón.	76
1.10. Reactividad cruzada.	76
1.11. Evolución natural	78
1.12. Tratamiento	78
1.12.1. Dieta de evitación.	78
1.12.2. Tratamiento de las reacciones accidentales	79
1.12.3. Tratamiento inmunomodulador	80
2. Inmunoterapia específica en la alergia a los frutos secos	81
2.1. Tipos de inmunoterapia	84
2.1.1. Oral	84
2.1.1.1. Estudios de ITO con avellana	85

2.1.1.2. Estudios de ITO con nuez.	86
2.1.1.3. Estudios de ITO con anacardo	86
2.1.1.4. Estudios de ITO múltiple a frutos secos.	87
2.1.1.5. Estudios de ITO con cacahuete	87
2.1.2. Sublingual	90
2.1.2.1. Estudios de ITSL con avellana.	91
2.1.2.2. Estudios de ITSL con cacahuete.	92
2.1.3. Epicutánea	93
2.1.3.1. La piel como nueva ruta de administración de inmunoterapia	93
2.1.3.2. Aspectos generales de la EPIT	95
2.1.3.3. Estudios de EPIT con cacahuete	96
2.2. Cambios inmunológicos secundarios a la inmunoterapia es- pecífica	101
2.2.1. Principales diferencias inmunológicas entre ITO, ITSL y EPIT con alimentos	103
II. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.	105
III. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS.	109
IV. PACIENTES Y MÉTODOS	113
1. Diseño general y resumen del estudio	115
2. Selección de pacientes.	117
2.1. Duración del periodo de reclutamiento	117
2.2. Criterios de inclusión.	117
2.3. Criterios de exclusión	117
2.4. Criterios de retirada del estudio	118

3. Población a estudio	119
4. Tratamiento epicutáneo.	120
4.1. Tipo de parche	120
4.2. Extracto alergénico de avellana	120
4.2.1. Obtención del extracto alergénico	120
4.2.2. Cuantificación del contenido proteico y rendimiento del proceso	122
4.2.3. Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE)	123
4.3. Vehículo utilizado para mezclar con el extracto de avellana	124
4.4. Preparación del producto a aplicar en los parches.	126
4.4.1. Producto activo	126
4.4.2. Producto placebo	129
4.5. Administración y manejo del parche	129
4.5.1. Preparación	129
4.5.2. Aplicación	130
4.5.3. Retirada	131
4.6. Fases de administración del tratamiento	131
4.6.1. Fase de escalada	132
4.6.2. Fase de mantenimiento	133
5. Variables del estudio	134
5.1. Variables relacionadas con la población a estudio	134
5.2. Variables relacionadas con el objetivo de eficacia clínica del tratamiento epicutáneo	135
5.3. Variables relacionadas con el objetivo de seguridad del tra- tamiento epicutáneo.	137
5.4. Variables relacionadas con el objetivo de cumplimiento del tratamiento epicutáneo	138
5.5. Variables relacionadas con el objetivo de percepción y sa- tisfacción del tratamiento epicutáneo	140

5.6. Variables relacionadas con el objetivo de cambios inmunológicos tras el tratamiento epicutáneo	141
5.7. Variables relacionadas con el objetivo del perfil de reconocimiento a la avellana	142
6. Métodos relacionados con la descripción de la población a estudio	144
6.1. Historia clínica	144
6.2. Pruebas cutáneas intraepidérmicas	144
7. Métodos relacionados con el objetivo de eficacia clínica del tratamiento epicutáneo	146
7.1. Pruebas de exposición oral controlada	146
7.1.1. Condiciones para la realización de la prueba de exposición oral controlada	146
7.1.2. Receta para la prueba de exposición oral controlada con avellana y placebo	147
7.1.3. Pauta de administración	148
7.1.4. Criterios para interpretar el resultado de la prueba de exposición oral controlada	149
7.1.5. Resultado final de la prueba de exposición oral simple ciego controlada con placebo	151
7.1.6. Clasificación de gravedad de la reacción observada en las pruebas de exposición oral controlada	151
7.1.7. Tratamiento de los síntomas	153
8. Métodos relacionados con el objetivo de seguridad del tratamiento epicutáneo	154
8.1. Efectos adversos durante el tratamiento	154
8.1.1. Tipos de efectos adversos	155
8.1.1.1. <i>Locales</i>	155
8.1.1.2. <i>Sistémicos</i>	155
8.2. Tratamiento de los efectos adversos	156
8.2.1. Tratamiento de los efectos adversos locales.	156
8.2.1. Tratamiento de los efectos adversos sistémicos	156

8.3. Causalidad de los efectos adversos durante el tratamiento epicutáneo	157
8.4. Ajuste en tiempo de aplicación y dosis de los parches	157
8.5. Criterios de suspensión del tratamiento epicutáneo	158
9. Métodos relacionados con los objetivos de cumplimiento, percepción y satisfacción del tratamiento epicutáneo	159
10. Métodos relacionados con el objetivo de cambios inmunológicos tras el tratamiento epicutáneo	160
10.1. Pruebas cutáneas	160
10.2. Pruebas <i>in vitro</i>	160
10.2.1. IgE específica a la avellana	161
10.2.2. IgG4 específica a la avellana	161
10.2.3. Test de activación de basófilos	162
11. Métodos relacionados con el objetivo del perfil de reconocimiento a la avellana	166
11.1. Método ImmunoCAP ISAC® (ThermoFisher Scientific)	166
11.2. Método ImmunoCAP® (ThermoFisher Scientific)	167
11.3. Método ALEX® (Macro Array Diagnostics).	168
12. Estudio estadístico	169
13. Aspectos éticos	171
14. Financiación del proyecto	172
V. RESULTADOS	173
1. Descripción de la población a estudio	175
1.1. Inclusión de pacientes	175
1.2. Características generales de la población del estudio	176
1.3. Clínica de sospecha de alergia a la avellana por anamnesis	177
1.4. Tolerancia a otros frutos secos	179

1.5. Pruebas cutáneas	179
1.5.1. Pruebas cutáneas con otros frutos secos	179
1.5.2. Pruebas cutáneas con aeroalérgenos	180
1.5.3. Pruebas cutáneas con panalérgenos	181
2. Eficacia clínica del tratamiento epicutáneo	183
2.1. Eficacia del tratamiento	183
2.2. Dosis de proteína de avellana desencadenante de síntomas en las pruebas de exposición oral	184
2.2.1. Dosis única de proteína de avellana desencadenante de síntomas en las pruebas de exposición oral.	184
2.2.2. Dosis acumulada de proteína de avellana desencadenante de síntomas en las pruebas de exposición oral.	187
2.3. Síntomas/signos desarrollados en las pruebas de exposición oral	189
2.3.1. Número de grupos de síntomas/signos afectos	191
2.3.2. Cambio en el número de grupos de síntomas/signos afectos en la prueba de exposición oral respecto a la inicial	192
2.4. Clasificación de la gravedad de la reacción durante las pruebas de exposición oral	192
2.4.1. Cambios en la clasificación de la gravedad de la reacción durante la prueba de exposición oral respecto a la inicial	193
3. Seguridad del tratamiento epicutáneo.	194
3.1. Efectos adversos locales	194
3.1.1. Clasificación de los efectos adversos locales	194
3.1.2. Tratamiento de los efectos adversos locales.	195
3.1.3. Efectos adversos locales asociados con el tratamiento	196
3.2. Efectos adversos sistémicos	196
3.2.1. Clasificación de los efectos adversos sistémicos.	196

3.2.2. Tratamiento de los efectos adversos sistémicos	198
3.2.2.1. <i>Cutáneos</i>	198
3.2.2.2. <i>Respiratorios</i>	198
3.2.2.3. <i>Digestivos</i>	199
3.2.2.4. <i>Infecciosos</i>	199
3.2.3. Efectos adversos sistémicos asociados con el tratamiento.	199
3.2.3.1. <i>Efectos adversos cutáneos</i>	200
3.2.3.2. <i>Efectos adversos respiratorios</i>	201
3.2.4. Efectos adversos sistémicos no asociados con el tratamiento.	201
3.2.4.1. <i>Efectos adversos cutáneos</i>	201
3.2.4.2. <i>Efectos adversos respiratorios</i>	202
3.2.4.3. <i>Efectos adversos digestivos</i>	204
3.2.4.4. <i>Efectos adversos infecciosos</i>	204
3.3. Efectos adversos que suponen la interrupción del tratamiento	204
3.3.1. Interrupción temporal	204
3.3.1.1. <i>Efectos adversos locales</i>	204
3.3.1.2. <i>Efectos adversos sistémicos</i>	204
3.3.2. Interrupción definitiva	205
4. Cumplimiento del tratamiento epicutáneo	207
4.1. Cumplimiento terapéutico	207
4.2. Tiempo diario de aplicación	207
4.3. Desprendimiento del parche	209
4.4. Continuidad en la aplicación del tratamiento	210
5. Percepción y satisfacción del tratamiento por padres y pacientes	212
5.1. Problemas con el tratamiento a lo largo del estudio	212
5.1.1. Cuestionario realizado a padres	212
5.1.2. Cuestionario realizado a pacientes	212

5.2. Interferencia en actividades diarias habituales.	213
5.2.1. Cuestionario realizado a padres	213
5.2.2. Cuestionario realizado a pacientes	214
5.3. Opinión sobre el uso y organización con el parche	214
5.3.1. Cuestionario realizado a padres	214
5.3.2. Cuestionario realizado a pacientes	214
5.4. Opinión sobre el tratamiento y su alergia	215
5.4.1. Cuestionario realizado a padres	215
5.4.2. Cuestionario realizado a pacientes	216
5.5. Grado de satisfacción global con el parche.	216
5.5.1. Cuestionario realizado a padres	216
5.5.2. Cuestionario realizado a pacientes	217
5.6. Problemas en las relaciones personales por el uso del parche	218
5.7. Facilidad en la preparación y manejo del parche	218
6. Cambios inmunológicos producidos tras el tratamiento epicutáneo.	220
6.1. Pruebas cutáneas.	220
6.2. IgE específica a la avellana	223
6.3. IgG4 específica a la avellana.	225
6.4. Ratio IgG4/IgE específica a la avellana	227
6.5. Test de activación de basófilos	228
7. Perfil de reconocimiento a las proteínas de la avellana	232
7.1. Componentes moleculares	232
7.1.1. Método ISAC®	232
7.1.2. Método ImmunoCAP®	233
7.1.3. Método ALEX®	235
7.1.4. Resultado global: ISAC®, ImmunoCAP®, ALEX®.	236
7.2. Patrones de reconocimiento.	238

VI. DISCUSIÓN	241
1. Eficacia clínica del tratamiento epicutáneo	244
2. Seguridad del tratamiento epicutáneo	252
3. Cumplimiento del tratamiento epicutáneo	258
4. Percepción y satisfacción del tratamiento por parte de pacien- tes y familiares	263
5. Cambios inmunológicos producidos tras el tratamiento epicutá- neo	266
6. Perfil de reconocimiento a las distintas proteínas de la avellana. . .	272
VII. LIMITACIONES Y FORTALEZAS	277
VIII. CONCLUSIONES.	281
IX. PERSPECTIVAS DE FUTURO	285
X. BIBLIOGRAFÍA.	289
XI. ANEXOS	325

Listado de abreviaturas

AAAAI:	Academia Americana de Alergia, Asma e Inmunología
ACAAI:	Colegio Americano de Alergia, Asma e Inmunología
ALEX:	<i>Allergen Explorer</i>
CD:	Células dendríticas
CI:	Consentimiento informado
CL:	Células de Langerhans
CoFAR:	Consortio para la Investigación de la Alergia a los Alimentos
CRD:	Diagnóstico molecular por componentes
CTLA-4:	Antígeno 4 del linfocito T citotóxico
DA:	Dermatitis atópica
DADS:	Dosis acumulada de proteína de avellana desencadenante de síntomas
DUDS:	Dosis única de proteína de avellana desencadenante de síntomas
EAACI:	Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica
EMA:	Agencia Europea del Medicamento
EPIT:	Inmunoterapia epicutánea
FAQL:	Calidad de vida de los alérgicos a los alimentos
FcεRI:	Receptores de alta afinidad para IgE
FDA:	Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos
HUIS:	Hospital Universitario Infanta Sofía
IFN-γ:	Interferón gamma
IgA:	Inmunoglobulina A
IgE:	Inmunoglobulina E
IL-4:	Interleucina 4
IL-5:	Interleucina 5
IL-9:	Interleucina 9
IL-10:	Interleucina 10
IL-13:	Interleucina 13
IL-25:	Interleucina 25
IL-33:	Interleucina 33
ILC2:	Células linfoides innatas de tipo 2
IM:	Intramuscular
ISAC:	<i>Immuno Solid-phase Allergen Chip</i>

ISU:	<i>ISAC standardized units</i>
ITA:	Inmunoterapia específica para la alergia alimentaria
ITO:	Inmunoterapia oral
ITSL:	Inmunoterapia sublingual
IUIS:	Unión Internacional de Sociedades Inmunológicas
LTP:	Proteínas de transferencia de lípidos
MHC:	Complejo mayor de histocompatibilidad
MP:	Materia prima
MW:	Peso molecular
PEC:	Prueba de exposición controlada
PEDCCP:	Prueba de exposición oral doble ciego controlada con placebo
PESCCP:	Prueba de exposición oral simple ciego controlada con placebo
PR:	Proteínas relacionadas con la patogénesis
RC:	Reactividad cruzada
SAO:	Síndrome de alergia oral
SDS-PAGE:	Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico
SEAIC:	Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica
SEICAP:	Sociedad Española de Inmunología Clínica y Alergología Pediátrica
SPT:	Prueba intraepidérmica en <i>prick, skin prick test</i>
SPPT:	Prueba intraepidérmica en <i>prick-prick, skin prick-prick test</i>
TAB:	Test de activación de basófilos
TCR:	Receptor de células T
TGF- β :	Factor de crecimiento transformante-beta
Th2:	Células T auxiliares de tipo 2
Th9:	Células T auxiliares de tipo 9
TLP:	Taumatina
Tregs:	Células T reguladoras
TSLP:	Linfopoyetina estromal tímica
VPP:	Valor predictivo positivo
WAO:	Organización Mundial de la Alergia

Resumen

ANTECEDENTES

Hasta ahora el único tratamiento para la alergia a frutos secos era la evitación de estos alimentos, pero en los últimos años se ha trabajado en la búsqueda de un tratamiento activo que pueda lograr la desensibilización y aumentar el umbral de tolerancia para evitar reacciones accidentales.

Los estudios de inmunoterapia oral, predominantemente con cacahuete, han conseguido este objetivo, alcanzando una elevada eficacia, pero con un alto porcentaje de reacciones alérgicas en comparación con la dieta de evitación o el tratamiento con placebo.

Así pues, se están explorando otras vías de administración del alimento con las que se consiga mantener la eficacia clínica, pero que disminuyan la aparición de efectos adversos.

La inmunoterapia epicutánea es una alternativa prometedora, se ha posicionado como una opción muy segura presentando sobre todo efectos adversos locales, aunque la eficacia es menor a la obtenida con la inmunoterapia oral. Sin embargo, todos los estudios publicados que se han realizado con frutos secos son con cacahuete.

OBJETIVOS

Evaluar la eficacia clínica y seguridad de la inmunoterapia epicutánea con avellana, tras seis meses de tratamiento con parches con extracto de avellana, en pacientes pediátricos con alergia demostrada a este fruto seco. Comprobar el cumplimiento del tratamiento epicutáneo administrado. Conocer la percepción y satisfacción del tratamiento por parte de pacientes y familiares. Determinar los posibles cambios inmunológicos asociados a la inmunoterapia epicutánea con avellana. Estudiar el perfil de reconocimiento a las distintas proteínas de la avellana en la muestra de pacientes a estudio.

PACIENTES Y MÉTODOS

Estudio piloto, prospectivo, aleatorizado, simple ciego controlado con placebo. Inclusión de pacientes de 3 a 16 años con alergia IgE mediada con rrmada a la avellana.

Tratamiento epicutáneo con parches (Marti Tor *Aqua*®) de aplicación diaria de forma rotatoria en la espalda, con extracto de avellana o placebo durante seis meses. La cantidad de proteína del extracto de avellana del parche se administró en dosis crecientes quincenales en la fase de escalada (100 µg, 250 µg, 500 µg o placebo) y la fase mantenimiento (500 µg o placebo) se continuó durante seis meses.

Se hizo una prueba de exposición oral simple ciego controlada con placebo con avellana antes y después de la inmunoterapia epicutánea. Antes del tratamiento, a la mitad y al nalizarlo se llevaron a cabo pruebas cutáneas en *prick* (avellana, aeroalérgenos, panalérgenos) y pruebas *in vitro* (IgE específica e IgG4 específica a avellana, test de activación de basó los con avellana (TAB)). Tanto a los pacientes como a los padres se les facilitó un cuestionario de satisfacción del tratamiento coincidiendo con las revisiones clínicas del tercer y sexto mes de la fase de mantenimiento de la inmunoterapia epicutánea, en las que se recogían datos sobre los efectos adversos presentados y sobre cumplimiento y tiempo de aplicación del parche. A todos los pacientes se les efectuó un estudio molecular del perfil de sensibilización a proteínas de avellana (ISAC®, ImmunoCAP®, ALEX®).

RESULTADOS

Se incluyeron 22 pacientes de 4 a 14 años de edad. Doce pacientes se aleatorizaron al tratamiento activo y diez pacientes al placebo. Tras seis meses de tratamiento epicutáneo, en el grupo activo se produjo un aumento significativo de la mediana de la dosis de proteína de avellana desencadenante de síntomas (aumento de 15 mg a 75 mg por intención de tratar, $p=0,021$ y de 45 mg a 115 mg en el estu-

dio por protocolo, $p=0,025$). Además, se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos de tratamiento en cuanto a la reducción en el número de grupos de síntomas afectos en la prueba de exposición oral al respecto a la inicial (en estudio por protocolo reducción de 1,5 grupos en grupo activo y de cero grupos en placebo, $p=0,021$).

No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos de tratamiento respecto a los pacientes que presentaron efectos adversos locales (activo 91,7%, placebo 60%) o sistémicos (activo 75%, placebo 60%) en global. Aunque en el análisis por tipos de efectos adversos, sí que el eccema local (activo 66,7%, placebo 20%, $p=0,043$), los habones locales (activo 41,7%, placebo 0%, $p=0,040$) y las reacciones sistémicas cutáneas (activo 50%, placebo 0%, $p=0,015$) fueron más frecuentes en el grupo activo, siendo las diferencias estadísticamente significativas. No se produjo ninguna reacción grave, ninguna anafilaxia ni se precisó el uso de adrenalina durante todo el tratamiento. Sólo un paciente, del grupo activo, tuvo que suspender la inmunoterapia por reacciones locales repetidas.

El 90,9% de los pacientes cumplieron el tratamiento. El 80% de los pacientes del grupo placebo y sólo el 20% del grupo activo se pudo aplicar el parche durante las 24 horas, diferencia que fue significativa ($p=0,014$). Realizaron la inmunoterapia a diario o como mucho con olvidos de una o dos veces al mes en más del 80% de los pacientes. El uso del parche no interfirió en la realización de sus actividades habituales y la mayoría de los pacientes (66,7%) estaban contentos o muy contentos con el parche. Al 81,8% de los padres les pareció fácil o muy fácil la preparación y manejo de la inmunoterapia epicutánea.

Se encontraron diferencias significativas en el grupo activo por intención de tratar, en el aumento de la mediana de la IgG4 específica a avellana del inicio al final del tratamiento (aumento de 0,31 mg/L a 0,68 mg/L, $p=0,041$). Los resultados de la mediana del TAB al final del tratamiento entre grupo activo (10,93%) y placebo (27,53%) mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,041$) en el estudio por protocolo.

En el análisis del per I de sensibilización a las proteínas de la avellana, el 95,5% tenían positiva alguna de las proteínas de reserva (Cor a 9, Cor a 11, Cor a 14), el 31,8% a la proteína transportadora de lípidos de la avellana (Cor a 8) y el 18,2% a Cor a 1.

CONCLUSIONES

El tratamiento epicutáneo con 500 µg de proteína de avellana en nuestra muestra de pacientes, ha conseguido aumentar de forma significativa el umbral de tolerancia a la avellana, lo que sugiere una eficacia clínica. Además, ha demostrado ser un tratamiento seguro puesto que la mayoría de los efectos adversos presentados han sido sólo locales, ninguna de las reacciones presentadas (ni locales ni sistémicas) han sido graves y no se ha producido ninguna reacción anafiláctica. El nivel del cumplimiento del tratamiento ha sido muy alto, con más de un 90% de los pacientes que lo han realizado durante los seis meses. La satisfacción global del parche ha sido buena, con un porcentaje alto de pacientes contentos con él, sin interferir en sus actividades diarias y tanto el manejo como su preparación por parte de los padres ha resultado fácil. Tras observar las variaciones en los valores de IgG4 y TAB tras el tratamiento, sugieren que la inmunoterapia epicutánea produce cambios inmunológicos que podrían estar asociados con el desarrollo de la tolerancia clínica a la avellana. El patrón molecular predominante en nuestra muestra ha sido la sensibilización a las proteínas de reserva.

Summary

BACKGROUND

So far the only treatment for tree nut allergy was the avoidance of these foods, but in these last years work has been done in the search for an active treatment that can achieve desensitization and increase the tolerance threshold to avoid accidental reactions.

Oral immunotherapy studies, predominantly with peanut, have achieved this goal, reaching high efficacy, but with a high percentage of allergic reactions compared to avoidance diet or placebo treatment.

Thus, other routes of food administration are being explored to maintain clinical efficacy but reduce the occurrence of adverse effects.

Epicutaneous immunotherapy is a promising alternative, and has been positioned as a very safe option, presenting mainly local adverse effects, although the efficacy is lower than that obtained with oral immunotherapy. However, all the published studies that have been carried out with tree nuts are with peanuts.

OBJECTIVES

To evaluate the clinical efficacy and safety of epicutaneous immunotherapy with hazelnut, after 6 months of treatment with hazelnut extract patches, in pediatric patients with demonstrated allergy to this nut. To verify compliance with the epicutaneous treatment administered. To know the perception and satisfaction of the treatment by patients and relatives. To determine the possible immunological changes associated with epicutaneous immunotherapy with hazelnut. To study the recognition profile of the different hazelnut proteins in the sample of patients under study.

PATIENTS AND METHODS

Prospective, randomized, single-blind, placebo-controlled pilot study. Inclusion of patients aged 3 to 16 years with confirmed IgE-mediated hazelnut allergy.

Epicutaneous treatment with patches (Marti Tor Aqua®) of daily rotating application on the back, with hazelnut extract or placebo for 6 months. The amount of hazelnut extract protein in the patch was administered in every two weeks increasing doses in the up dosing phase (100 µg, 250 µg, 500 µg or placebo) and the maintenance phase (500 µg or placebo) was continued for 6 months.

A single-blind, placebo-controlled food challenge was performed with hazelnut before and after epicutaneous treatment. Skin *prick* tests (hazelnut, aeroallergens, panallergens) and *in vitro* tests (hazelnut-specific IgE and hazelnut-specific IgG4, basophil activation test with hazelnut (BAT)) were performed before, in the middle and at the end of treatment. Both patients and parents were given a treatment satisfaction questionnaire coinciding with the third and sixth month clinical reviews of the maintenance phase of epicutaneous immunotherapy, in which data on adverse effects, compliance and patch application time were collected. All patients underwent a molecular study of the sensitization profile to hazelnut proteins (ISAC®, ImmunoCAP®, ALEX®).

RESULTS

Twenty-two patients aged 4 to 14 years were included. Twelve patients were randomized to active treatment and 10 patients to placebo. After 6 months of epicutaneous treatment, there was a significant increase in the median symptom-triggering hazelnut protein dose in the active group (increase from 15 mg to 75 mg by intention-to-treat, $p=0.021$ and from 45 mg to 115 mg in the per-protocol study, $p=0.025$). In addition, significant differences were found between both treatment groups in terms of reduction in the number of symptom groups affected in the final food challenge compared to baseline (in per protocol study reduction of 1.5 groups in active group and zero groups in placebo, $p=0.021$).

No significant differences were found between the two treatment groups regarding patients who presented local (active 91.7%, placebo 60%) or systemic (active 75%, placebo 60%) adverse effects overall. However, in the analysis by type of

adverse effects, local eczema (active 66.7%, placebo 20%, $p=0.043$) local wheals (active 41.7%, placebo 0%, $p=0.040$) and systemic cutaneous (active 50%, placebo 0%, $p=0.015$) were more frequent in the active group, the differences being statistically significant. There were no severe reactions, no anaphylaxis and no adrenaline was required during the entire treatment. Only one patient, from the active group, had to discontinue treatment due to repeated local reactions.

90.9% of the patients complied with the treatment. Eighty percent of the patients in the placebo group and only 20% in the active group were able to apply the patch for 24 hours, a difference that was significant ($p=0.014$). They performed the treatment daily or with forgetting once or twice a month in more than 80% of the patients. The use of the patch did not interfere with the performance of their usual activities and most of the patients (66.7%) were happy or very happy with the patch. 81.8% of the parents found the preparation and handling of the patch easy or very easy.

Significant differences were found in the active group in the increase in median hazelnut-specific IgG4 from baseline to end of treatment (increase from 0.31 mg/L to 0.68 mg/L, $p=0.041$). The results of median end-of-treatment BAT between active group (10.93%) and placebo (27.53%) showed statistically significant differences ($p=0.041$).

In the hazelnut protein sensitization protocol study, 95.5% were positive for any of the storage proteins (Cor a 9, Cor a 11, Cor a 14), 31.8% for hazelnut lipid transfer protein (Cor a 8) and 18.2% for Cor a 1.

CONCLUSIONS

Epicutaneous treatment with 500 µg of hazelnut protein in our sample of patients has significantly increased the threshold of tolerance to hazelnut, suggesting clinical efficacy. Moreover, it has proven to be a safe treatment since most of the

adverse effects presented were only local, none of the reactions presented (neither local nor systemic) were severe and no anaphylactic reaction occurred. The level of compliance with the treatment was very high, with more than 90% of the patients adhering to the treatment during the 6 months. The overall satisfaction with the patch has been good, with a high percentage of patients happy with the patch, without interfering with their daily activities, and the handling and preparation of the patch by the parents has been easy for them. Having observed the variations in IgG4 and TAB values after treatment, they suggest that epicutaneous immunotherapy produces immunological changes that could be associated with the development of clinical tolerance to hazelnut. The predominant molecular pattern in our sample was sensitization to storage proteins.

I. Introducción

1. ALERGIA A LOS FRUTOS SECOS

1.1. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN

Bajo el término frutos secos se incluye un grupo heterogéneo de alimentos vegetales de familias botánicas diferentes, cuya composición natural tiene menos de un 50% de agua. Botánicamente se definen como aquellos frutos que se componen de una cáscara dura y seca que protege la semilla (1). Habitualmente, por la forma de consumo conjunta, se incluyen en el mismo grupo los frutos de cáscara, el cacahuete y algunas semillas y los que más se consumen en nuestro medio son la avellana, almendra, nuez, pistacho, anacardo, castaña, piñón, semillas de girasol y el cacahuete.

La avellana pertenece a la familia de las *Betulaceae*, la almendra a las *Rosaceae*, la nuez de nogal a las *Juglandaceae*, el anacardo y el pistacho a las *Anacardiaceae*, la castaña a las *Fagaceae*, el piñón a las *Pinaceae*, las semillas de girasol a las *Compositae* y el cacahuete, que es una leguminosa, pertenece a la familia de las *Fabaceae*.

Debido a su alto poder nutritivo son ampliamente consumidos tanto directamente como formando parte de otros alimentos como productos de pastelería, salsas, helados, condimentos y aceites no refinados.

La alergia a los frutos secos se define, como el resto de las alergias alimentarias, refiriéndose a una reacción adversa de base inmunológica que se produce al exponerse a un determinado alimento (2).

En 2012, se elaboró un documento de consenso sobre la alergia alimentaria en el que colaboraron la Academia Americana de Alergia, Asma e Inmunología (AAAAI), la Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica (EAACI), la Organización Mundial de la Alergia (WAO) y el Colegio Americano de Alergia, Asma e Inmunología (ACAAI) y en el cual definieron la alergia a los alimentos como un efecto adverso producido al exponerse a un alimento que es reproducible y tiene una base inmuno-

lógica (3). Esta definición de alergia a los alimentos incluye las respuestas mediadas por inmunoglobulina E (IgE), las no mediadas por IgE o la combinación de ambas.

Las reacciones mediadas por IgE se caracterizan por la aparición de síntomas, generalmente en las dos primeras horas tras la exposición al alimento, que afectan típicamente a la piel, aparato gastrointestinal o respiratorio. El que haya solo una sensibilización *in vivo* o *in vitro*, producción de IgE específica frente a alérgenos alimentarios, no es suficiente para definir la existencia de una alergia a los alimentos. Se requiere tanto de la sensibilización como de la aparición de síntomas tras la exposición al alimento.

Puesto que el estudio que se presenta en esta tesis se centra en la alergia IgE mediada a la avellana, todos los siguientes apartados de la introducción se referirán a la alergia IgE mediada.

1.2. EPIDEMIOLOGÍA

La alergia a los alimentos es un problema de salud pública con una prevalencia creciente en el mundo (4). Además, puede provocar una morbilidad considerable, repercutir negativamente en la calidad de vida de los pacientes alérgicos y sus familias y suponer un elevado coste económico en términos de atención médica (5).

La prevalencia de la alergia a los frutos secos es muy difícil de determinar, existiendo mucha variación entre los datos publicados debido a las diferencias de las poblaciones a estudio, la metodología empleada, variaciones geográficas, edad y exposiciones dietéticas entre otros factores. Se sobrevalora cuando se basa en respuestas de cuestionarios y si se exigen diagnósticos por pruebas cutáneas o IgE específicas positivas las tasas disminuyen y aún bajan más cuando se requieren pruebas de exposición controlada.

El estudio epidemiológico realizado en España por la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC) en el año 2015, *Alergológica 2015*, puso

de mani esto que los frutos secos son la segunda causa más frecuente de alergia a alimentos en global y la segunda causa más frecuente de alergia a alimentos de origen vegetal, tanto en la población infantil como en la adulta (6).

Según la revisión sistemática de McWilliam y colaboradores, la alergia confirmada por pruebas de exposición controlada a frutos secos es menor del 2% y la prevalencia de la alergia probable a frutos secos es del 0,05% al 4,9% (7). Las estimaciones de prevalencia que incluyen el síndrome de alergia oral (SAO) por frutos secos fueron significativamente más altas (8%-11,4%) y proceden principalmente de Europa.

La prevalencia de la alergia a cada fruto seco varía en función de la región en la que se realice el estudio y estas variaciones dependen principalmente del tipo de fruto seco que se consume en cada país y de factores ambientales como la exposición polínica. Sin tener en cuenta al cacahuete, la alergia a la avellana es la más frecuente en Europa continental, la nuez de Brasil, la nuez de nogal y la almendra son las más comunes en el Reino Unido y la alergia a la nuez de nogal y al anacardo son las más frecuentes en Estados Unidos (7).

En un estudio multicéntrico realizado en España en población pediátrica, AFRUSEN, se describió que los frutos secos más frecuentes responsables en el debut de la alergia a este grupo de alimentos fueron la nuez, el cacahuete y el anacardo (8).

En el estudio multicéntrico europeo Pronuts, en el que se realizaron pruebas de exposición controlada para estudiar co-alergias entre frutos secos, se objetivó que las alergias más frecuentes descritas en el centro español de Valencia, fueron a la nuez, nuez de pecán y a la avellana (9).

Sin embargo, no todos los sujetos expuestos a un alimento desarrollan alergia, se han descrito distintos factores que pueden influir en su desarrollo. Unos dependen del individuo, como los antecedentes genéticos y familiares, otros del alimento como puede ser la edad de introducción, la vía de exposición y el tipo de dieta y por último otros dependen de la exposición ambiental.

Dentro de estos factores se encuentra el sexo, raza, antecedentes familiares, factores genéticos y presencia de otras condiciones de atopía. Teniendo esto en cuenta, las alergias son más frecuentes o presentan más riesgo de presentarse en: varones en la infancia y mujeres en la edad adulta (10), raza no caucásica y raza negra de origen no hispano, herencia materna (11), mutaciones en el gen de la lagrina (12) y pacientes con dermatitis atópica (DA) (13).

1.3. INMUNOPATOLOGÍA

La alergia a los frutos secos, como cualquier alergia alimentaria mediada por IgE, se produce como resultado de una pérdida de la integridad en los componentes inmunitarios clave que mantienen un estado de tolerancia y evitan que los antígenos alimentarios sean reconocidos como patógenos.

A continuación, se detallan los procesos de tolerancia oral y sensibilización alimentaria, cuyo resumen está reflejado en la figura 1.

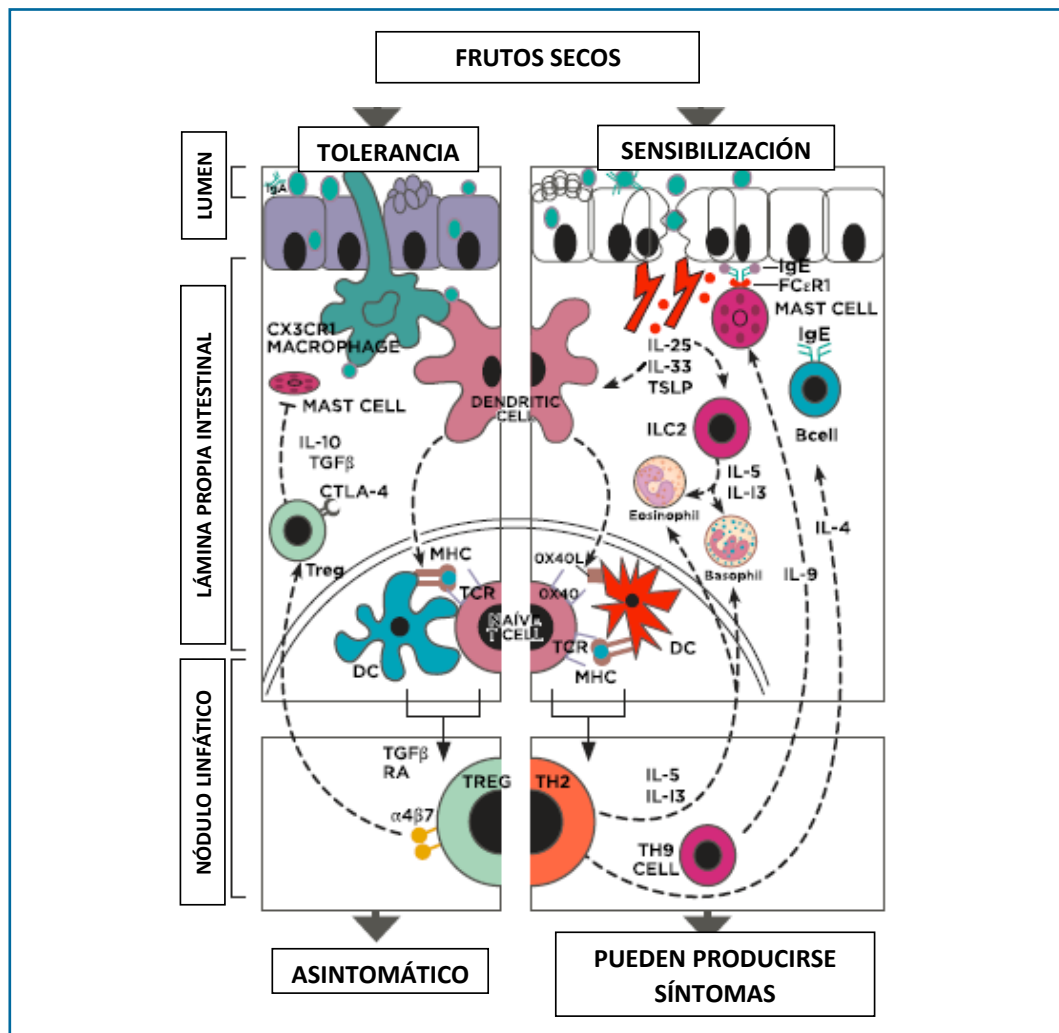
- *TOLERANCIA ORAL*

En condiciones normales, la exposición a los antígenos de alimentos desencadena un mecanismo de hiporrespuesta conocido como tolerancia oral.

En el intestino, los macrófagos CX3CR1 toman muestras de antígenos alimentarios de la luz intestinal y los transfieren a las células dendríticas (CD) de la lámina propia del intestino. Las células dendríticas pueden transportar el antígeno procesado a los ganglios linfáticos, y en el contexto de mediadores no inflamatorios, como el factor de crecimiento transformante-beta (TFG- β) y el ácido retinoico, las CD presentan el péptido alimentario a través del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) a los receptores de células T (TCR) de las células T vírgenes. Esta interacción promueve la diferenciación de las células T vírgenes en células reguladoras T (Tregs) específicas del antígeno alimentario. Las Tregs específicas de alimentos se desplazan a la lámina propia, a través de la integrina $\alpha 4\beta 7$, donde fomentan el mantenimiento de

la tolerancia al antígeno alimentario mediante la expresión del antígeno 4 del linfocito T citotóxico (CTLA-4) y la liberación de las citocinas TGF- β e interleucina 10 (IL-10). El CTLA-4 inhibe las células T auxiliares de tipo 2 (Th2), mientras que el TGF- β y la IL-10 suprimen las células efectoras que promueven la alergia, como los mastocitos, y también fomentan el mantenimiento de la inmunoglobulina A (IgA) en el lumen (14–16).

Figura 1.
Comparación entre los mecanismos inmunológicos de tolerancia y sensibilización tras el reconocimiento del antígeno alimentario en el aparato digestivo.



(Modificado de Anvari S y colaboradores (14). DC: célula dendrítica. TSLP: linfopoyetina estromal tímica. MHC: complejo mayor de histocompatibilidad. TCR: receptores de células T. TGF- β : factor de crecimiento transformante β . RA: ácido retinoico. ILC2: células linfoides innatas de tipo 2. Treg: linfocitos T reguladores.

- *SENSIBILIZACIÓN*

La sensibilización se define como el estado de producir anticuerpos IgE específicos a alimentos, lo que puede ser un precursor del desarrollo de la alergia alimentaria en la cual se produzcan síntomas tras un nuevo contacto con el alimento.

En presencia de daños en el epitelio intestinal, se secretan citoquinas proinflamatorias, como la interleucina 33 (IL-33), la interleucina 25 (IL-25) y la linfopoyetina estromal tímica (TSLP), que promueven la expansión de las células linfoides innatas de tipo 2 (ILC2) y la activación de las células dendríticas. Las CD activadas, en presencia de estas citoquinas proinflamatorias, tomarán y procesarán el antígeno y regularán al alza la expresión de la proteína de superficie OX40L. El complejo mayor de histocompatibilidad en las CD y el TCR en las células T vírgenes interactúan, así como el OX40L en las CD y el OX40 en las células T vírgenes. Esta interacción promueve la diferenciación de las células T vírgenes a células Th2. Las células Th2 y las ILC2 pueden secretar citoquinas proinflamatorias como la interleucina 5 (IL-5) y la interleucina 13 (IL-13), promoviendo así el reclutamiento de eosinófilos y basófilos en la lámina propia del intestino. Las células Th2 también secretan interleucina 4 (IL-4), que permite el cambio de clase de células B para promover la producción de IgE específica a los antígenos alimentarios. Las células T auxiliares de tipo 9 (Th9) también desempeñan un papel importante en el desarrollo de la respuesta alérgica mediante la secreción de interleucina 9 (IL-9), que promueve el reclutamiento de mastocitos (14–16).

Por lo tanto, el desarrollo de la alergia alimentaria se produce en varias fases y requiere repetidas exposiciones a un determinado antígeno alimentario (15–17):

- *FASE DE SENSIBILIZACIÓN*

Tras la absorción y procesamiento del antígeno por las células presentadoras de antígeno (células dendríticas, macrófagos y linfocitos B), estas presentan los péptidos antigénicos a los linfocitos T CD4+ vírgenes. Estos linfocitos bajo la influencia de determinadas citoquinas, sobre todo IL-4 e IL-13, se transforman en linfocitos Th2, los cuales son necesarios para la transformación de linfocitos B en células plasmáticas productoras de IgE específica frente al antígeno.

- *FASE EFECTORA*

La exposición antigénica recurrente induce la unión de moléculas IgE a los receptores de alta afinidad para IgE (FcεRI) que expresan mastocitos y basófilos. Esto desencadena su activación y la posterior liberación de mediadores inflamatorios como histamina y leucotrienos entre otros. Esta respuesta inmunológica desencadena a su vez una respuesta tisular responsable de los síntomas clínicos a distintos niveles. Esta fase aguda ocurre de segundos a minutos tras la exposición al antígeno y puede estar seguida de una fase tardía, al cabo de dos a 24 horas de la exposición al alimento, caracterizada por una infiltración celular del tejido con granulocitos (basófilos y eosinófilos) y linfocitos (principalmente Th2).

- *FASE CRÓNICA*

Esta fase es el resultado de la repetición de sucesivas fases tardías y se basa en un conjunto de células y citoquinas tipos Th1 y Th2 acompañados de dilatación arteriolar, aumento de permeabilidad vascular, estimulación de nervios sensitivos y alteración de la función del tracto gastrointestinal. Produciéndose una persistente infiltración eosinofílica, de basófilos y de linfocitos específicos de alérgenos.

Según su origen, los alérgenos alimentarios involucrados en los procesos de sensibilización y alergia clínica pueden ser de dos tipos (17):

- *TIPO 1*

Suelen ser glicoproteínas de un tamaño de entre 10-70 kDa, solubles en agua y estables al calor y la digestión. Estas características los capacitan para sensibilizar a través de la vía gastrointestinal, por lo que se les ha denominado "alérgenos completos". Pertenecen a este grupo las proteínas de almacenamiento de semillas y las proteínas de transferencia de lípidos (LTP) entre otras (18,19).

- *TIPO 2*

Son proteínas lábiles a altas temperaturas y a la digestión. No son capaces de sensibilizar por vía digestiva, por lo que se les denomina "alérgenos incompletos", ya que son capaces de producir una reacción alérgica pero no de sensibilizar. La sensi-

bilización primaria a estas proteínas se realiza por vía respiratoria e inducen síntomas tras la ingestión de alimentos por reactividad cruzada (RC) produciendo clínica en su mayoría leve. A este grupo pertenecen la familia de las proteínas y homólogos de Bet v1 (18,19).

1.4. VÍAS DE SENSIBILIZACIÓN

Las principales vías de sensibilización por las que un antígeno de los frutos secos puede ser reconocido por el sistema inmune de una persona son las siguientes:

- *GASTROINTESTINAL*

La sensibilización primaria al alimento se produce por vía digestiva y se conoce como "alergia alimentaria de clase I". Se han descrito varios factores que pueden facilitar la entrada del antígeno a través del epitelio intestinal al alterar la función de barrera del intestino como la disfunción de las uniones estrechas que unen las células epiteliales, el tipo de alérgeno, la disminución del pH gástrico, la composición de la microbiota comensal o la madurez tanto del sistema inmune como del tracto digestivo (15,20). Los alérgenos que sensibilizan por esta vía son los de tipo 1, como se ha explicado previamente.

- *RESPIRATORIA*

Se produce por una sensibilización primaria de aeroalérgenos por vía respiratoria y como consecuencia de un mecanismo de reactividad cruzada que puede producir síntomas a nivel digestivo tras la ingestión del alimento. Debido a este fenómeno se produce el síndrome polen-alimentos y este tipo de alergia se conoce como "alergia alimentaria de clase II". La sintomatología digestiva suele producirse años después de la sensibilización respiratoria y los síntomas suelen ser leves, como el SAO. Este tipo de alergia alimentaria es más frecuente en la edad adulta (18,19).

- *CUTÁNEA*

En los últimos años se ha propuesto la piel como otra vía de sensibilización

a alérgenos alimentarios. Existen varias líneas de evidencia que apoyan la hipótesis de que la exposición cutánea temprana a las proteínas alimentarias a través de una barrera cutánea alterada promueve la sensibilización alérgica antes de la primera ingestión de alimentos. Esta posibilidad condujo a la formulación de la hipótesis de la doble exposición, que sugiere que la exposición a los alérgenos alimentarios a través de la piel alterada promueve la sensibilización, mientras que la exposición temprana a los alérgenos alimentarios a través de la vía oral promueve la tolerancia (21). Existe una fuerte asociación entre la DA y la sensibilización alimentaria (22). La piel eczematosa se ha considerado un importante factor de riesgo para el desarrollo de la alergia alimentaria, y los niños con DA expuestos a los alérgenos del cacahuete muestran un mayor riesgo de sensibilización cutánea al cacahuete (23,24). Sin embargo, los modelos experimentales han demostrado que la exposición cutánea no es inherentemente sensibilizadora (25). Además de la exposición al alérgeno, la sensibilización epicutánea a los alérgenos alimentarios puede requerir el efecto de factores adicionales, como el daño de la barrera cutánea (26) y la presencia de adyuvantes exógenos, como las toxinas producidas por los microbios que colonizan la piel eczematosa (27). Algunos alérgenos, como el cacahuete, presentan una actividad adyuvante intrínseca y son capaces de activar las CD (28) y sensibilizar de forma epicutánea sin el uso de adyuvantes externos (27,29). Por lo que en condiciones de disfunción de la barrera cutánea o de inflamación, la sensibilización a los alérgenos alimentarios puede producirse a través de la piel.

1.5. PREVENCIÓN

Teniendo en cuenta la hipótesis de la doble exposición, comentada en el apartado previo, se han realizado varios ensayos clínicos aleatorizados en los que se pretendió introducir un alimento de forma temprana para prevenir el desarrollo posterior de la alergia a ese alimento. Los resultados más notables son los del estudio LEAP (30). En este estudio se aleatorizó la introducción o evitación del cacahuete en niños de entre 4 y 11 meses de edad con alto riesgo de desarrollar alergia al cacahuete (con

eccema moderado-grave y/o alergia al huevo), y demostró una reducción relativa del 86,1% del riesgo de presentar alergia al cacahuete a los 5 años de edad en comparación con los niños que evitaron los productos que contenían cacahuete durante el mismo periodo.

1.6. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Una característica importante de la alergia a frutos secos es el riesgo de presentar una reacción alérgica grave con mínimas cantidades de alérgeno y la frecuente exposición accidental, siendo unos de los principales alérgenos ocultos.

No existe una sintomatología patognomónica y el paciente puede presentar un amplio espectro de síntomas desde síntomas leves hasta reacciones graves como anafilaxia (31).

- *SÍNTOMAS CUTÁNEOS*

La piel es el órgano de choque más frecuentemente afectado y la urticaria con o sin angioedema la forma clínica más frecuente. La urticaria puede ser provocada, no sólo por la ingestión sino también por el roce o contacto indirecto o directo con el alimento (32).

- *SÍNDROME DE ALERGIA ORAL*

Consiste en la aparición de prurito orofaríngeo, palatino y/u ótico con o sin lesiones habonosas peribucales y/o ligero edema de labios. Suele ser de aparición inmediata tras la ingestión del alimento y de duración corta. Es la forma de presentación típica del denominado "síndrome polen-alimentos" (33).

- *SÍNTOMAS RESPIRATORIOS*

La clínica respiratoria puede deberse tanto al tracto respiratorio superior como al inferior. Los pacientes pueden presentar rinitis aguda con prurito e hidrorrea, asociada o no a conjuntivitis, estos síntomas suelen aparecer de forma precoz tras la

exposición al alimento y suelen continuarse de manifestaciones más graves. La afectación del tracto respiratorio inferior puede dar lugar a un broncoespasmo.

Es infrecuente la aparición de síntomas respiratorios de forma aislada. La dificultad respiratoria por edema de glotis, broncoespasmo o ambos suelen aparecer en el contexto de una reacción alérgica grave (31,32)

- *SÍNTOMAS DIGESTIVOS*

Incluyen vómitos, diarrea, reflujo gastroesofágico, dolor abdominal, náuseas y meteorismo entre otros (31,32).

- *SÍNTOMAS CARDIOVASCULARES*

Son las manifestaciones más graves de las reacciones alérgicas alimentarias mediadas por IgE en los pacientes y suelen producirse junto con la afectación de otros órganos, como las manifestaciones respiratorias o cutáneas en el contexto de una anafilaxia (14,32). Los síntomas subjetivos incluyen mareos y debilidad y los signos objetivos taquicardia e hipotensión.

- *ANAFILAXIA*

Se define como aquella reacción sistémica grave y potencialmente mortal que ocurre de forma súbita tras el contacto con el alérgeno. Es la manifestación más grave de la alergia alimentaria y se produce tras una liberación generalizada de mediadores de mastocitos y basófilos. Cuando existe afectación cardiovascular con hipotensión se denomina choque anafiláctico. Hasta un 80% de las anafilaxias cursan con síntomas cutáneos, por lo que estas manifestaciones son muy orientativas para el diagnóstico (34).

Los frutos secos se han asociado con reacciones alérgicas graves con más frecuencia que con otros alimentos (35). Algunos estudios informan de que las alergias a los cacahuets y frutos secos representan entre el 70-90% de las muertes por anafilaxia inducida por alimentos, siendo los frutos secos por sí solos los responsables del 18-40% de ellas (36,37).

1.7. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la alergia a frutos secos mediada por IgE se basa en la historia clínica, que orienta acerca del alimento sospechoso y de su posible mecanismo inmunológico implicado. Además, se debe demostrar la sensibilización alérgica mediante estudios *in vivo* o *in vitro* y la confirmación de la sospecha diagnóstica mediante la prueba de exposición oral controlada (PEC), siempre que no esté contraindicada.

1.7.1. Historia clínica

La historia clínica debe ser detallada para poder establecer una asociación causal entre el alimento y las manifestaciones clínicas referidas por el paciente, orientar sobre el mecanismo inmunológico subyacente y poder determinar las posteriores pruebas diagnósticas a llevar a cabo.

En la evaluación que se hace al paciente se le debe preguntar por los síntomas presentados, posible alimento implicado y su tolerancia previa o posterior a la reacción presentada.

En relación con el alimento se debe preguntar por la forma de consumo del alimento (crudo, cocinado, horneado, tostado), ruta de exposición (oral, inhalación o cutánea), cantidad ingerida y además por el tiempo de latencia entre la ingestión y la aparición de síntomas y la presencia de cofactores como realización de ejercicio, toma de antiinflamatorios no esteroideos o de alcohol entre otros (38–40).

1.7.2. Pruebas cutáneas intraepidérmicas

La prueba intraepidérmica o *prick test* (SPT del inglés *skin prick test*) es el método de elección para detectar sensibilización mediada por anticuerpos IgE.

Es una prueba sencilla, barata y reproducible que permite una evaluación rápida del paciente y que presenta una elevada sensibilidad, pero con una especificidad y valor predictivo positivo (VPP) bajo (38–41).

Los extractos alérgicos utilizados deben de estar estandarizados, es decir, deben tener una actividad biológica reproducible y constante y deben contener los alérgenos relevantes del alimento (42). En ocasiones, y sobre todo con algunos extractos alérgicos de vegetales como los frutos secos, debido a una infrarrepresentación de algunos alérgenos alimentarios y/o debido a la inestabilidad o degradación del alérgeno en el proceso de extracción, se pueden producir falsos negativos. En estos casos se pueden hacer pruebas intraepidérmicas con la técnica del *prick-prick*, (SPPT del inglés *skin prick-prick test*) en la que se realiza la punción directamente del alimento y posteriormente se punciona la piel del paciente. De esta manera, se garantiza la presencia de los alérgenos contenidos en la fuente alérgica y aumenta la sensibilidad cuando se estudian alimentos cuyo contenido antigénico es muy lábil (43). En el diagnóstico de la alergia a los frutos secos el SPPT puede ser útil para encontrar positividad a oleosinas, puesto que los extractos usados para el diagnóstico *in vivo* no contienen estas proteínas (44).

1.7.3. Determinación en suero de IgE específica

El diagnóstico *in vitro* es útil para la identificación del alérgeno o alérgenos causantes y ayuda a comprender el mecanismo inmunológico subyacente causante de la enfermedad.

Las técnicas actualmente utilizadas permiten cuantificar los anticuerpos IgE específicos mediante métodos de enzimoanálisis, capaces de detectar cambios de luz, color o de fluorescencia. Todas estas técnicas se basan en la utilización de una fase líquida o sólida a la que está unida el alérgeno. La valoración del resultado puede ser cuantitativa o semicuantitativa, según el método utilizado (41,42).

Existen dos tipos de ensayos en función del número de alérgenos que se evalúan en cada prueba:

- **Singleplex:** donde se realiza una sola determinación por prueba.
- **Multiplex:** en la que se realizan varias determinaciones por prueba.

Las técnicas comercializadas en España más utilizadas son:

- **ImmunoCAP® de Thermofisher (Uppsala, Suecia):** inmunoenzimoensayo no competitivo, en el cual se presenta el alérgeno en una fase sólida.
- **Immulite® de Siemens:** inmunoenzimoensayo quimioluminiscente, en el cual se emplean alérgenos en fase líquida.

Los métodos validados de detección *in vitro* de IgE específica tienen una alta sensibilidad, pero son poco específicos. Un resultado positivo indica la existencia de sensibilización, pero debe de ser valorado en el contexto clínico del paciente.

La determinación de la IgE específica se utiliza tanto para el diagnóstico como a lo largo de la evolución del paciente para predecir la resolución de la alergia o decidir en qué momento debe realizarse una prueba de exposición oral controlada.

La cuantificación de IgE específica frente a los alimentos no determina su relevancia clínica pero unos valores elevados sí que confieren mayor probabilidad de producir alergia. Se ha determinado que valores de IgE específica >15 kU/L se relacionan con el diagnóstico de alergia a frutos secos (45).

Se han intentado establecer puntos de corte del valor de la IgE específica sérica para seleccionar aquellos pacientes con alta probabilidad de obtener una prueba de exposición oral positiva. Se han publicado artículos con puntos de corte para cacahuete con VPP de 95% , sin embargo, dependen de las características de la población del estudio y la prevalencia de la alergia al alimento en esa colectividad, por lo que no son extrapolables a todas las poblaciones (46).

1.7.4. Diagnóstico molecular por componentes

En la actualidad es posible emplear las moléculas específicas que desencadenan la reacción alérgica dentro de una fuente biológica. Al empleo en el diagnóstico de estas proteínas alergénicas se le denomina “diagnóstico molecular por componentes” (en inglés, *component resolved diagnosis CRD*)).

El concepto de diagnóstico molecular fue descrito por primera vez en 1999 por Rudolf Valenta (47). Consiste en la medición cuantitativa de la IgE específica a los componentes individuales y purificados de una fuente alérgica. Estos alérgenos pueden ser nativos purificados si se extraen directamente de la fuente alérgica o recombinantes si se obtienen por expresión recombinante de ADN que codifica para el alérgeno (42).

La nomenclatura oficial sistemática de las proteínas alérgicas se estableció por el Subcomité de Nomenclatura de alérgenos de la Unión Internacional de Sociedades Inmunológicas (IUIS) (48). Para nombrar los alérgenos se utiliza una abreviatura del nombre científico de la fuente del alérgeno, que consta de un sistema binomial basado en el género, del cual se utilizan las tres o cuatro primeras letras, y la especie, de la cual se utilizan la primera o dos primeras letras. Estas letras van seguidas de un número arábigo que inicialmente se asignaba de forma consecutiva según se identificaban los alérgenos. Además, se puede incluir un prefijo, “n” en caso de que la molécula se haya purificado de la fuente alérgica, o “r” si es el resultado de la expresión recombinante. Los alérgenos identificados se pueden consultar en la página web oficial de la IUIS (www.allergen.org)

El diagnóstico molecular permite un conocimiento individualizado sobre el perfil de sensibilización, pudiendo ofrecer los siguientes beneficios en la alergia alimentaria (40,49–51):

- Mejorar la presunción diagnóstica de la enfermedad alérgica, con la valoración clínica del perfil de sensibilización
- Distinguir la reactividad cruzada de la verdadera co-sensibilización de alérgenos
- Reconocer biomarcadores de bajo o alto riesgo de padecer reacciones alérgicas graves
- Mejora la indicación de medidas terapéuticas y de evitación de alimentos, siendo más precisas y personalizadas para el paciente

El poder hacer el diagnóstico molecular mediante plataformas *multiplex* permite determinar de una sola vez múltiples moléculas alergénicas, por lo que está indicado especialmente en el diagnóstico de pacientes polisensibilizados, en los que sería necesaria una mayor cantidad de suero para la determinación aislada de IgE específica frente a múltiples alérgenos, con el consiguiente detrimento económico (52).

En la actualidad en España existen dos plataformas *multiplex* comercializadas:

- **Micromatriz ISAC® (*Immuno Solid-phase Allergen Chip*):** incluye 112 componentes alergénicos, algunos naturales y otros recombinantes. Determina de forma semicuantitativa los anticuerpos IgE específicos en suero o plasma humano frente a los alérgenos, mediante un anticuerpo secundario marcado con un fluorocromo. La fluorescencia emitida es escaneada y analizada mediante un *software*. Según una recta de calibración estándar los resultados se representan en un rango de 0,3 a 100 de unas unidades arbitrarias denominadas ISU (*ISAC standardized units*).
- **Micromatriz ALEX® (*Allergen Explorer*):** incluye 282 alérgenos, 157 extractos completos de alérgenos y 125 moléculas recombinantes o purificadas. La técnica es similar a la de la micromatriz ISAC®, utilizándose anticuerpos secundarios marcados con un fluorocromo. Pero se realiza previamente una inhibición de los determinantes carbohidratados en el suero del paciente. Determina de forma cuantitativa los anticuerpos IgE específicos y el límite inferior de cuantificación global para anticuerpos IgE específicos de alérgenos es de 0,3 kU_{A/L} (50).

El uso del diagnóstico molecular tiene una especial importancia en la alergia a los frutos secos. Los alérgenos principales de los frutos secos pertenecen a distintas familias de proteínas, cada una de ellas con unas características concretas y una relevancia clínica distinta, pudiendo producir desde síntomas leves hasta reacciones graves anafilácticas en función del grupo proteico al cual esté sensibilizado el paciente. En muchos casos de alergia a frutos secos se ha evidenciado que el uso del

diagnóstico molecular puede identificar mejor a los alérgicos que exclusivamente con los métodos tradicionales de diagnóstico (SPT, IgE específica a extracto total) (53,54). Las plataformas *multiplex* de diagnóstico molecular se han demostrado útiles en el diagnóstico de la alergia a los frutos secos (55,56).

1.7.5. Test de activación de basófilos (TAB)

Los basófilos de sangre periférica, junto con los mastocitos de tejidos, son las células efectoras primarias de las reacciones inmediatas frente a alimentos mediadas por IgE (14). Dado que los basófilos tienen un papel importante en las reacciones alérgicas, se han desarrollado pruebas funcionales *in vitro* que detecten su activación como el test de activación de basófilos.

Esta técnica fue desarrollada en la década de los 90 por Saint-Laudy y colaboradores (57) después de que Knol y colaboradores identificaran el CD63 como marcador de activación de basófilos (58). El CD63 es una proteína asociada a la membrana del lisosoma de tipo 3 que se localiza en los gránulos lisosomales que contienen histamina de los basófilos en reposo. Cuando el basófilo es activado tras la unión del alérgeno a dos moléculas de IgE unidas al receptor de alta afinidad de la IgE específica, se produce la degranulación de los basófilos con la consiguiente expresión de CD63 en su membrana. La base de esta prueba es la detección, mediante citometría de flujo, de CD63 en la membrana de los basófilos activados tras la exposición al alérgeno. Para su realización es necesario el análisis en las primeras 24 horas tras la extracción de la sangre, en tubos heparinizados y conservados a 4°C. Los resultados obtenidos se pueden expresar como "reactividad de basófilos", que es la máxima proporción de basófilos activados medidos a cualquier concentración del alérgeno, o como "sensibilidad de basófilos" que es la concentración más baja de alérgeno que provoca un 50% de la máxima activación de basófilos (59).

El TAB aplicado a la alergia alimentaria tiene una sensibilidad que oscila entre el 77-98% y una especificidad entre 75-100% (59). Dentro de sus usos en esta patología se encuentran:

- **Mejora del diagnóstico:** puede ayudar a discriminar entre alérgicos y tolerantes, como se ha objetivado con el cacahuete, frutos secos y trigo (60–62). Al mejorar el diagnóstico basado en pruebas cutáneas e IgE específica, podría reducir el número de pruebas de exposición controlada necesarias.
- **Monitorización en la resolución natural de la alergia:** en alimentos como la leche y el huevo (63), pudiendo decidirse con mayor seguridad en qué momento hacer las pruebas de exposición controlada al alimento en estudio.
- **Monitorización de la respuesta a tratamientos inmunomoduladores específicos:** se ha objetivado disminución en la activación del TAB tras la inmunoterapia sublingual y oral con cacahuete, huevo y leche (64–70).

A pesar de todas estas utilidades, la técnica requiere un manejo e infraestructura especiales, ya que implica trabajar con células vivas, sin automatización y se precisa de personal especialmente formado, y además es una prueba que todavía no está estandarizada, por lo que en la actualidad se utiliza con fines de investigación y no está integrada en la práctica diaria.

1.7.6. Pruebas de exposición oral controlada

Aunque la historia clínica, las pruebas cutáneas y la determinación de IgE específica sérica pueden ayudar al diagnóstico de la alergia a los frutos secos, la prueba de exposición o provocación oral controlada con el alimento es la prueba diagnóstica definitiva.

Puesto que la co-sensibilización a varios frutos secos es común, muchas veces es necesario hacer pruebas de exposición oral para confirmar la tolerancia y evitar innecesarias dietas de evitación.

La prueba consiste en la administración controlada y en dosis crecientes del alimento en estudio hasta llegar a una dosis máxima que corresponde a la ración del alimento que se consume habitualmente (41,71–73).

Dentro de las principales indicaciones de la exposición oral controlada están el establecer o excluir el diagnóstico, valorar la aparición de tolerancia a lo largo de la evolución y en caso de que se detecte sensibilización a un alimento y se desconozca su tolerancia. La prueba está contraindicada en pacientes que presenten exacerbaciones de otras enfermedades atópicas como asma o dermatitis atópica grave, enfermedades o medicación concomitante que contraindiquen el uso de adrenalina y en mujeres embarazadas.

Las pruebas de exposición oral pueden realizarse en abierto, simple ciego controlada con placebo (PESCCP) o en doble ciego controlada con placebo (PEDCCP). Cuando se realicen las pruebas en ciego es muy importante el enmascaramiento del alimento ya que las fórmulas activa y placebo han de ser idénticas en cuanto a características organolépticas como textura, sabor, color y olor (74).

Para facilitar la realización de estas pruebas de exposición oral se ha publicado recientemente, por el comité de alimentos de la Sociedad Española de Inmunología Clínica y Alergología Pediátrica (SEICAP), un protocolo específico para estas pruebas con frutos secos con el que intentar unificar la metodología del procedimiento (75).

1.8. PRINCIPALES FAMILIAS DE PROTEÍNAS EN LA ALERGIA A LOS FRUTOS SECOS

Los alérgenos implicados en la alergia a frutos secos forman parte de tres tipos de proteínas según el tipo de función que desempeñen en estos alimentos vegetales.

1.8.1. Proteínas de almacenamiento o de reserva

Son proteínas cuya función principal es el suministro de nutrientes durante la germinación. Suelen ser los alérgenos principales de los frutos de cáscara, semillas y legumbres. Se caracterizan por ser resistentes al calor y a las proteasas, no están

relacionadas con alergia a pólenes y la sensibilización a estas proteínas suele ser un marcador de riesgo de reacciones graves. Se clasifican en dos grandes superfamilias: cupinas y prolaminas. Siendo las más importantes de las cupinas las globulinas 7S y 11S y de las prolaminas las albúminas 2S.

1.8.1.1. Superfamilia de las cupinas

De forma característica los miembros de esta familia presentan en su estructura tridimensional dominios de barril beta o dominio cupina que parece estar relacionado con la estabilidad térmica que poseen (76). Dentro de las cupinas se incluyen tres tipos de proteínas, globulinas 7S, globulinas 11S y germinas, estando las dos primeras relacionadas con la alergia a los frutos secos.

1.8.1.1.1. GLOBULINAS 7S, VICILINAS, CONVICILINAS O BETA CONGLUTININAS

Son proteínas glicosiladas, triméricas de 150-180 kDa con dos monómeros de 40-80 kDa de una única cadena polipeptídica. No contienen cisteína ni tampoco puentes disulfuro. Representan hasta el 80% del total de las proteínas de las semillas.

Estas proteínas son resistentes a la digestión proteolítica y poseen gran estabilidad térmica, en ocasiones el calentamiento puede producir un incremento de la potencia alergénica como consecuencia de la pérdida de la estructura beta del dominio cupina y modificaciones covalentes en las cadenas polipeptídicas. Como ocurre con Ara h 1, la vicilina del cacahuete, que presenta un aumento de su capacidad alergénica en los cacahuetes tostados comparados con los cocidos, crudos o fritos (77).

1.8.1.1.2. GLOBULINAS 11S, LEGUMINAS O ALFA CONGLUTININAS

Son proteínas no glicosiladas, hexaméricas de 300-450 kDa ensambladas inicialmente como trímeros. Están formadas por dos dominios que forman una estructura de 40 a 60 kDa. Cada subunidad se compone de dos cadenas: una cadena ligera, básica o beta, de 20 kDa, y la cadena pesada, ácida o alfa, de 30-40 kDa, ambas unidas por un puente disulfuro. Son proteínas solubles en soluciones salinas con un coeficiente de sedimentación 11S, resistentes a la temperatura y a la digestión gástrica (78). Poseen una identidad de secuencia baja (38%), pero con epítotos bien

conservados y una similitud de hasta el 55% aproximadamente que podría justificar la existencia de reactividad cruzada. Suelen ser marcador de fenotipo grave (79).

1.8.1.2. Superfamilia de las prolaminas

Las proteínas de esta familia presentan una estructura tridimensional rica en hélices alfa. La constituyen dos grupos de proteínas, las prolaminas propiamente dichas y las albúminas 2S cuyas secuencias de aminoácidos están muy poco relacionadas. Son las albúminas 2S las que están relacionadas con la alergia a los frutos secos.

1.8.1.2.1. ALBÚMINAS 2S

Son proteínas heterodímeras de 15 kDa aproximadamente y un tamaño de 90 a 135 aminoácidos. Están formadas por cinco alfa hélices unidas por cuatro puentes de disulfuro formando una estructura compacta, lo que les confiere resistencia a las enzimas proteolíticas y a la desnaturalización por calor siendo capaces de producir cuadros de alergia graves. Son solubles en agua y ricas en aminoácidos (glutamina, arginina y cisteína) lo que facilita el proceso de germinación. Las proteínas de este grupo presentan una identidad de secuencia que varía entre 12-98%, siendo mayor entre albúminas de la misma familia como ocurre entre la nuez de nogal (Jugl r 1) y la nuez de pecán (Car i 1) (80,81).

1.8.2. Proteínas de defensa

Son sintetizadas por las plantas como mecanismo de defensa frente al ataque de patógenos (virus, bacterias, hongos), plagas (insectos, nematodos...) así como de condiciones meteorológicas adversas. Son las llamadas proteínas relacionadas con la patogénesis o proteínas PR (del inglés *pathogenesis-related proteins*) (82). Tienen una alta identidad de secuencia y similitud de estructura tridimensional entre ellas lo que constituirá la base molecular de reactividad cruzada entre alimentos de origen vegetal, y entre estos y los pólenes. Dentro de las proteínas de defensa las más frecuentemente implicadas en la alergia a frutos secos son las PR-10 y las PR-14. Se han descrito algunos alérgenos de frutos secos pertenecientes al grupo de proteínas PR-5, taumatinas.

1.8.2.1. PR-10 u homólogos de Bet v 1

Su estructura la conforman hojas beta con alfa hélices formando cilindros unidos por unos bucles dejando una cavidad común que atraviesa la proteína, cuya función pudiera ser la de transportar esteroides. Tienen un peso molecular bajo de entre 15-16 kDa, están presentes de forma constitutiva en las plantas, aunque su expresión génica está inducida por situaciones de estrés tanto bióticas como abióticas por lo que se supone que juegan un papel en la defensa vegetal (1). Son sensibles a tratamientos térmicos y a la digestión por proteasas digestivas, lo que explica que la principal sintomatología se localice en la cavidad oral y sea de carácter leve (33), aunque se han descrito casos de anafilaxia (83). Estas proteínas tienen identidades de secuencia que varían entre un 40 y 90%.

El alérgeno mayor del abedul, Bet v 1, es la proteína más característica de esta familia, por lo que las proteínas de esta familia también se denominan "homólogos de Bet v 1". La sensibilización a las proteínas PR-10 de alimentos se produce por un fenómeno de reactividad cruzada tras la sensibilización primaria al aeroalérgeno Bet v 1, produciendo posteriormente los denominados "síndromes polen-alimentos" (84).

1.8.2.2. PR-14 o proteínas transportadoras de lípidos

Las LTP pertenecen estructuralmente a la familia de las prolaminas, pero funcionalmente forman parte de las proteínas de defensa, relacionadas con la patogénesis (PR-14). Se cree que las LTP transportan fosfolípidos a través de las membranas y se regulan durante la defensa de la planta ante infecciones fúngicas y bacterianas (85). Poseen una estructura terciaria compartida muy estable formada por cuatro cadenas alfa hélices unidas por cuatro puentes disulfuro (86). Son resistentes al calor y a la hidrólisis por enzimas del tracto digestivo, aunque su estabilidad depende del pH (1). Debido a estas características pueden producir síntomas sistémicos y se asocian a reacciones graves, aunque también es frecuente que produzcan síntomas más leves como el síndrome de alergia oral (87). Las LTP se han identificado como alérgenos de una amplia gama de plantas dicotiledóneas, presentes en el polen, las frutas, los frutos secos y las semillas. Estos alérgenos se consideran verdaderos alérgenos alimenta-

rios, lo que indica que la sensibilización se produce a través del tracto gastrointestinal. Se encuentran en mayor cantidad en las capas epidérmicas de los órganos vegetales, con una concentración hasta siete veces mayor en piel lo que justifica que algunos pacientes toleren el alimento pelado (88).

La identidad de secuencia entre distintas LTP es variable, con amplia reactividad cruzada entre ellas pero con una trascendencia clínica alrededor del 30-50% (89).

La LTP más importante en nuestra zona es la LTP del melocotón, Pru p 3. Este alérgeno es la causa más frecuente de alergia a alimentos en el área mediterránea (90).

1.8.2.3. PR-5 o taumatinas

Las taumatinas (TLP del inglés *thaumatin-like proteins*) son proteínas de defensa vegetal, con propiedades especialmente antifúngicas, con un peso molecular que oscila entre los 20-30 kDa y que pertenecen al grupo 5 de las proteínas relacionadas con la patogénesis (82).

Tienen una estructura tridimensional compacta y estable, compuesta por 16 cisteínas conservadas que forman ocho puentes disulfuro, lo que le confiere una alta resistencia a la acción de las proteasas, altas temperaturas y cambios en el pH. Esto supone que puedan producir síntomas sistémicos en pacientes sensibilizados a estas proteínas (91).

Las taumatinas se han descrito en frutas, frutos secos, cereales y pólenes. Mal d 2, de la manzana, fue la primera taumatina alergénica descrita (92). En los últimos años se han descrito en avellana, castaña y almendra (91,93,94).

1.8.3. Proteínas estructurales

1.8.3.1. Profilinas

Las profilinas son proteínas de 12-15 kDa, presentes en todas las células eucariotas y relacionadas con el citoesqueleto celular participando en la forma y mo-

vimiento de las células mediante la polimerización de filamentos de actina. Su estructura tridimensional consiste en siete láminas beta antiparalelas en su parte central recubiertas por hélices alfa a ambos lados (95). Son sensibles al calor y a proteasas digestivas por lo que los pacientes alérgicos a estas proteínas toleran el alimento procesado. El síntoma característico asociado a la alergia a pro linas es el síndrome de alergia oral (96). En alguna ocasión se han descrito síntomas sistémicos en zonas con alta prevalencia de sensibilización a pro lina (97). Presentan una estructura altamente conservada, 70-75% de identidad de secuencia, por lo que la reactividad cruzada entre pro linas homólogas se produce prácticamente en cada fuente vegetal dando lugar a fenómenos de polisensibilización y de alergia al polen asociada a alimentos (95).

1.8.3.2. Oleosinas

Las oleosinas, que se expresan abundantemente en semillas y frutos secos, son proteínas estructurales de los cuerpos oleosos. La estructura de estos cuerpos oleosos u oleosomas la compone un núcleo lipídico rodeado por una capa de fosfolípidos y de proteínas: oleosinas (15-24 kDa), caleosinas (~30 kDa) y esteroleosina (~40 kDa) (98). Además de su papel como proteínas estructurales en los cuerpos oleosos, cada vez hay más pruebas de que también pueden ayudar en la biosíntesis y la movilización de los aceites (99). Se han descrito oleosinas en cacahuete, varios frutos de cáscara como nuez y avellana, y en semillas como girasol y sésamo. Algunas de ellas se han asociado a reacciones alérgicas graves (100,101) y se sabe que el procesado de los alimentos puede alterar las propiedades de las oleosinas incrementando su capacidad alergénica (efecto Maillard). La prevalencia de sensibilización a oleosinas es baja, esto puede deberse a que, por su baja solubilidad en soluciones acuosas los extractos usados para el diagnóstico tanto *in vivo* como *in vitro* no contienen oleosinas (44).

1.9. PRINCIPALES ALÉRGENOS DE LOS FRUTOS SECOS

A continuación, se describen los frutos secos más relevantes de nuestro medio, con especial atención en la avellana, así como sus principales alérgenos recono-

cidos por el Subcomité de Nomenclatura de alérgenos de la Unión Internacional de Sociedades Inmunológicas y los diferentes perfiles de sensibilización.

1.9.1. Avellana

Las avellanas pertenecen a la familia botánica de las *Betulaceae*, como el abedul, y al género *Corylus*, especie *Corylus avellana*. Son originarias de Europa y Asia occidental, pero también se cultivan en Norteamérica (102). La avellana es la parte comestible del fruto y puede consumirse entera, cruda o tostada. Al igual que otros frutos secos, las avellanas tienen un gran perfil nutricional (103,104). Podemos encontrar avellanas en una gran variedad de alimentos procesados como galletas, tartas, pasteles, chocolates, helados, cereales para el desayuno y cremas de repostería.

Las avellanas representan el principal responsable de la alergia a los frutos secos en Europa (7).

En la tabla 1 se describen los alérgenos de avellana introducidos en la actualidad en la base de datos del IUIS.

Cor a 1 (17kDa) pertenece a la familia de proteínas PR-10 y es un alérgeno termolábil. Por lo que pacientes alérgicos a esta proteína suelen tolerar las avellanas tostadas (105). La sensibilización a Cor a 1 y Cor a 2 (14 kDa) está relacionada con alergia a pólenes y a alimentos (19,106).

Cor a 6 es un homólogo de isoavona reductasa de 35kDa, cuya ruta de sensibilización es aérea.

Cor a 8 (9kDa) es un alérgeno mayor en pacientes del área mediterránea, muestra un 60% de identidad de secuencia con Pru du 3 (almendra), 59% con Mal d 3 (manzana) y del 56% con Pru p 3 (melocotón) entre otras frutas rosáceas, lo que indica su relación estructural (107). A menudo, los pacientes alérgicos a la LTP del melocotón sufren de alergia a las avellanas y se ha comprobado que, en estos pacientes, Pru p 3 domina la respuesta inmunitaria a su homóloga en la avellana (108).

Cor a 9 (40 kDa) y Cor a 14 (10 kDa) son considerados alérgenos mayores relacionados con reacciones alérgicas graves (109). Una revisión sistemática y meta-análisis de 2020 demostró que la determinación de IgE específica a Cor a 9 y Cor a 14 es un buen predictor para el diagnóstico de alergia a las avellanas (110).

Cor a 11 (48 kDa) es una globulina 7S, considerada un alérgeno menor. Presenta una alta identidad de secuencia (64%) con Ara h 1 (111).

Se han descrito 3 oleosinas en la avellana, Cor a 12 (17kDa) , Cor a 13 (14-16kDa) y Cor a 15 (17 kDa) (112,113). Las propiedades alérgicas de las oleosinas no están bien definidas y su ubicación en los cuerpos oleosos impide su detección e identificación en frutos secos y semillas, ya que la mayoría de herramientas de diagnóstico utilizan material desgrasado. En algunos casos se han asociado la sensibilización a estas proteínas con reacciones graves en alérgicos a avellana (100).

Cor a TLP, es una taumatina que es muy estable al calor y al pH bajo. Todavía no se ha incluido en el registro del IUIS. En un estudio español realizado por Palacín y colaboradores se objetivó que el reconocimiento de Cor a TLP fue menor del 10% en pacientes alérgicos a avellanas (91).

En el caso de la avellana, la similitud de secuencia de alérgenos más importante se da con los alérgenos de la nuez, como las vicilinas (Cor a 11 y Jug r 6: 72%), las leguminas (Cor a 9 y Jug r 4: 73%), y las albúminas 2S (Cor a 14 y Jug r 1: 60%), y con la legumina contenida en la nuez (Cor a 9 y Car 1: 71%) (114). En el estudio Pronuts se mostró que el 74% de los niños con alergia a la avellana eran alérgicos a la nuez y el 56% de los niños con alergia a la nuez tenían también alergia a la avellana (9).

En la alergia a la avellana se han descrito diferentes perfiles de sensibilización dependiendo de la región geográfica y de la edad del paciente.

En las zonas endémicas de abedul, la alergia a la avellana se correlaciona principalmente con la sensibilización a Cor a 1, homólogo de Bet v 1, que suele causar

síntomas leves, principalmente síndrome de alergia oral (115). En el trabajo realizado en el marco del estudio EuroPrevall para determinar la alergia a avellana en Europa, se objetivó que la exposición al polen de abedul provocaba alergia a la avellana en Europa central y nororiental por sensibilización a Cor a 1, mientras que, en ciudades mediterráneas, como Madrid y Atenas, el per I dominante era Cor a 8, la LTP de la avellana, asociándose a síntomas más graves (115).

Tabla 1.
Alérgenos de la avellana.

NOMBRE DEL ALÉRGENO	IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA
Cor a 1	PR-10 (homólogo Bet v1)
Cor a 2	Profilina
Cor a 6	Homólogo isoflavona reductasa
Cor a 8	LTP
Cor a 9	Globulina 11S
Cor a 10	Proteína de unión luminal
Cor a 11	Vicilina 7S
Cor a 12	Oleosina
Cor a 13	Oleosina
Cor a 14	Albúmina 2S
Cor a 15	Oleosina

PR-10: proteína relacionada con patógenos grupo 10. LTP: proteína transferencia de lípidos.

La edad es otro factor a tener en cuenta. En un estudio de De Knop y colaboradores la mayoría de los niños preescolares y escolares alérgicos a la avellana, en una región endémica de abedul, estaban sensibilizados a Cor a 9, sin relación con la alergia al polen de abedul (116). También encontramos en la literatura varios estudios de niños alérgicos a avellana de regiones mediterráneas en los que los principales alérgenos sensibilizantes son las proteínas de almacenamiento Cor a 9 y Cor a 14 (117–119). Mientras que en los estudios realizados en poblaciones adultas de

ciudades mediterráneas sí que se ha detectado una mayor sensibilización a Cor a 8 (56,120,121).

Respecto a la gravedad de las reacciones, Cor a 9 y Cor a 14 se han descrito como marcadores de alto riesgo de presentar reacciones graves (79,109,119,122). La edad también juega un papel determinante en la gravedad de las reacciones, en un estudio de Masthoff y colaboradores, la gravedad de la alergia a la avellana estaba inversamente relacionada con la edad. Los síntomas objetivos a la avellana eran más frecuentes en los niños (63%) que en los adultos (23%) y dentro del grupo de niños, la frecuencia de la alergia grave a las avellanas fue mayor en los niños más pequeños que en los mayores (123). Cor a 11 también se ha relacionado con la aparición de reacciones graves (124) y se ha detectado sobre todo en niños (125).

1.9.2. Cacahuete

El cacahuete o maní pertenece a la familia de las *Fabaceae* y se le conoce taxonómicamente como *Arachis hypogaea*. El fruto se encuentra en el interior de una lámina na rojiza recubierta a su vez de una cáscara dura y rugosa. Su consumo es elevado en países como Estados Unidos y Reino Unido, donde al igual que en España suele comerse tostado, mientras que en otros países como China su consumo es hervido y frito lo que con gura un diferente grado de alergenicidad, siendo en los primeros de mayor potencial alergénico (126).

Se han registrado 18 alérgenos de cacahuete en la base de datos del IUIS (Tabla 2). Los alérgenos mayoritarios son las proteínas de almacenamiento Ara h 1, Ara h 2 y Ara h 3 (127). Ara h 2 es responsable de la sensibilización primaria a cacahuete de entre un 80-100% de los pacientes alérgicos, y se ha descrito como el alérgeno que mejor discrimina entre alérgicos y tolerantes (128–130), además se ha asociado con reacciones alérgicas graves (131). En los pacientes que tienen alergia a abedul, Ara h 8 (PR-10) se considera un alérgeno principal por su reactividad cruzada con Bet v 1 (132). En el área mediterránea Ara h 9 (LTP) es un alérgeno relevante (133,134). La sensibilización a oleosinas del cacahuete se ha descrito en algunos pacientes con reacciones graves (101).

Tabla 2.
Alérgenos del cacahuete.

NOMBRE DEL ALÉRGENO	IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA
Ara h 1	Vicilina 7S
Ara h 2	Albúmina 2S
Ara h 3	Globulina 11S
Ara h 5	Profilina
Ara h 6	Albúmina 2S
Ara h 7	Albúmina 2S
Ara h 8	PR-10 (homólogo Bet v1)
Ara h 9	LTP
Ara h 10	Oleosina
Ara h 11	Oleosina
Ara h 12	Defensina
Ara h 13	Defensina
Ara h 14	Oleosina
Ara h 15	Oleosina
Ara h 16	LTP
Ara h 17	LTP
Ara h 18	Ciclofilina

PR-10: proteína relacionada con patogénesis grupo 10. LTP: proteína transferencia de lípidos.

Se ha detectado reactividad cruzada entre Ara h 2 y nuez y almendra (135,136) y entre Ara h 3 y avellana (137).

Se han descrito diferentes perfiles de sensibilización en función de la zona geográfica, objetivándose en algunos estudios que Ara h 8 (PR-10) y Ara h 9 (LTP), eran los principales alérgenos para los europeos del centro/oeste y el sur de Europa, respectivamente (138,139).

El reconocimiento molecular de los alérgenos del cacahuete ha mostrado también diferencias relacionadas con la edad, siendo la sensibilización a Ara h 2 y Ara h 6 más frecuente en los niños (8,140–142).

Varios estudios han confirmado que la sensibilización a las proteínas de reserva se produce principalmente en la infancia y rara vez se adquiere en la adolescencia y la edad adulta (139,143).

En las poblaciones adultas de la región mediterránea, el alérgeno del cacahuete más frecuentemente descrito es el Ara h 9 (56,121,134) y se ha descrito una importante reactividad cruzada con el melocotón Pru p 3 (133).

1.9.3. Nuez de nogal

La nuez pertenece a la familia *Juglandaceae* y es el fruto del nogal. La especie *Juglans regia* es la más cultivada en Europa. El fruto está cubierto por una cáscara dura de color pardo. Debido a su aporte nutricional y a sus propiedades beneficiosas para la salud hacen que sea un fruto seco de elevado consumo (1). La nuez es el fruto seco responsable del mayor número de reacciones alérgicas en Estados Unidos (144).

Se han registrado ocho alérgenos de la nuez en la base de datos del IUIS (Tabla 3), de los cuales Jug r 1, Jug r 2 y Jug r 4 se han descrito como alérgenos principales en pacientes con sensibilización primaria a nuez (145–147). Jug r 1 y Jug r 4, proporcionan la mejor distinción entre alergia a las nueces y sensibilización (148–150).

Se ha descrito reactividad cruzada entre la nuez y otros frutos secos, en su mayoría por similitud entre albúminas 2S y globulinas 7S: nuez de Brasil (145), anacardo (151), almendra y avellana (152,153).

En la alergia a la nuez también se han descrito perfiles en función de la región geográfica y la edad del paciente.

En varios artículos publicados se ha encontrado sensibilización predominante

a las proteínas PR-10 (Jug r 5) en el norte y centro de Europa y sensibilización a LTP (Jug r 3) en el mediterráneo (154,155).

Tabla 3.
Alérgenos de la nuez.

NOMBRE DEL ALÉRGENO	IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA
Jug r 1	Albúmina 2S
Jug r 2	Vicilina 7S
Jug r 3	LTP
Jug r 4	Globulina 11S
Jug r 5	PR-10 (homólogo Bet v1)
Jug r 6	Vicilina 7S
Jug r 7	Profilina
Jug r 8	LTP

PR-10: proteína relacionada con patogénesis grupo 10. LTP: proteína transferencia de lípidos.

Según los resultados de un estudio multicéntrico europeo, se confirmó que la sensibilización a las proteínas de reserva de la nuez se adquiere en la infancia y se correlaciona con reacciones graves (155).

1.9.4. Pistacho

El pistacho pertenece a la familia *Anacardiaceae*, junto con el anacardo y el mango. *Pistacia vera* es originaria de Oriente Medio y Asia occidental pero hoy en día también se cultiva en muchos países de América, Europa y África. La clínica que pueden presentar los alérgicos a pistacho es variable, desde un síndrome de alergia oral a anafilaxia (156,157).

La reactividad cruzada del pistacho es muy alta con el anacardo, dado que la identidad de secuencias de Pis v 1 y Pis v 2 con Ana o 3 y Ana o 2 es del 64% y 48% respectivamente (1). En la tabla 4 se detallan los alérgenos del pistacho registrados en la actualidad en la base de datos del IUIS.

Tabla 4.
Alérgenos del pistacho.

NOMBRE DEL ALÉRGENO	IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA
Pis v 1	Albúmina 2S
Pis v 2	Globulina 11S
Pis v 3	Vicilina 7S
Pis v 4	Manganeso superóxido dismutasa
Pis v 5	Globulina 11S

1.9.5. Anacardo

El *Anacardium occidentale* también conocido como anacardo, cajú o nuez de la india es originario de Sudamérica y pertenece a la familia de las *Anacardiaceae*. Su fruto consta de dos partes, el pseudofruto o manzana de cajú y la nuez adyacente al pseudofruto cuya forma es arriñonada (158).

Estudios recientes sobre los anacardos sugieren que la prevalencia de su alergia está aumentando con el incremento del consumo (159). La reacción clínica a los anacardos produce una sintomatología variable, pudiendo llegar a ser grave, incluyendo anafilaxia (160).

Tabla 5.
Alérgenos del anacardo.

NOMBRE DEL ALÉRGENO	IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA
Ana o 1	Vicilina 7S
Ana o 2	Globulina 11S
Ana o 3	Albúmina 2S

En la actualidad se han registrado tres alérgenos del anacardo (tabla 5), todos ellos proteínas de reserva.

La sensibilización a Ana o 3 se ha descrito como un gran predictor de diagnóstico de alergia a anacardo y a pistacho (161).

1.9.6. Almendra

La almendra pertenece a la familia *Rosaceae*, una subfamilia de la familia *Prunoideae*. Se la conoce taxonómicamente como *Prunus dulcis* o *Amygdalus communis* L. y es el fruto del almendro. Es uno de los frutos secos más producidos y consumidos en todo el mundo.

Pru du 6, una legumina 11S, es el componente mayoritario de la almendra y se la conoce también como amandin (162,163). La antigenicidad de la amandina de almendra no parece estar influenciada por el tostado, el escaldado o el autoclave, lo que indica una alta estabilidad de la proteína (164). Kabasser y colaboradores sugirieron que este alérgeno, Pru du 6, podría ser un marcador específico de la alergia a las almendras (165). En la tabla 6 se detallan los alérgenos incluidos en la base datos del IUIS.

Tabla 6.
Alérgenos de la almendra.

NOMBRE DEL ALÉRGENO	IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA
Pru du 1	PR-10 (homólogo Bet v1)
Pru du 3	LTP
Pru du 4	Profilina
Pru du 5	Proteína ribosómica ácida
Pru du 6	Globulina 11S, amandin
Pru du 8	Proteína de reserva antimicrobiana
Pru du 10	Mandelonitril liasa 2

PR-10: proteína relacionada con patogénesis grupo 10. LTP: proteína transferencia de lípidos.

Se ha descrito reactividad cruzada entre la albúmina 2S del cacahuete con almendra y nuez de Brasil (166) y entre almendra y piñón (167). La LTP de la almendra, Pru du 3, presenta reactividad cruzada variable con otras rosáceas (168).

Otros alérgenos que se han caracterizado e identificado, pero no están incluidos todavía en el registro del IUIS son: Pru du 2 (taumatina), Pru du 2S (albúmina 2S), Pru du AP (proteasa aspártica)

1.9.7. Semilla de girasol

Las semillas o pipas de girasol son el fruto del girasol (*Helianthus annuus*), de la familia *Asteraceae* (*Compositae*) y la planta es originaria de América Central. La cáscara o pericarpo esconde la parte comestible. Se suelen consumir tostadas, en forma de aceite o de margarinas.

El consumo de semillas de girasol está ampliamente extendido en el mundo, y los pacientes alérgicos a otros frutos secos suelen tolerarlos, por lo que la alergia a las semillas de girasol es poco frecuente. Sólo se han descrito unos pocos casos de anafilaxia tras su ingesta (169–171).

Hel a 1, alérgeno mayor de 34 kDa, es un aeroalérgeno con reactividad cruzada con otros miembros de las *Asteraceae* (172). Se especula que Hel a 1 es una molécula homóloga de la familia de proteínas similares a la defensina (171). En la tabla 7 se detallan los alérgenos registrados en la base datos del IUIS.

Otros alérgenos como la albúmina 2S (16 kDa), una proteína de almacenamiento de 12kDa, y una LTP de 13 kDa también han sido descritas como potenciales alérgenos en otras publicaciones (170,173).

También se ha resaltado la posible implicación de alérgenos lipofílicos en pacientes que han presentado anafilaxia con semillas de girasol tolerando el resto de frutos secos (170,174).

Se ha descrito una posible reactividad cruzada entre la albúmina 2S de la semilla de girasol con mostaza (175) y otros frutos secos como nuez de Brasil y pistacho (176,177).

Tabla 7.
Alérgenos de la semilla de girasol.

NOMBRE DEL ALÉRGENO	IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA
Hel a 1	—
Hel a 2	Profilina
Hel a 3	LTP
Hel a 6	Pectato liasa

LTP: proteína transferencia de lípidos.

1.9.8. Castaña

El castaño (*Castanea sativa*) pertenece a la familia de las *Fagaceae* y su fruto, la castaña, se encuentra en el interior de una cápsula espinosa.

La alergia a castaña se ha asociado principalmente con el síndrome látex-frutas por reactividad cruzada entre la quitinasa de clase I de la castaña, Cas s 5, y la del látex, Hev b 6.02 (178). Pero la identificación de otros alérgenos ha permitido describir otros patrones de alergia distintos. En un estudio realizado en población española por Sánchez-Monge y colaboradores se objetivó que la LTP de la castaña, Cas s 8, era el principal alérgeno en alergia a castaña no vinculada al síndrome de látex-frutas (179). En la tabla 8 se detallan los alérgenos incluidos en la base datos del IUIS.

Tabla 8.
Alérgenos de la castaña.

NOMBRE DEL ALÉRGENO	IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA
Cas s 1	PR-10 (homólogo Bet v1)
Cas s 5	Quitinasa clase I
Cas s 8	LTP
Cas s 9	Proteína choque térmico 20

PR-10: proteína relacionada con patogénesis grupo 10. LTP: proteína transferencia de lípidos.

Otros alérgenos que se han caracterizado e identificado, pero no están incluidos todavía en el registro del IUIS son: Cas s 2 (prolina), Cas TLP (taumatina).

1.9.9. Piñón

El piñón es la semilla de las especies del género *Pinus*, perteneciente a la familia de las coníferas. Los principales consumidores de este fruto son Europa, América y Asia.

Aunque el piñón puede producir reacciones leves (180), con más frecuencia se ha asociado a reacciones graves (181).

Pin p 1, albúmina 2S, es el único alérgeno del piñón aceptado actualmente por la IUIS (182) (Tabla 9).

Tabla 9.
Alérgenos del piñón.

NOMBRE DEL ALÉRGENO	IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA
Pin p 1	Albúmina 2S

La alergia a piñón posee una reactividad cruzada baja con otros frutos secos y la mayoría de los pacientes están monosensibilizados (183).

Se han identificado otros alérgenos, no incluidos en IUIS: una vicilina 7S (180) y se han descrito la presencia de varias proteínas que unen IgE específica, como una de 17 kDa (184).

1.10. REACTIVIDAD CRUZADA

La RC es aquel fenómeno inmunológico por el cual un mismo anticuerpo IgE reconoce distintos antígenos de fuentes alergénicas distintas con una elevada homología estructural o identidad de secuencia (185). Esto es debido a que el anticuerpo

sólo reconoce a un número limitado de aminoácidos del antígeno, el denominado epítipo. Por lo que con que dos proteínas muestren homología parcial en su secuencia de aminoácidos es suficiente para que pueda existir la reactividad cruzada. Esta similitud de secuencias será responsable de la RC entre familias de alérgenos relacionadas o no taxonómicamente, sin embargo, esta RC que se encuentra en pruebas cutáneas positivas o en múltiples IgE específicas positivas *in vitro* no siempre tiene una trascendencia clínica (186).

En general se considera necesaria una identidad de secuencia mayor del 70% para que se produzca una posible relevancia clínica (187).

Aunque las co-sensibilizaciones a frutos secos son frecuentes, no siempre implican una alergia entre ellos. La mayoría de los pacientes con alergia a frutos secos son alérgicos a más de un fruto seco, pero pocos pacientes tienen alergia a todos ellos (188). La co-existencia de la alergia a los cacahuets y frutos secos se ha descrito durante muchos años. Sicherer y colaboradores (189) informaron de que el 34% de los pacientes alérgicos al cacahuete o a un fruto seco podían presentar una alergia a múltiples frutos secos, dato que fue confirmado con estudios que incluían pruebas de exposición oral controladas para el diagnóstico, reflejando una tasa de co-alergia del 12%- 38,8% (188,190–192).

Recientemente, dos estudios prospectivos que incluyen pruebas de exposición oral, reflejaron nuevos datos sobre estas co-alergias entre frutos secos. El estudio Pronuts mostró una tasa más alta de alergia coexistente a los cacahuets, frutos secos o semillas de sésamo del 60,7%. Mientras que el estudio NutCracker, informó de una menor prevalencia de alergia a múltiples frutos secos, por debajo del 30% (9,193).

Las reacciones cruzadas más fuertes entre los frutos secos parecen seguir asociaciones de familias botánicas (nuez de nogal-nuez de pecán en la familia *Juglandaceae* y anacardo-pistacho en la familia *Anacardiaceae*). Lo que puede deberse a la presencia de epítipos similares o estrechamente relacionados. Así, los estudios Pronuts y NutCracker encontraron que el 97% de los niños alérgicos al pistacho y el

100% de los niños alérgicos a la nuez de pecán eran alérgicos al anacardo y a la nuez de nogal respectivamente. Además, el 64,2% de los pacientes alérgicos al anacardo y el 83,3% de los alérgicos a la nuez de nogal eran respectivamente, co-alérgicos al pistacho y a la nuez de pecán (9,193).

1.11. EVOLUCIÓN NATURAL

La edad de inicio de la alergia a los frutos secos está muy determinada por las costumbres dietéticas de cada país y la edad en la que se introducen los frutos secos. Pudiendo variar la edad media de debut en la alergia a cacahuete y frutos secos de los menores de dos años en Estados Unidos (138), a los seis años y medio en el estudio multicéntrico español AFRUSEN comentado previamente (8).

Normalmente, los niños tienen alergia a los cacahuetes o a un solo fruto seco en los primeros años de vida y con el tiempo presentan múltiples alergias a frutos secos y semillas (194).

Las alergias a los cacahuetes y frutos secos tienden a persistir en el tiempo. Se ha objetivado una resolución del 20% en niños alérgicos a cacahuete y del 9% en los alérgicos a frutos secos (188,195).

1.12. TRATAMIENTO

1.12.1. Dieta de evitación

Una vez con rrmado el diagnóstico de alergia a los frutos secos, los pacientes deben de evitar la ingesta del alimento o alimentos responsables y los contactos, tanto directos como indirectos.

Es importante haber hecho un diagnóstico adecuado para eliminar de la

dieta sólo aquellos alimentos que causan alergia y evitar dietas innecesarias que puedan suponer un trastorno social, económico, psicológico, así como un posible déficit nutricional cuando la evitación debe extenderse a varios grupos de alimentos.

La dieta de evitación hace necesario elaborar un plan de educación con el fin de enseñar a los pacientes a identificar los alimentos que deben ser evitados (41).

Desde el año 2018 se aplica en España la ley 1169/2011 del Parlamento Europeo, por la cual se establecen 14 alérgenos de declaración obligatoria en los productos alimentarios de venta al consumidor entre los que se encuentra los cacahuetes y frutos secos (196).

En los últimos años, el enfoque de las estrategias de evitación ha cambiado de la evitación completa de todos los frutos secos a la evitación selectiva de frutos secos adaptada al paciente (197).

Estudios recientes como Pronuts y NutCracker han demostrado que la introducción selectiva de frutos secos es factible y que mejora la calidad de vida (9,193). En el estudio Pronuts, el número de alergias a distintos frutos secos fue de dos y, de media, los niños pudieron introducir nueve frutos secos o semillas de sésamo en su dieta (9).

1.12.2. Tratamiento de las reacciones accidentales

Dado que realizar una correcta dieta de evitación puede ser difícil y las reacciones accidentales son frecuentes, es necesario que los pacientes y sus familias sepan reconocer con prontitud los síntomas, la gravedad de dichas reacciones y el tratamiento más adecuado.

Ante una reacción leve se usan los antihistamínicos, a los que se pueden asociar corticoides sistémicos en casos de urticaria y/o angioedema. En caso de anafilaxia el tratamiento de elección es la adrenalina intramuscular (IM).

Los pacientes con riesgo de presentar reacciones anafilácticas deben llevar consigo autoinyectables de adrenalina con el fin de poder utilizarlos en caso de sufrir una reacción (198). Según consensos de expertos, se indica la prescripción del autoinyector de adrenalina a los pacientes que han presentado una reacción anafiláctica previa, pacientes con coexistencia de asma inestable o moderada-grave persistente y alergia a alimentos (salvo síndromes pólenes-vegetales). Además, aconsejan considerar su prescripción en pacientes con reacción previa leve o moderada con cacahuetes o frutos secos, adolescente o adulto joven con alergia a alimentos, pacientes que están alejados de asistencia médica y han presentado una reacción alérgica previa leve-moderada a alimentos o pacientes que han presentado una reacción alérgica leve-moderada con trazas de alimento, siempre que en todos estos casos la alergia a alimentos no sea específicamente algún síndrome polen-vegetales (199).

Sin embargo, cuando se prescribe el autoinyector de adrenalina este solo lo llevan consigo en todo momento no más de la mitad de los pacientes y los errores en el uso son frecuentes entre los pacientes y el personal sanitario (200,201).

1.12.3. Tratamiento inmunomodulador

Puesto que la evitación del alimento no es curativa y que en la mayoría de los casos la alergia a los frutos secos es persistente, en los últimos años se han intentado buscar tratamientos para los pacientes, sobre todo pediátricos, que llegados a una determinada edad no han conseguido la resolución natural de su alergia (202).

Las principales líneas de investigación se han centrado en la inmunoterapia específica de alérgeno, la cual ha abarcado sobre todo tres vías de administración: la inmunoterapia oral (ITO), la inmunoterapia sublingual (ITSL) y la inmunoterapia epicutánea (EPIT) (203). A su vez se han abierto nuevas líneas de investigación enfocadas a la inmunoterapia no específica de alérgeno, como los anticuerpos monoclonales, la formulación de hierbas medicinales chinas o los probióticos (204).

2. INMUNOTERAPIA ESPECÍFICA EN LA ALERGIA A LOS FRUTOS SECOS

En los últimos años la inmunoterapia específica para la alergia alimentaria (ITA) ha surgido como una forma de tratamiento activo y potencialmente modificador de la enfermedad. El proceso de inmunoterapia implica la administración de pequeñas dosis, gradualmente crecientes, del alimento al cual el paciente es alérgico con el objetivo de permitirle comer cantidades variables de ese alimento sin presentar reacciones alérgicas y reduciendo el riesgo de presentar reacciones accidentales potencialmente mortales (205).

Los primeros ensayos clínicos publicados que demostraron eficacia, se realizaron hace dos décadas en alérgicos a leche utilizando la vía oral como ruta de administración del alimento (206–208). En la actualidad la inmunoterapia específica a alimentos, sobre todo para leche y huevo, ha sido reconocida en varias guías clínicas elaboradas por sociedades nacionales e internacionales de alergia (202,209–211).

Tener clara la definición de desensibilización clínica, falta de respuesta mantenida y tolerancia oral es fundamental para evaluar las terapias emergentes para la alergia alimentaria (212).

- **Desensibilización:** se define como un aumento del umbral de reacción a un alérgeno alimentario mientras se recibe una terapia activa y podría equivaler a una protección contra la ingestión accidental. La desensibilización puede lograrse tras meses de terapia, pero sólo se consigue mientras se continúe con el tratamiento.
- **Falta de respuesta mantenida:** se define como la falta de reacción clínica a un alérgeno alimentario tras la interrupción del tratamiento activo durante un periodo de tiempo, el cual no está claramente establecido, pero suele ser de entre dos a 12 semanas. Para conseguir este estado son

necesarios varios años de tratamiento y sólo se ha observado en algunos subgrupos dentro del total de los pacientes tratados.

- **Tolerancia oral:** es un término que se utiliza para describir la ausencia total de reactividad clínica a un alérgeno alimentario ingerido, normalmente como un hecho natural. Se cree que este estado de tolerancia clínica no depende de la exposición continuada al alérgeno alimentario. El desarrollo de una verdadera tolerancia inmunológica y clínica después de la inmunoterapia activa para la alergia alimentaria no ha sido definido por ensayos clínicos actuales.

Al analizar el tratamiento habitualmente se realiza una prueba de exposición oral controlada con una cantidad concreta del alimento que evalúa la desensibilización. En el caso de los pacientes que consiguen desensibilizarse, se puede realizar una prueba de exposición oral adicional tras un periodo de interrupción del tratamiento para evaluar la falta de respuesta sostenida. El objetivo principal de la inmunoterapia específica con alimentos sería lograr una eficacia mantenida posterior a la interrupción del tratamiento. Sin embargo, en base a la evidencia actual con frutos secos, un objetivo más alcanzable sería conseguir la desensibilización durante la realización del tratamiento (202).

Recientemente, se ha demostrado que el alcanzar esa desensibilización con un aumento del umbral de reacción a proteína de cacahuete, podría suponer aumentar el nivel de protección contra las reacciones alérgicas a los productos alimentarios que contienen trazas de cacahuetes, lo que evidencia la importancia de alcanzar el objetivo de la desensibilización en este grupo de alimentos (213,214).

Según las recomendaciones de la guía de la EAACI sobre la inmunoterapia en la alergia a los alimentos (202), la ITA está potencialmente indicada en pacientes con evidencia de una alergia a alimentos mediada por IgE y en los que las medidas de evitación son ineficaces, no deseables o causan graves limitaciones en la calidad de vida del paciente. Antes de iniciarla es obligatorio confirmar el diagnóstico de alergia

a los alimentos, demostrando una sensibilización IgE con pruebas cutáneas o *in vitro*, y en caso de dudas se deberá realizar una prueba de exposición oral. La edad de inicio recomendable es en torno a los cuatro o cinco años.

La ITA requiere mucho tiempo y la mayoría de los pacientes pueden presentar efectos adversos. Estos suelen ser leves, pero pueden producirse reacciones sistémicas, incluida la anafilaxia. Por lo tanto, debe realizarse en centros con formación profesional en la atención a la alergia a alimentos, con la experiencia, las competencias y las instalaciones de reanimación necesarias para administrar esta terapia de forma segura y gestionar cualquier complicación, incluida la anafilaxia. Las principales contraindicaciones para llevar a cabo este tratamiento son mala adherencia, asma no controlada o grave, trastornos autoinmunes sistémicos activos, neoplasia maligna activa y esofagitis eosinofílica.

La inmunoterapia alimentaria puede administrarse por diferentes vías, subcutánea, oral, sublingual y epicutánea. Sólo hay unos pocos estudios en la década de los 90 con respecto a la inmunoterapia subcutánea con alimentos, específicamente con cacahuete. Debido a la alta incidencia de reacciones adversas sistémicas graves tuvo que suspenderse esa línea de investigación (215,216). La más estudiada de las vías es la oral en la que el alimento se ingiere, pero también se han examinado como alternativas la sublingual, en la que pequeñas cantidades del alérgeno en gotas se mantiene unos minutos bajo la lengua, y la epicutánea en la que se coloca un parche adhesivo con proteína del alimento sobre la piel.

Hasta la fecha, la mayoría de los ensayos de investigación sobre inmunoterapia alimentaria se han centrado en algunos de los alérgenos alimentarios más comunes en la infancia como son la leche de vaca, el huevo, el cacahuete y los frutos secos.

Debido al tema de esta tesis, en los próximos apartados nos centraremos en los trabajos publicados relacionados con respecto a la inmunoterapia oral, sublingual y sobre todo epicutánea para tratar la alergia a cacahuete y algunos frutos secos.

2.1. TIPOS DE INMUNOTERAPIA

2.1.1. Oral

La inmunoterapia oral se basa en ingerir de forma controlada la proteína del alimento para conseguir un estado de desensibilización. El alimento suele tomarse en su estado natural o con algunas modificaciones como pueden ser el desgrasado, liofilizado o en forma de harina (203).

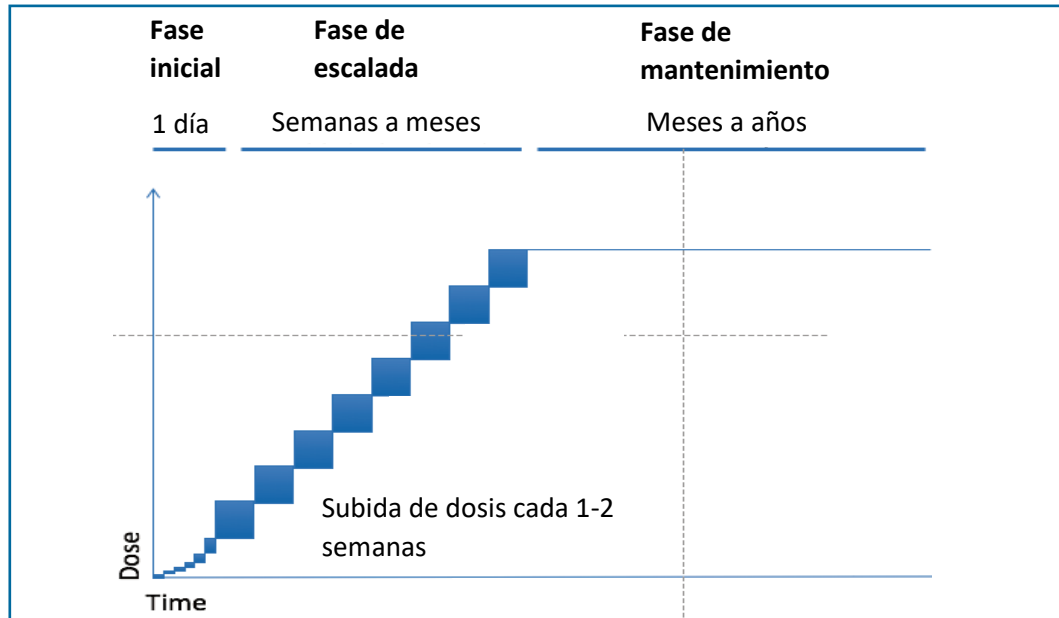
Aunque los protocolos de la ITO suelen ser distintos según el estudio, por lo general se realiza en tres fases: fase inicial, fase de escalada y fase de mantenimiento. La dosificación inicial se realiza generalmente en un solo día con la administración de varias dosis crecientes. Las dosis suelen comenzar con menos de 1 mg y aumentar hasta varios miligramos. En la fase de escalada los pacientes ingieren una dosis diaria del alérgeno alimentario que se aumenta a intervalos regulares, que suelen ser de una a dos semanas, hasta alcanzar la dosis objetivo. Esta dosis objetivo, que normalmente es de varios cientos de miligramos o más según los estudios, se mantiene en la fase de mantenimiento durante meses a años. (Figura 2)

Los múltiples estudios realizados sobre la ITO con cacahuete han confirmado su eficacia en la desensibilización. Eficacia demostrada tanto en la revisión sistemática y meta-análisis de Nurmatov y colaboradores como en la realizada en 2019 por Chu y colaboradores (218,219). Pero parece que son menos los pacientes que consiguen la falta de respuesta mantenida (220,221).

Sin embargo, en contrapartida a la elevada eficacia, la seguridad no es tan buena. En la revisión sistemática y meta-análisis de la ITO con cacahuete de 2019, en la que se incluyeron 12 ensayos con un total de 1041 pacientes, se objetivó que la ITO con cacahuete aumentaba considerablemente las reacciones alérgicas y anafilácticas en comparación con la dieta de evitación o el tratamiento con placebo (219). En los estudios publicados sobre ITO con cacahuete la mayoría de los sujetos experimentan reacciones leves o moderadas durante el tratamiento, aunque la frecuencia suele disminuir durante la fase de mantenimiento, presentando un subgrupo significativo sín-

tomas gastrointestinales (222,223) y diagnosticándose en algunos de ellos esofagitis eosinofílica (224).

Figura 2.
Protocolo habitual utilizado en inmunoterapia oral en ensayos clínicos.



Modificado de Gernez y Nowak (217).

Varshney y colaboradores informaron de cinco situaciones que podían influir en la tolerancia a la dosis de ITO, a pesar de haberse estado tolerando durante semanas o meses, y aumentar el riesgo de reacciones alérgicas. Estas situaciones eran la enfermedad y la fiebre concurrentes, el asma mal controlada, tomar la dosis en ayunas, ingerir la dosis en relación con el ejercicio y tomar la dosis durante la menstruación (225).

A continuación, se comentan los resultados de eficacia y seguridad de los principales estudios publicados en la literatura de ITO con frutos secos y cacahuete.

2.1.1.1. Estudios de ITO con avellana

En la literatura encontramos dos estudios retrospectivos publicados recientemente de pacientes pediátricos, en los que se llevó a cabo una ITO con avellana, sin grupo placebo o de evitación del alimento como control.

En el estudio de Moraly y colaboradores, tras seis meses de ITO, más de un tercio (34%) de los pacientes alcanzaron la desensibilización (superaron una prueba de exposición oral con 1635 mg de proteína de avellana) y la mediana de la dosis desencadenante de síntomas en la provocación oral aumentó de forma significativa respecto a la inicial. Los efectos adversos se recogieron a través de una encuesta, pero ninguno de los referidos fue grave. De los que presentaron síntomas, los más frecuentes fueron los gastrointestinales, pero ningún paciente desarrolló esofagitis eosinofílica. (226).

El segundo estudio incluyó 70 niños alérgicos a avellana en los que se les realizó una ITO en la que se individualizó la dosis de mantenimiento de cada paciente. Al año de tratamiento se consiguió un aumento significativo de la mediana de la dosis acumulada ingerida respecto a la de la exposición oral inicial. Respecto a la seguridad, más de la mitad de los pacientes presentaron un efecto adverso en domicilio, dos pacientes experimentaron reacciones alérgicas sistémicas graves, y uno de ellos precisó el uso de adrenalina. Se interrumpió el tratamiento hasta en un 21,4% de los pacientes (227).

2.1.1.2. Estudios de ITO con nuez

Elizur y colaboradores publicaron un trabajo de ITO con nueces en el que se pudo inducir la desensibilización a las nueces en el 89% de los pacientes, así como la desensibilización cruzada a las nueces de pecán y las avellanas en pacientes que tenían co-alergias a estos frutos secos (228). En cuanto a la seguridad de la ITO con nueces los acontecimientos adversos no fueron infrecuentes, el 85% de los pacientes tuvieron una reacción adversa durante la subida de dosis en la clínica y el 15% requirieron adrenalina por reacciones en domicilio.

2.1.1.3. Estudios de ITO con anacardo

Similar al estudio previo, el mismo grupo de Elizur y colaboradores han publicado recientemente un trabajo sobre ITO con anacardo (229). Consiguieron una desensibilización al anacardo en el 88% de los pacientes del grupo activo y además

todos los pacientes que eran co-alérgicos al pistacho y cuatro de los ocho pacientes alérgicos a la nuez se desensibilizaron a esos frutos secos. La mayoría de los pacientes experimentaron reacciones adversas al tratamiento durante la subida de dosis en la clínica y el 52% presentaron síntomas en domicilio, pero la mayoría fueron leves. Sólo tres pacientes (6%) fueron tratados con adrenalina en su hogar.

2.1.1.4. Estudios de ITO múltiple a frutos secos

Se ha realizado algún trabajo de desensibilización conjunta a múltiples alimentos entre los que se incluyen varios frutos secos (230). En algunos de ellos el omalizumab, anticuerpo monoclonal anti-IgE, mejoró la eficacia de la ITO y permitió una desensibilización segura y rápida (231).

2.1.1.5. Estudios de ITO con cacahuete

La ITO con cacahuete es la inmunoterapia con frutos secos de la que encontramos más bibliografía. La primera serie de pacientes publicada sobre la ITO con cacahuete la llevaron a cabo Jones y colaboradores en 2009 (232). Desde entonces encontramos gran cantidad de investigaciones, algunas comparadas con placebo y otras con evitación del alimento, en las que se confirma la eficacia de esta inmunoterapia con cacahuete con porcentajes de desensibilización que van del 62% al 93% (232–234). En estos estudios la mayoría de los pacientes presentaron efectos adversos y el picor oral y los síntomas gastrointestinales de dolor abdominal, náuseas y vómitos fueron los más frecuentes.

Posteriormente se llevaron a cabo varios ensayos clínicos con la finalidad de hacer avanzar el tratamiento hasta los organismos reguladores, como la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA) y la Agencia Europea del Medicamento (EMA) y ponerlo a disposición de la población. Utilizando un producto propio de harina de cacahuete llamado AR101, se desarrollaron tres estudios multicéntricos, uno fase 2 y dos fase 3 (PALISADE y ARTEMIS) (223,235,236).

En el trabajo fase 2, el 79% de los pacientes con tratamiento con AR101 se consideraron respondedores, frente al 19% de pacientes con placebo. Los síntomas

gastrointestinales fueron los eventos adversos más comunes relacionados con el tratamiento en ambos grupos.

El estudio PALISADE, multicéntrico de fase 3, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo ha sido el mayor estudio de ITO con cacahuets hasta la fecha (223). Se incluyeron 496 sujetos de entre 4 y 17 años, realizando un tratamiento de 12 meses con una dosis de mantenimiento de 300 mg de proteína de cacahuete, frente a placebo. El 67,2% del grupo activo fueron respondedores, en comparación con el 4% de los sujetos que recibieron placebo. También se reclutaron otros 55 sujetos de entre 18 y 55 años, que fueron sometidos a una aleatorización y un tratamiento idénticos, pero en los que se consiguió una tasa de respuesta menor (41,5%). Este resultado no alcanzó la significación estadística, por lo que los autores sugieren la ventaja de iniciar la terapia a una edad más temprana. La gran mayoría de los sujetos (98,7%) que tomaron el AR101 informaron de efectos adversos. Al menos en el 59,7% de ellos tuvieron al menos un efecto adverso moderado y un 4,3% uno grave. El 11,6% de los sujetos que tomaron AR101 se retiraron debido a los efectos secundarios, y el 6,5% lo abandonaron debido a los efectos adversos relacionados con el aparato digestivo. Sólo un paciente fue diagnosticado de esofagitis eosinofílica.

En 2020 Hourihane y colaboradores confirmaron la eficacia y seguridad de AR101 en el protocolo de ITO en una población totalmente europea de niños y adolescentes alérgicos al cacahuete en el estudio ARTEMIS (236). En comparación con PALISADE, ARTEMIS tuvo una duración de tratamiento más corta (9 meses) y un criterio de valoración de la eficacia más elevado. El 58,3% del grupo activo fueron respondedores, en comparación con el 2,3% del grupo placebo. La mayoría de los pacientes, 98,5% en el grupo activo y 97,7% en el grupo placebo tuvieron uno o más efectos adversos durante el tratamiento, casi todos fueron leves o moderados. En general, los participantes del grupo activo (90,9%) tuvieron una mayor incidencia de trastornos gastrointestinales que los participantes tratados con placebo (76,7%). No se notificaron acontecimientos graves relacionados con la inmunoterapia ni en el grupo de AR101 ni en el de placebo y tampoco se notificó ninguna anafilaxia. Los

resultados de estos trabajos han llevado a que en la actualidad la ITO para cacahuets con el preparado AR101 haya sido aprobada por la FDA y la EMA.

Con la creciente aceptación de que la ITO con cacahuete era capaz de inducir desensibilización, Vickery y colaboradores (221) abordaron la cuestión de la falta de respuesta mantenida a pesar de suspender el tratamiento. Realizaron una investigación con 39 pacientes pediátricos en la que 24 realizaron la ITO con cacahuete y en la que se objetivó un 50%, análisis por protocolo, de falta de respuesta mantenida tras un mes de retirada de la inmunoterapia oral.

Hasta la fecha, no está claro qué dosis de mantenimiento es más eficaz para mantener la desensibilización clínica con unos efectos secundarios mínimos.

En el artículo de Chinthrajah y colaboradores se observó que la interrupción o incluso la reducción de la dosis de mantenimiento de proteína de cacahuete al día podía dar lugar a un aumento de la probabilidad de recuperar la reactividad clínica a grandes dosis de cacahuete (237).

En esta misma línea de dosis necesaria para el mantenimiento de la eficacia, en 2021 Vickery y colaboradores quisieron comparar las diferencias entre recibir dosis de mantenimiento de proteína de cacahuete a diario o no, para lo que realizaron un estudio de seguimiento en abierto durante dos años. La tasa de respuesta a la desensibilización, fue mayor en el grupo que recibía la dosis diaria comparado con el que no la recibía a diario (238).

Para mejorar la seguridad de la ITO con cacahuete se han planteado varias opciones, como el uso de tratamiento adyuvante con omalizumab. Su uso como pretratamiento y su administración continuada en la fase de escalada ofrece una protección significativa frente a las reacciones mediadas por IgE, permitiendo un aumento de dosis más rápido y seguro, con menos retiradas debidas a efectos adversos relacionados con la dosis (239,240).

Los resultados del estudio LEAP (30), comentado previamente, sugirieron que la introducción temprana del cacahuete era eficaz para la prevención secundaria de la alergia al cacahuete en lactantes de alto riesgo ya sensibilizados al cacahuete, lo que planteó la posibilidad de que, iniciar el tratamiento en edades más tempranas puede ser una ventaja para la ITO.

Siguiendo esta hipótesis se han publicado dos trabajos en los que se ha realizado una ITO con cacahuete en alérgicos a cacahuete en menores de tres años con buenos resultados (241,242). Se han obtenido tasas de desensibilización de entre el 71-81%, e incluso llegando en uno de estos estudios a resultados de falta de respuesta mantenida del 78% tras 4 semanas de interrupción del tratamiento (241).

2.1.2. Sublingual

A pesar de la alta eficacia conseguida con la ITO con alimentos el principal problema con esta terapia es la elevada aparición de efectos adversos, por lo que una de las razones para el desarrollo de la ITSL fue conseguir un aumento en la seguridad de este tipo de tratamientos reduciendo los efectos secundarios.

Para la administración de la ITSL el extracto líquido del alérgeno se aplica bajo la lengua donde se mantiene durante unos dos o tres minutos antes de escupirlo o tragarlo. El protocolo habitual de administración de dosis hasta llegar a la de mantenimiento es similar al explicado en el apartado de ITO (217). Sin embargo, las cantidades administradas de proteína de alimento son mucho menores comparadas con la ITO, tanto las de inicio, microgramos, como la dosis de mantenimiento que suelen estar entre 1-7 mg de alimento. Una vez alcanzada la dosis de mantenimiento se continúa a diario durante meses o años.

La ITSL aumenta significativamente el umbral de reactividad en los sujetos que cumplen el tratamiento, aunque con una eficacia reducida en comparación con la ITO (243) y los resultados de la desensibilización conseguida son variables entre estudios (65,243,244). Respecto a la falta de respuesta mantenida, hay pocos datos,

habiéndose con rrmado en un porcentaje bajo de pacientes en algunos de los estudios de ITSL con cacahuete (68). El perfil de seguridad sin embargo es superior a la ITO, puesto que a pesar de que los efectos adversos suelen ser frecuentes suelen ser leves y limitados a la región orofaríngea, y los moderados y graves ocurren con menor frecuencia (244). En la actualidad no se ha descrito la aparición de esofagitis eosinofílica secundaria a la ITSL con alimentos, aunque el hecho de que se haya descrito en la ITSL con aeroalérgenos sugiere un riesgo teórico (245). En relación con la adherencia al tratamiento, a pesar de la seguridad y la facilidad de administración, algunos estudios mostraron una tasa de abandono inesperadamente alta (68).

A continuación, se comentan los resultados de eficacia y seguridad de los principales trabajos publicados en la literatura de ITSL con avellana y cacahuete.

2.1.2.1. Estudios de ITSL con avellana

Se ha realizado un único estudio de ITSL con frutos secos, en concreto con avellana y de población española. En 2005 Ernesto Enrique y colaboradores publicaron un ensayo clínico doble ciego controlado con placebo, en el que incluyeron 23 pacientes de 18 a 60 años con alergia con rrmada a la avellana (246). El objetivo era analizar la eficacia y tolerancia de una ITSL con un extracto estandarizado de avellana. Doce pacientes se aleatorizaron al grupo activo y 11 al placebo. La eficacia se midió mediante una prueba de exposición oral doble ciego controlada con placebo tras ocho a 12 semanas de tratamiento. Se objetivó una desensibilización a 20 g de avellana en el 50% de los pacientes del grupo activo, en comparación con el 9% de los sujetos del placebo. También se observó un aumento significativo de la dosis media desencadenante de síntomas de 2,3 a 11,6 g en los sujetos del grupo activo. En cuanto a la seguridad, hubo tres reacciones sistémicas (0,2% de las dosis administradas), todas ellas ocurridas durante la fase de escalada y que respondieron a los antihistamínicos. Las reacciones leves acompañaron al 7,4% de las dosis.

En 2008 se publicó el seguimiento durante un año del grupo activo del trabajo previo (247). Sólo en siete pacientes se continuó la ITSL, pero no todos la

continuaron durante todo el año. En esta fase, la dosis desencadenante de síntomas aumentó hasta 14,57 g, también con significación estadística, y más del 70% de los pacientes alcanzaron la dosis máxima prevista de 20 g. Concluyeron que el aumento significativo del umbral de tolerancia debería traducirse en una protección, al menos parcial, contra la mayoría de las ingestas involuntarias de avellanas.

2.1.2.2. Estudios de ITSL con cacahuete

De la ITSL con cacahuete hay varias publicaciones hasta la fecha, una de ellas comparándose con la ITO con cacahuete.

En estos trabajos se confirma la eficacia de este tipo de inmunoterapia, con un aumento en la dosis desencadenante de síntomas y porcentajes de pacientes respondedores de hasta el 70% como en el estudio de Fleisher y colaboradores (243,244,248)

Los datos de seguridad son muy buenos, la mayoría de efectos adversos presentados son los de prurito orofaríngeo transitorio, y el uso de adrenalina es muy bajo.

Al igual que con la ITO con cacahuete, también en la ITSL se ha querido investigar sobre la posibilidad de alcanzar la falta de respuesta mantenida tras un periodo de interrupción de la inmunoterapia.

Tras la publicación en 2013 de un estudio multicéntrico sobre ITSL con cacahuete por el Consorcio para la Investigación de la Alergia a los Alimentos (CoFAR), se amplió posteriormente con el seguimiento durante tres años (68) para comprobar la tasa de falta de respuesta mantenida tras ocho semanas de interrupción de la ITSL. De los 37 pacientes que superaron con éxito la PEDCCP, cuatro pacientes (11%) superaron una segunda PEDCCP tras ese período de interrupción del tratamiento. Además, en esta fase de seguimiento se redujeron los efectos adversos, ya que sólo el 18,3% de las dosis causaron síntomas y sólo el 4,1% de las dosis causaron síntomas distintos del picor de boca, pero sin síntomas graves ni uso de adrenalina.

Narisety y colaboradores compararon directamente la ITSL con la ITO para tratar la alergia al cacahuete (243). Aunque la ITO aumentó el umbral de reacción en mayor medida que la ITSL, 141 veces frente a 22 veces respectivamente, la ITSL seguía siendo capaz de aumentar significativamente el umbral de reacción. Además, hubo menos síntomas relacionados con las dosis de ITSL (9% de las dosis que afectaron al 90% de los participantes) en comparación con las dosis de ITO (43% de las dosis que afectaron al 100% de los participantes) y más síntomas orofaríngeos, respiratorios y gastrointestinales con la ITO en comparación con la ITSL.

2.1.3. Epicutánea

2.1.3.1. La piel como nueva ruta de administración de inmunoterapia

La piel es un órgano multifuncional expuesto constantemente a los estímulos ambientales. Como tal, debe realizar numerosas tareas para mantener la homeostasis necesaria para la salud. Dentro de esas funciones está la de barrera física e inmunológica (249).

La capacidad de la piel para llevar a cabo estas funciones está estrechamente relacionada con su estructura, que consiste en una epidermis externa que recubre una dermis interna.

La epidermis está compuesta por cuatro capas, siendo el estrato córneo (la capa más externa) el principal responsable de proporcionar la barrera protectora entre el cuerpo y el entorno externo. La dermis contiene fibras de colágeno que proporcionan un marco estructural que alberga un entorno inmunológico dinámico (249,250).

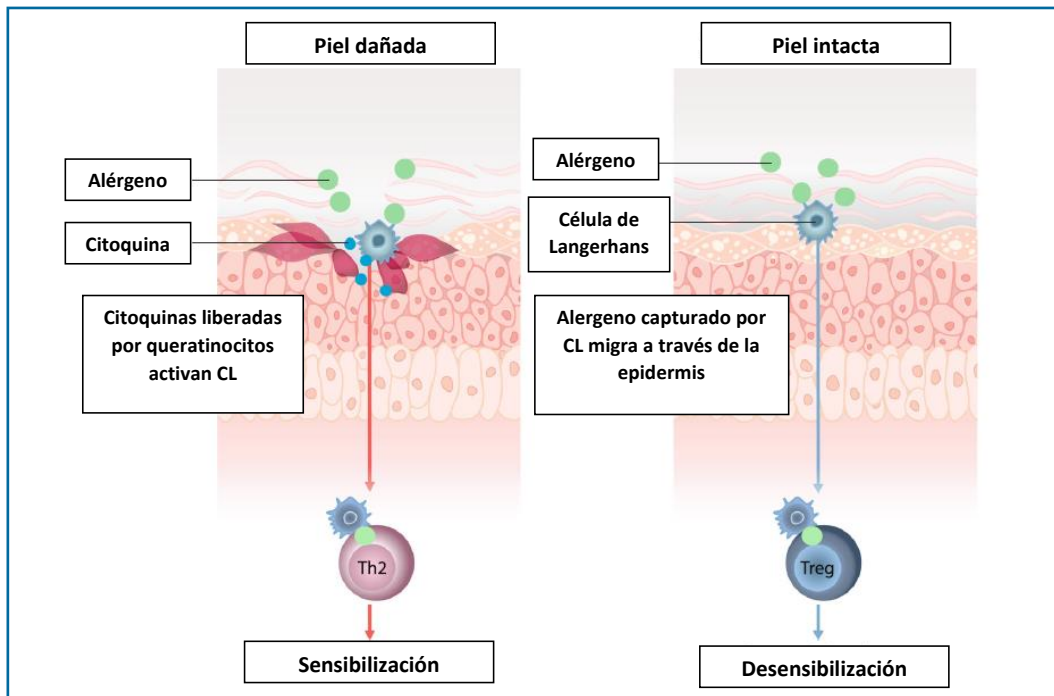
Las funciones inmunitarias de la piel implican una comunicación continua entre la piel y el entorno, lo que lleva a la aparición de respuestas protectoras frente a traumatismos o lesiones, toxinas e infecciones, y al mantenimiento de la tolerancia como la prevención de respuestas alérgicas y la inhibición de la autoinmunidad.

La epidermis alberga dos células clave en las funciones inmunitarias de la piel, los queratinocitos y las células dendríticas residentes llamadas células de Langerhans (CL). Los queratinocitos diferencian los agentes patógenos de los inofensivos y actúan como mediadores de la respuesta inmunitaria. Las CL son células presentadoras de antígenos de la epidermis que se agrupan alrededor de los folículos pilosos, procesan los antígenos y migran a los ganglios linfáticos regionales, donde desempeñan un papel importante durante la infección y la inducción de la tolerancia (251–253).

Además, la epidermis no está vascularizada, lo que limita el acceso al torrente sanguíneo.

La exposición de la piel a los alérgenos puede inducir diferentes tipos de respuestas inmunitarias que están mediadas por la integridad de la barrera cutánea como podemos ver en la figura 3.

Figura 3.
Respuesta inmune de la piel tras contacto con el alérgeno.



Modificado de Bird y colaboradores (254). CL: célula de Langerhans. Th2: célula T cooperadora de tipo 2. Treg: célula T reguladora.

Cuando la piel está dañada, la exposición a los alérgenos puede inducir una sensibilización. Tras el daño epitelial superficial, los queratinocitos secretan "alarminas" (IL-25, IL-33, TSLP), citoquinas promotoras de las células Th2, lo que conduce a la activación de las células de Langerhans y a la posterior inducción de la sensibilización a los alérgenos (255).

Por el contrario, la aplicación de alérgenos en la piel intacta ha demostrado la supresión de la sensibilización a los alérgenos orales y la posterior inducción de la desensibilización. La hidratación de la capa córnea mejora la captación de alérgenos al aumentar la permeabilidad y evitar la liberación de citoquinas proinflamatorias. En la piel intacta, las células de Langerhans tolerogénicas pueden activar el sistema inmunario adaptativo mediante la inducción de células Tregs (256).

Aprovechando las propiedades inmunológicas de la piel, la EPIT representa una forma prometedora de inmunoterapia y un método para inducir una posible desensibilización alimentaria con una facilidad de uso que es menos invasiva y puede disminuir el riesgo de reacciones sistémicas en comparación con otros enfoques de inmunoterapia.

2.1.3.2. Aspectos generales de la EPIT

El objetivo de la EPIT es inducir la desensibilización por una transferencia pasiva de proteínas a través de la piel.

Aunque se había publicado previamente algún trabajo sobre el uso de la EPIT para tratar la alergia respiratoria (asma y rinoconjuntivitis) (257,258), no fue hasta 2010 que aparece en la bibliografía médica el primer estudio de EPIT para tratar la alergia alimentaria (259). Tras este estudio piloto en niños alérgicos a leche se han llevado a cabo varios trabajos sobre el uso de la EPIT para tratar la alergia al cacahuete (260–263).

El dispositivo que suele utilizarse en las investigaciones referidas es el parche epicutáneo Viaskin® (DBV Technologies, París, Francia). Este parche incluye una cámara de condensación formada por una película oclusiva recubierta electrostáticamente

con el alérgeno en seco, que se separa de la piel del paciente por una corona adhesiva. Al aplicarlo se produce la condensación dentro de la cámara y la posterior solubilización y absorción epicutánea del alérgeno a través de la piel intacta (264–266). Las propiedades adhesivas del dispositivo están diseñadas para ser lo suficientemente fuertes como para proporcionar un nivel aceptable de fijación, pero también para minimizar el dolor y evitar daños al retirarlo de la piel sensible y atópica de los pacientes alérgicos (267).

El parche Viaskin® se aplica sobre la piel intacta diariamente en la espalda o en la parte superior del brazo. Los protocolos suelen empezar con la aplicación del parche unas horas al día con un aumento gradual hasta llegar a las 24 horas diarias. La dosis de mantenimiento contenida en los parches suele estar entre 50-500 microgramos de proteína del alimento. Las dosis son mucho menores que las usadas tanto en la ITO como en la ITSL (268).

Se ha demostrado que la EPIT aumenta el umbral de tolerancia y produce desensibilización, pero esta eficacia es más modesta en comparación con la ITO (260). En contraposición, la EPIT parece tener un perfil de efectos secundarios más favorable. La mayoría de los efectos adversos que se producen se limitan a síntomas cutáneos locales en el lugar de aplicación del parche y las reacciones sistémicas son infrecuentes (269). En ninguno de los estudios publicados con EPIT con alimentos se ha producido un caso de esofagitis eosinofílica.

Respecto a la adherencia a esta terapia se ha demostrado que es muy alta, mayor del 95% en los estudios publicados (260,270,271).

2.1.3.3. Estudios de EPIT con cacahuete

Todos los trabajos de EPIT con cacahuete comentados a continuación se han realizado con el dispositivo Viaskin®.

Tras realizarse el primer estudio piloto en 2010 en el que se probó la seguridad de la EPIT en 19 niños alérgicos a leche (259), se llevó a cabo posteriormente un

segundo ensayo fase 1 para evaluar la seguridad y tolerancia de la EPIT en alérgicos al cacahuete (263). En este estudio doble ciego controlado con placebo, se incluyeron 100 pacientes (30 de ellos, adultos, con alergia grave) de 6 a 50 años, aleatorizados a tratamiento activo (dosis 20 g, 100 g, 250 g o 500 g de proteína de cacahuete) o placebo. Los parches se aplicaron durante 24 o 48 horas, y el tratamiento completo duró dos semanas. Los sujetos iniciaron el tratamiento de forma secuencial, comenzando con el parche de cacahuete de dosis baja en la cohorte de adultos y pasando posteriormente a las cohortes de adolescentes y niños. La EPIT resultó ser segura y bien tolerada en todas las edades. No se registraron diferencias significativas en los efectos adversos sistémicos frente al grupo de placebo. Además, en el régimen de 24 horas, se notaron menos acontecimientos adversos locales en comparación con el régimen de 48 horas. No hubo diferencias en los perfiles de seguridad de las distintas edades ni en las cohortes con distinta gravedad de la alergia al cacahuete.

Sampson y colaboradores publicaron en 2017 un ensayo clínico de fase 2, doble ciego, controlado con placebo con 221 sujetos alérgicos al cacahuete de entre 6 y 55 años, el estudio VIPES (261). Los participantes, que tenían una prueba de exposición oral inicial con dosis desencadenante menor o igual de 300 mg, fueron asignados aleatoriamente a una dosis de 50 g, 100 g, 250 g o placebo con aplicación diaria durante 12 meses. La respuesta al tratamiento fue mayor y estadísticamente significativa para los sujetos tratados con el parche de cacahuete de 250 g (50%) comparación con el placebo (25%). No se observaron diferencias para el parche de 100 g. Al hacer el análisis por rangos de edad, sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas con respuestas al tratamiento mayores en el rango 6 a 11 años (53,6% de respuesta frente al 19,4% de placebo).

Tras la finalización del ensayo, 168 sujetos participaron en la extensión de dos años, el estudio OLFUS-VIPES, en abierto, y todos pasaron al parche de 250 g, obteniéndose tasas de respuesta del 59,7% y del 64,5% tras 12 y 24 meses de terapia extendida respectivamente. Las tasas de respuesta fueron ligeramente superiores en el caso de los niños (6-11 años) en ambos puntos temporales, con un 63,3% y un 68,4% respectivamente. Estos datos sugieren que el tratamiento prolongado podría

mejorar la respuesta al tratamiento. Las reacciones adversas fueron más frecuentes en el grupo activo y las reacciones cutáneas locales leves o moderadas fueron el efecto adverso más frecuente. No se notaron efectos adversos graves de carácter sistémico (261).

En el mismo año se publicó otro ensayo multicéntrico, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo por Jones y colaboradores, realizado por el CoFAR (262). Se incluyeron 74 personas alérgicas a cacahuete de entre 4 y 25 años de edad, con aleatorización a dosis de 100 g, 250 g o placebo durante un periodo de 52 semanas. Respondieron al tratamiento el 45,8% y el 48% de los pacientes tratados con las dosis de 100 g y 250 g, respectivamente frente al 12% del grupo placebo, lo que fue estadísticamente significativo para ambas dosis de EPIT. La respuesta al tratamiento fue mayor entre los niños más jóvenes (4-11 años). En cuanto a la seguridad, las reacciones locales y sistémicas se produjeron con mayor frecuencia en el grupo con tratamiento activo. Aunque la mayoría de estas reacciones se limitaron al lugar del parche o fueron leves. La adherencia al tratamiento fue muy alta, del 97,1%.

Los resultados del único ensayo de fase 3 hasta la fecha, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo de EPIT con cacahuete (PEPITES) se publicaron a principios de 2019 (260). En este trabajo llevado a cabo en 31 centros de cinco países, 356 sujetos alérgicos al cacahuete de entre 4 y 11 años fueron aleatorizados a la aplicación diaria de un parche de 250 g de proteína de cacahuete o de un placebo. La tasa de respuesta fue del 35,3% para el grupo activo y del 13,6% para el grupo placebo, lo que resultó estadísticamente significativo. Sin embargo, se preespecificó que el ensayo se consideraría positivo si se alcanzaba un umbral del 15% o más en el límite inferior de un intervalo de confianza del 95% en torno a la diferencia en la tasa de respuesta entre el parche activo y el placebo. Puesto que este umbral no se alcanzó, el resultado final no se consideró positivo. El tratamiento con el parche de cacahuete fue bien tolerado. La incidencia de reacciones adversas fue similar entre los dos grupos. En su mayoría fueron reacciones en el lugar de aplicación. Diez participantes del grupo activo (4,2%) y seis del grupo placebo (5,1%) informaron de efectos adversos graves a lo largo del estudio. Sólo cuatro de 238 participantes (1,7%) del grupo

activo interrumpieron el tratamiento debido a los efectos adversos. La adherencia al tratamiento fue muy alta (98,5%) y comparable entre grupos.

En 2020 se publicó el seguimiento de la extensión abierta del estudio PEPITES, el estudio PEOPLE (271). Se pretendió evaluar la seguridad y la eficacia de dos años adicionales de EPIT del trabajo PEOPLE en curso. Tras ese periodo de tiempo con el tratamiento diario con el parche de 250 µg, los sujetos que habían recibido el mismo parche en PEPITES se sometieron a una PEDCCP en el mes 36, con una evaluación opcional de falta de respuesta mantenida en el mes 38, tras dos meses de interrupción del tratamiento. En la PEDCCP del mes 36, el 51,8% de los sujetos alcanzaron una dosis desencadenante mayor de 1000 mg, en comparación con el 40,4% en el mes 12. De los 18 pacientes que se sometieron a la PEDCCP en el mes 38, tras dos meses de interrupción de la EPIT para la evaluación de falta de respuesta mantenida, 14 (77,8%) obtuvieron una dosis desencadenante mayor de 1000 mg.

Otra investigación relacionada con la falta de respuesta mantenida fue publicada en 2021 (272). Se analizó un subconjunto de participantes del estudio de seguimiento abierto publicado en 2017 por Sampson y colaboradores explicado previamente (261). De los 29 sujetos incluidos, 25 realizaron otra PEDCCP tras dos meses de interrupción del tratamiento epicutáneo y en 20 de ellos (80%) mantuvieron la desensibilización a al menos 1440 mg de proteína de cacahuete.

Aunque el tiempo de aplicación habitual del parche en todos los trabajos comentados previamente es de 24 horas, en un estudio del ensayo PEPITES, Fleisher y colaboradores evaluaron la relación entre el número de horas diarias que se aplicaban el parche los pacientes y la eficacia del tratamiento con el parche de 250 µg (273). Para ello efectuaron en primer lugar una investigación diseñada para evaluar la cantidad de proteína de cacahuete residual presente en los parches de 250 µg en diferentes momentos tras su aplicación en la piel. Se evidenció que, tras poner el parche en la piel, la cantidad de proteína de cacahuete que quedaba en el parche disminuía durante las dos a las 12 horas siguientes. Después de 12 horas, la mediana de la proteína de cacahuete recuperada en el parche estaba por debajo de los límites

de cuantificación. En el análisis *a posteriori* del estudio PEPITES, las tasas de respuesta y las medias de dosis desencadenante de síntomas en la PEDCCP inicial fueron similares entre los pacientes en todos los rangos de tiempos de aplicación. Por lo que concluyen que el tiempo de aplicación diaria del parche de 250 µg de al menos 12-16 horas al día parece ser adecuado para liberar cantidades suficientes de proteína de cacahuete en la piel y que se produzca la desensibilización tras 12 meses de tratamiento.

En otro trabajo en el que analizan *a posteriori* datos del ensayo PEPITES, evaluaron distintas características basales de la población y de la adhesión del parche, que podrían influir en la respuesta al tratamiento con el parche de 250 µg de proteína de cacahuete (267). En el análisis multivariante se evidenció que un nivel más alto de dosis desencadenante de síntomas en la PEDCCP inicial y una menor IgE específica basal frente a cacahuete fueron las variables más predictivas de tener una mayor dosis desencadenante de síntomas tras finalizar el tratamiento. También se detectó una correlación positiva con la duración media de la aplicación diaria del parche y la calificación del índice de puntuación para dermatitis atópica (SCORAD) y una correlación negativa con la edad al inicio del estudio. Respecto al papel de la adhesión del parche en la respuesta al tratamiento, para la mayoría de los pacientes, la retirada del parche antes del tiempo aconsejado no influyó en la respuesta al tratamiento.

La calidad de vida de los alérgicos a los alimentos (FAQL) se ve afectada también en los niños con alergia a los cacahuetes. En relación con esto se ha publicado un estudio en 2021 por DunnGalvin y colaboradores (274) en el que examinaron los cambios en la FAQL en niños después del tratamiento con EPIT para la alergia al cacahuete, mediante el uso de cuestionarios realizados a padres y niños de ocho años de edad o mayores. Incluyeron los pacientes del estudio PEPITES y PEOPLE. Observaron que el tratamiento de inmunoterapia epicutánea se asociaba con una mejora significativa de las FAQL globales y específicas de cada dominio, en gran medida debido al aumento alcanzado en la dosis desencadenante de síntomas al finalizar el tratamiento.

A finales de 2021 se publicó un estudio fase 3 diseñado para evaluar el uso de la EPIT con cacahuete en el mundo real, estudio REALISE. Se observó que el trata-

miento con el parche Viaskin® de 250 µg fue bien tolerado por los niños alérgicos a los cacahuets, en consonancia con trabajos anteriores de fase 2 y 3 (275).

En la actualidad se está llevando a cabo otra investigación sobre la EPIT. Dado el mayor efecto en los niños más pequeños y el perfil de seguridad favorable, se ha iniciado un ensayo de fase 3 para el cacahuete en niños más pequeños, de uno a tres años de edad (EPITOPE - NCT03211247).

2.2. CAMBIOS INMUNOLÓGICOS SECUNDARIOS A LA INMUNOTERAPIA ESPECÍFICA

Los mecanismos inmunológicos por los que la inmunoterapia en la alergia alimentaria puede inducir tolerancia no están del todo aclarados, pero los cambios observados en la función inmunitaria parecen depender de la alteración de las respuestas de las células T específicas de alérgeno, con la inducción de células Tregs y la supresión de la inmunidad Th2. Con un papel muy importante de las células Tregs Foxp3+.

Tras la captación de antígenos por parte de las células dendríticas inmaduras residentes en el tejido, en ausencia de señales coestimuladoras, se produce su migración a los ganglios linfoides cercanos donde se origina la inducción de células Tregs mediada por las CD, a través de la secreción de citoquinas inmunosupresoras entre otros mecanismos (276). Estas células Tregs suprimen las respuestas alérgicas a través de la secreción de citoquinas inhibitorias (interleucina IL-10, IL-35 y TGF-β), lo que amplifica aún más la inducción de Tregs (277). La inmunoterapia produce una reducción de la respuesta Th2, con una disminución de la producción de citoquinas Th2 específicas de los alérgenos, que puede ocurrir tanto a través de los efectos inmunosupresores de las células Tregs como por el cambio hacia la inmunidad Th1 (241,262,278,279). Las citoquinas Th1, como el interferón gamma (IFN-γ), inhiben específicamente la inmunidad Th2 y la producción de IgE. Otros mecanismos implicados incluyen la producción de células Th3, células B reguladoras, y la inducción de CD tolerogénicas CD103+ (280–282).

La disminución de la actividad de las células efectoras, como los mastocitos, los eosinófilos y los basófilos, se produce en la fase inicial de la inmunoterapia. El nivel de IgE específica suele mostrar un aumento temprano seguido de una disminución tardía. La IgG4 puede producirse en fases tempranas y continuar durante todo el tratamiento. Los cambios que implican la modulación de las respuestas de las células T se producen en una fase posterior del curso de la inmunoterapia lo que conduce normalmente a la tolerancia oral (262,283–285).

En la tabla 10 se especifican los principales parámetros inmunológicos que se modifican durante la ITA y su correlación funcional en el sistema inmunológico.

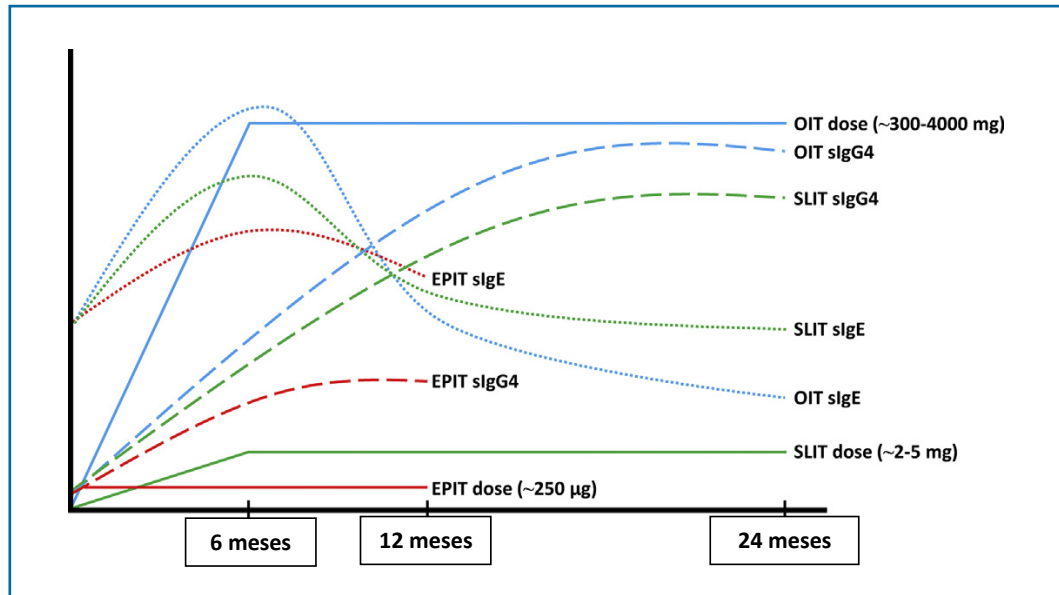
Tabla 10.
Inmunomodulación durante la inmunoterapia con alimentos.

PARÁMETRO INMUNOLÓGICO	CORRELACIÓN FUNCIONAL
SPT (disminución diámetro)	Disminución reactividad mastocitos
Expresión CD63 en TAB (disminución)	Disminución reactividad basófilos
IgE específica (aumento inicial y posterior descenso)	Alteración de la producción de isotipos de anticuerpos por parte de las células B
IgG4 específica (aumento)	
IgG4/IgE específicas (aumento)	
IL-4, IL-13 (disminución)	Supresión inmunidad Th2
IFN- γ (aumento)	Inducción de células T CD4+ Th1
IL-10, TGF- β (aumento)	Inducción de células T reguladoras
Células T FoxP3+CD25+CD4+ (aumento)	

Modificado de Feuille y colaboradores (203). SPT: prueba cutánea en prick. TAB: test de activación de basófilos. IL: interleucina. IFN- γ : interferón gamma. TGF- β : factor de crecimiento transformante beta

Los biomarcadores *in vitro* que más se suelen medir a lo largo de la inmunoterapia con alimentos son la IgE e IgG4 específicas. Dependiendo del tipo de inmunoterapia utilizada se producen unos cambios más o menos marcados durante el tratamiento. (Figura 4)

Figura 4.
Cambios de parámetros inmunológicos producidos durante la inmunoterapia oral, sublingual y epicutánea con alimentos.



Modificado de Smeekens y colaboradores (286). OIT: inmunoterapia oral. SLIT: inmunoterapia sublingual. EPIT: inmunoterapia epicutánea. Línea continua: dosis de alérgeno administrada. Línea punteada: cambios en IgE específica. Línea rayada: cambios en IgG4 específica.

2.2.1. Principales diferencias inmunológicas entre ITO, ITSL y EPIT con alimentos

Al tener diferentes vías de administración, la captación del alérgeno se realiza de forma distinta. En la ITO se produce a nivel intestinal, con la entrega del antígeno a las células dendríticas de la lámina propia por parte de las células caliciformes entre otros mecanismos (276). En la SLIT se utiliza el entorno tolerogénico de la mucosa oral, las células de Langerhans captan rápidamente el antígeno, que ha sido transportado a través de las células epiteliales ductales sublinguales (287). En la EPIT al ser la epidermis rica en células de Langerhans y otras células dendríticas, capturan activamente el alérgeno en las horas posteriores a la colocación del parche (288).

Aunque las células T regs FoxP3+ siguen siendo fundamentales en los tres tipos de inmunoterapia, inducen subconjuntos específicos de células Tregs que varían en su producción de citoquinas, expresión de marcadores de superficie y mecanismo

de supresión de las respuestas inmunitarias. Estudios realizados en modelos murinos muestran que la EPIT y la ITO aumentaron las células T regs Foxp3+ y células Tregs con niveles de péptidos de latencia, mientras que la SLIT aumentó las células Tregs CD4+CD25+IL10+. Las células Tregs inducidas por la EPIT también requerían la expresión del CTLA-4, un marcador de expresión de superficie, implicado en la vía de desensibilización natural de la piel. La ITO requería tanto de la IL-10 como el CTLA-4, mientras que la SLIT actuaba sólo a través de la IL-10 (254,286,289).

Además, las células Tregs producidas por la EPIT también expresan un amplio repertorio de receptores de localización, lo que sugiere que son capaces de migrar a varios sitios de exposición a alérgenos (la piel, el pulmón y el intestino), suprimir las respuestas inmunes locales a la estimulación de alérgenos, y potencialmente inducir la tolerancia global (289).

II. Justificación

La alergia a los frutos secos es una alergia persistente en la mayor parte de los casos para la cual el tratamiento habitual es la evitación del alimento. Los frutos secos se encuentran presentes en la composición de muchos productos alimentarios, tanto como ingrediente como en forma de trazas. Esto dificulta la tarea por parte del paciente de realizar una correcta dieta de evitación, produciéndose en muchos casos reacciones alérgicas accidentales que en ocasiones pueden poner en peligro su vida. Por lo tanto, es necesario buscar alternativas terapéuticas seguras con las que se consiga aumentar la dosis de tolerancia al fruto seco al cual el paciente es alérgico y así evitar esas reacciones adversas.

La mayoría de los estudios de investigación que se están llevando a cabo en el campo del tratamiento de la alergia a los alimentos se están realizando con cacahuete y sobre todo relacionados con la inmunoterapia oral. Este tratamiento a pesar de haber demostrado eficacia en muchos estudios produce muchas reacciones adversas, por lo que se están explorando otras vías de administración del alérgeno que consigan una eficacia similar con una mayor seguridad para el paciente.

La vía epicutánea es una línea de investigación prometedora con la que se esperan conseguir esos objetivos. Sin embargo, el número de estudios es reducido, se han hecho principalmente con cacahuete y no existe ninguno con avellana. En España la avellana es uno de los frutos secos que más frecuentemente produce reacciones alérgicas y además está presente en múltiples alimentos de bollería y repostería consumidos por los niños.

Dada la necesidad de tener alternativas más allá de la dieta de evitación y poder dar otras opciones a los pacientes, con este trabajo pretendemos seguir avanzando en la búsqueda de un tratamiento seguro y eficaz en pacientes con alergia persistente a los alimentos y específicamente a un fruto seco de elevado consumo en España como es la avellana.

Además, es necesario llevar a cabo investigaciones que analicen los mecanismos inmunológicos implicados en la adquisición de tolerancia mediante esta nueva forma de tratamiento, por lo que, debido a la escasa bibliografía al respecto realizada en pacientes con inmunoterapia epicutánea, pretendemos ofrecer más datos que puedan ayudar a aumentar este conocimiento.

III. Hipótesis de trabajo y objetivos

HIPÓTESIS DE TRABAJO

La inmunoterapia epicutánea con avellana podría ser un tratamiento eficaz y seguro, el cual permitiría aumentar el umbral de tolerancia a la avellana en pacientes pediátricos con alergia persistente a este fruto seco.

Durante el tratamiento con inmunoterapia epicutánea con avellana se podrían observar cambios inmunológicos *in vivo* (pruebas cutáneas) e *in vitro* (IgE específica, IgG4 específica y test de activación de basófilos) implicados en el mecanismo de adquisición de tolerancia a la avellana.

OBJETIVOS

OBJETIVOS PRINCIPALES

- Evaluar la eficacia clínica de la inmunoterapia epicutánea con avellana mediante prueba de exposición oral controlada con placebo, tras seis meses de tratamiento con parches con extracto de avellana, en pacientes pediátricos con alergia demostrada a este fruto seco.
- Analizar la seguridad de la inmunoterapia epicutánea con avellana, durante seis meses de tratamiento con parches con extracto de avellana, en pacientes pediátricos con alergia confirmada a este fruto seco.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Comprobar el cumplimiento del tratamiento epicutáneo administrado.
- Conocer la percepción y satisfacción del tratamiento por parte de pacientes y familiares.

- Determinar los posibles cambios inmunológicos asociados a la inmunoterapia epicutánea con avellana, mediante pruebas *in vivo* (pruebas cutáneas específicas a avellana) y pruebas *in vitro* (medición de IgE e IgG4 específicas a avellana, test de activación de basófilos).
- Estudiar el perfil de reconocimiento a las distintas proteínas de la avellana en la muestra de pacientes.

IV. Pacientes y métodos

1. DISEÑO GENERAL Y RESUMEN DEL ESTUDIO

Estudio piloto experimental prospectivo, aleatorizado, simple ciego controlado con placebo diseñado para estudiar la eficacia y seguridad del tratamiento, durante seis meses, con parches con extracto de avellana (500 µg de proteína) en pacientes pediátricos alérgicos a la avellana.

Al diseñarse como un estudio piloto no se realizó un cálculo del tamaño muestral.

RESUMEN DEL ESTUDIO: (Figura 5)

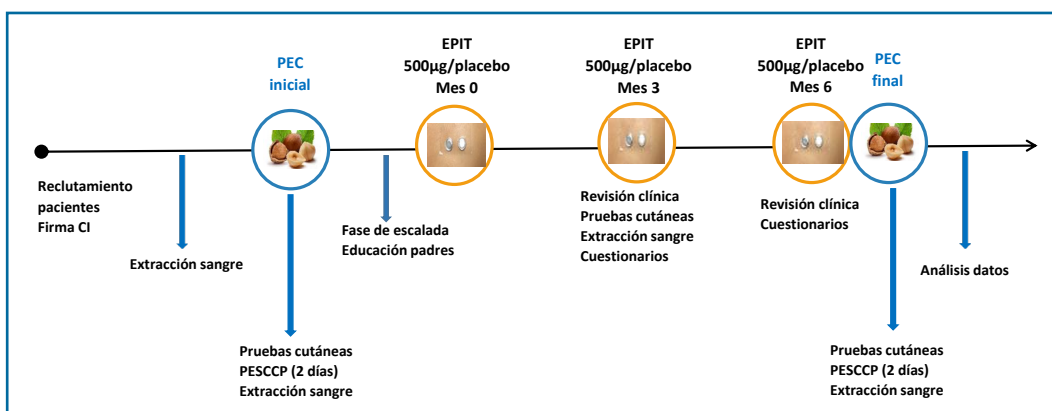
- Información del estudio y firma del consentimiento informado.
- Pruebas *in vitro* antes de la prueba de exposición oral inicial: IgE específica por componentes de avellana (ISAC[®], ImmunoCAP[®], ALEX[®]).
- Antes de empezar el tratamiento epicutáneo:
 - Pruebas cutáneas intraepidérmicas: *prick* (avellana, aeroalérgenos, frutos secos, panalérgenos) y *prick-prick* (avellana).
 - Prueba de exposición oral simple ciego controlada con placebo con avellana.
 - Pruebas *in vitro*: IgE específica avellana, IgG4 específica avellana y test de activación de basófilos.
- Aleatorización de los pacientes.
- Tratamiento epicutáneo:
 - Fase de escalada: parches de 100 µg, 250 µg y 500 µg o placebo.
 - Fase de mantenimiento: 500 µg o placebo.

- Durante el tratamiento:
 - Revisión clínica a los tres y seis meses de tratamiento.
 - Pruebas cutáneas intraepidérmicas: *prick* (avellana, aeroalérgenos, frutos secos, panalérgenos) y *prick-prick* (avellana) a los tres meses de tratamiento.
 - Pruebas *in vitro* a los tres meses de tratamiento: IgE específica avellana, IgG4 específica avellana y test de activación de basófilos.
 - Cuestionarios específicos sobre percepción y satisfacción del tratamiento a los tres y seis meses de inmunoterapia.

- Al finalizar el tratamiento:
 - Pruebas cutáneas intraepidérmicas: *prick* (avellana, aeroalérgenos, frutos secos, panalérgenos) y *prick-prick* (avellana).
 - Prueba de exposición oral simple ciego controlada con placebo con avellana.
 - Pruebas *in vitro*: IgE específica avellana, IgG4 específica avellana y test de activación de basófilos.

- Estudio estadístico y análisis de datos.

Figura 5.
Esquema resumen del estudio.



CI: Consentimiento informado. PEC: prueba de exposición oral controlada. PESCCP: prueba de exposición oral simple ciego controlada con placebo. EPIT: inmunoterapia epicutánea.

2. SELECCIÓN DE PACIENTES

Pacientes de 3 a 16 años con rmadada o sospecha de alergia a la avellana que acudieron en revisión a las consultas externas de alergología del Hospital Universitario Infanta Sofía (HUIS) entre junio y noviembre de 2017 y que cumplían todos los criterios de inclusión y ninguno de los criterios de exclusión.

2.1. DURACIÓN DEL PERIODO DE RECLUTAMIENTO

El periodo de reclutamiento fue de seis meses.

2.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes de 3 a 16 años
- Sensibilización con rmadada a avellana: *prick* ≥ 3 mm y/o IgE específica $\geq 0,10$ kU/L
- Prueba de exposición oral simple ciego controlada con placebo con avellana positiva antes del inicio del tratamiento
- Firma de consentimiento informado por padres o tutores legales

2.3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Padecer una enfermedad cutánea extensa o una enfermedad infecciosa crónica de base
- Padecer enfermedades autoinmunes
- Padecer cardiopatías o patología tumoral

- Padecer desórdenes psicológicos y/o psiquiátricos graves
- Estar embarazada o en periodo de lactancia
- Presentar enfermedades que contraindiquen la administración de adrenalina
- Presentar asma bronquial mal controlada
- Estar en tratamiento con fármacos betabloqueantes
- Estar o haber estado en tratamiento con terapia biológica en los cinco años previos

2.4. CRITERIOS DE RETIRADA DEL ESTUDIO

- Decisión del paciente o tutor legal
- Reacción de choque anafiláctico en la prueba de exposición oral inicial
- Diagnóstico durante el estudio de alguna patología o alguna circunstancia expuesta en los criterios de exclusión
- A criterio del investigador si apareciera alguna circunstancia que afectara a la seguridad del paciente

3. POBLACIÓN A ESTUDIO

Los pacientes incluidos en el estudio se dividieron en dos grupos:

- Grupo de tratamiento activo: formado por los pacientes a los que se le administraba el parche con extracto de avellana
- Grupo de tratamiento placebo: formado por los pacientes a los que se le administraba el parche con crema base sin extracto de avellana

Aleatorización de la población:

Debido al reducido número de pacientes incluidos en el estudio, se decidió hacer la aleatorización de tal manera que el porcentaje de pacientes que hubieran presentado una anafilaxia en la prueba de exposición oral inicial fuera similar en ambos grupos. Intentando así evitar que los pacientes con reacciones más graves estuvieran por azar de forma mayoritaria en uno de los dos grupos. Se incluyeron de forma consecutiva en el grupo activo y placebo tanto a los pacientes que presentaban anafilaxia como al resto de pacientes, siempre conservando el porcentaje similar de anafilaxias en cada grupo para que fueran comparables.

4. TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

4.1. TIPO DE PARCHES

Se usaron parches Finn Chambers® *Aqua* de Marti Tor Alergia (Imagen 1). El apósito contenía cámaras redondas de 8 mm de diámetro con papel de litro incorporado. Las cámaras estaban abiertas, lo que facilitó la carga del extracto del estudio. Estos parches poseían una alta resistencia al agua y al sudor, permitiendo que el parche se mojara y que el paciente pudiera ducharse. Tenían una gran oclusividad y alta adhesividad, por lo que el paciente podría realizar tanto ejercicio físico como sus actividades habituales.

Imagen 1.
Parches *Aqua* de Marti Tor Alergia.



4.2. EXTRACTO ALERGÉNICO DE AVELLANA

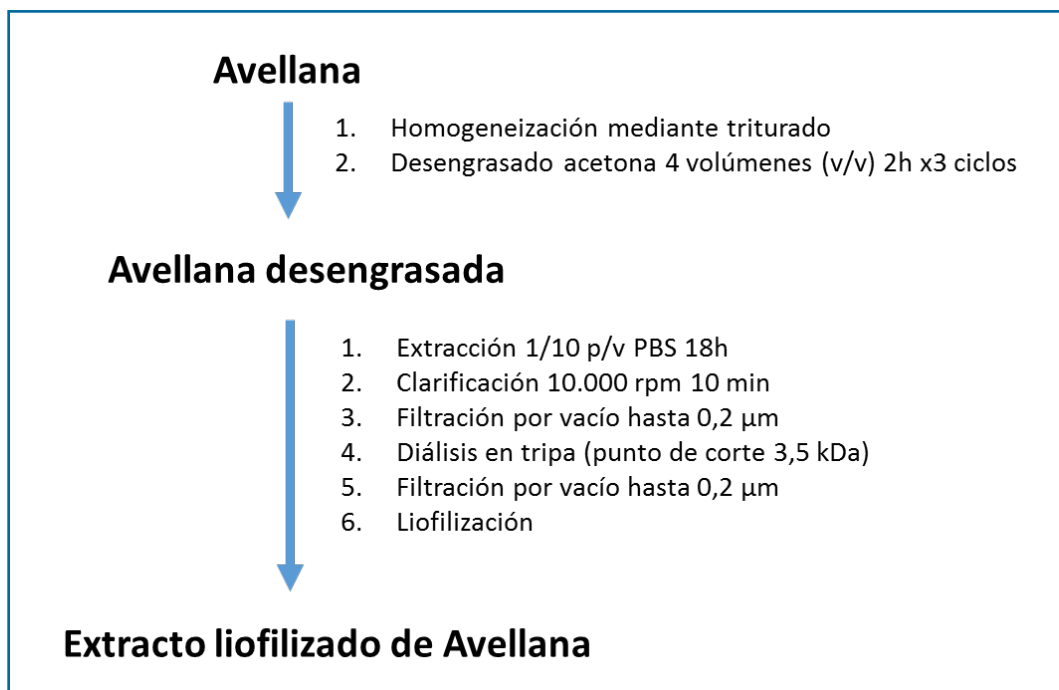
4.2.1. Obtención del extracto alergénico

El extracto fue facilitado por el laboratorio Inmunotek®. La materia prima utilizada fueron avellanas salvajes peladas.

Previo a la fase de extracción, se realizó una fase de desengrasado que consistió en el triturado de las avellanas peladas y posterior incubación del homogenei-

zado con cuatro volúmenes de acetona (v/v) durante dos horas en agitación. Tras la incubación se separó el sobrenadante del precipitado mediante centrifugación a 10.000 rpm durante diez minutos y se descartó el pellet. El precipitado resultante se incubó de nuevo con cuatro volúmenes de acetona (v/v) durante dos horas en agitación, descartándose el sobrenadante tras centrifugar. El precipitado se extendió en una bandeja para su secado en campana extractora durante 24 horas y se pesó para su posterior extracción. La extracción de alérgenos se realizó mediante incubación en agitación continua, con tampón fosfato salino (PBS) 0,01M pH 7,2, a una relación 1/10 p/v, a 4°C durante 18 horas. Tras la incubación, se centrifugó a 10.000 rpm durante diez minutos y se recuperó el sobrenadante, desechando el precipitado. Este sobrenadante se clarificó mediante filtración por vacío a través de filtros de membrana de acetato de celulosa de tamaño de poro decreciente de 1 µm, 0,7 µm,

Figura 6.
Resumen del proceso de obtención del extracto de avellana.



v/v: volumen/volumen. PBS: tampón fosfato salino.

0,45 µm y 0,2 µm (Sartorius Stedim Biotech S.A.). Una vez filtrado se procedió a su diálisis en tripa, utilizando una membrana de celulosa (EspectraPor Lab.) de tamaño de poro de 3,5 kDa. La diálisis se realizó con agua destilada como solución dializante. Los extractos alérgicos dializados se filtraron de nuevo por vacío a través de filtros de membrana de acetato de celulosa de tamaño de poro decreciente de 1 µm, 0,7 µm, 0,45 µm y 0,2 µm (Sartorius Stedim Biotech S.A.), fueron liofilizados en viales y conservados a 4°C hasta su utilización. (Figura 6)

4.2.2. Cuantificación del contenido proteico y rendimiento del proceso

La concentración de proteína total del extracto se determinó mediante la técnica de Bradford (290), extrapolándose los valores de absorbancia obtenidos a una longitud de onda de 595 nm, en una recta estándar de albúmina de suero bovina (Sigma-Aldrich, Madrid, España).

Los rendimientos del proceso de desengrasado y cuantificación de proteína se pueden ver en las tablas 11 y 12.

Tabla 11.
Rendimiento del desengrasado del extracto.

	MP INICIAL (GR)	MP DESENGRASADA (GR)	RENDIMIENTO DESENGRASADO
Avellanas	365,57	156,92	42,93%

MP: Materia prima.

Tabla 12.
Rendimiento de la cuantificación proteica del extracto.

	CONCENTRACIÓN PROTEÍNA (µG/ML)	VOLUMEN TOTAL (ML)	PROTEÍNA TOTAL (MG)	RENDIMIENTO VS MP INICIAL	RENDIMIENTO VS MP DESENGRASADA
Avellanas	5.365,25	1292	6.930	1,90%	4,42%

MP: Materia prima.

La concentración de proteína del extracto liofilizado fue de 5,365 mg/ml. En la tabla 13 se especifican todos los valores de peso y cantidad de proteína del extracto liofilizado.

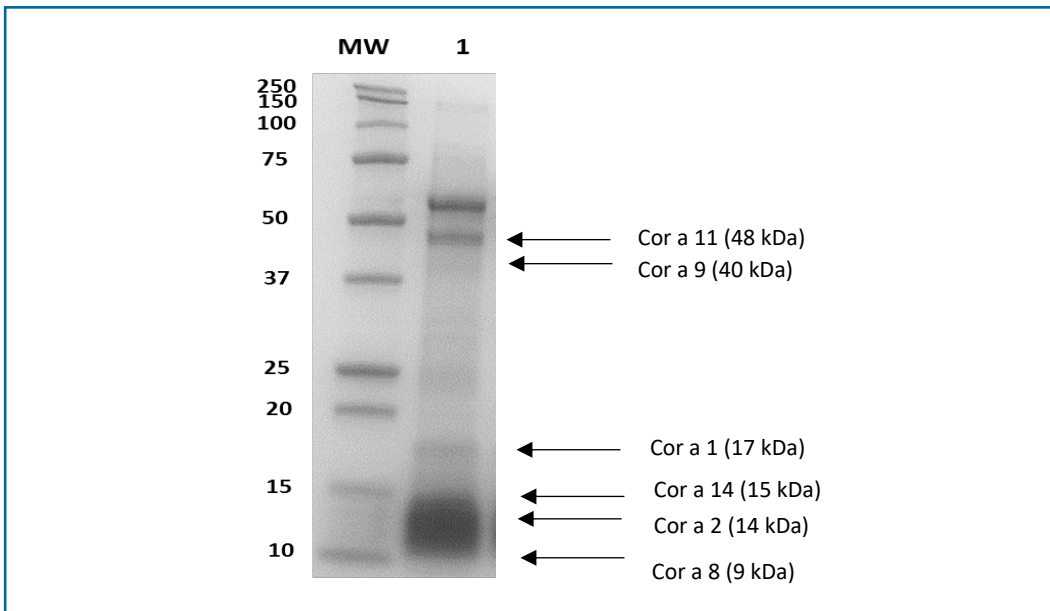
Tabla 13.
Contenido proteico en el extracto liofilizado.

EXTRACTO LIOFILIZADO DE AVELLANA	
Peso de liofilizado (vial 10 ml)	72,760 mg
Peso de liofilizado/ml	7,276 mg
Cantidad de proteína (vial de 10 ml)	53,650 mg
Cantidad de proteína/ml	5,365 mg
mg proteína/mg liofilizado	0,730
Contenido de proteína en liofilizado	73,740 %

4.2.3. Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE)

El perfil proteico del extracto se obtuvo mediante electroforesis en gel de poliacrilamida *Mini-PROTEAN® TGX Stain-Free™* (BioRad, California, EE.UU.), en condiciones no reductoras, según el procedimiento descrito por Laemmli (291). Para ello, se cargaron 10 µg por pocillo de la muestra, diluida en un volumen igual de tampón de carga (Tris-HCl 0,5 mM pH 6,8, SDS 4%, glicerol 20%, azul de bromofenol 0,2%). Como patrón de peso molecular se utilizó el marcador comercial *Precision Plus Protein All Blue Standards* (BioRad). La presencia de bandas se puso de manifiesto mediante la tinción de los geles con colorante Coomassie (Gel Code™ Blue Stain Reagent, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EE. UU.) incubando los geles en agitación constante durante una hora a temperatura ambiente. (Figura 7)

Figura 7.
Perfil proteico del extracto de avellana.



MW: banda de peso molecular, valores en kDa. 1: banda proteica del extracto de avellana utilizado en el parche.

4.3. VEHÍCULO UTILIZADO PARA MEZCLAR CON EL EXTRACTO DE AVELLANA

El extracto de avellana se encontraba liofilizado en polvo y almacenado en viales en la nevera para su mejor conservación. Dado que la cantidad de liofilizado de avellana a utilizar en cada parche era de microgramos, para evitar errores de medición y ser más precisos se decidió disolver primero el liofilizado en agua. De esa manera se podían obtener las cantidades exactas del extracto de avellana a utilizar. Al no poder aplicar directamente esta disolución acuosa del extracto en el parche, puesto que se secaba enseguida, era necesario mezclarla con otro compuesto para así conseguir una mezcla homogénea de fácil aplicación en el pocillo de los parches. En un primer lugar se intentó mezclar el liofilizado reconstituido con agua con vaselina ya que era el material utilizado habitualmente en el diagnóstico con parches, pero debido a su hidrofobicidad la mezcla homogénea de ambos componentes era imposible de realizar.

Por lo que finalmente se decidió utilizar crema base Belbase® (Fagrón Ibérica S.A.U Barcelona). La crema base es una emulsión aceite/agua de fase externa en agua y color blanco. Se muestran los componentes de esta crema en la tabla 14. Esta crema da consistencia y conserva las propiedades de los productos que se mezclan con ella, siendo además bacteriostática. Uno de los componentes es el glicerol, que se emplea como conservante en extractos alergénicos para pruebas cutáneas en *prick* y en vacunas de administración sublingual. Al ser soluble en agua se pudo conseguir una mezcla totalmente homogénea con el liofilizado del extracto de avellana reconstituido con agua.

Tabla 14.
Componentes de la crema base.

COMPONENTES BELBASE®	
Alcohol cetílico	Glicerol
Cera blanca	Cetoestearil sulfato sódico
Monoesterato glicerilo	Cetil fosfato potásico
Agua purificada	Phenonip XB
EDTA	

EDTA: ácido etilendiaminatetraacético

A pesar de que la crema base es muy utilizada en la creación de fórmulas magistrales en dermatología, se decidió comprobar su tolerancia en la piel de pacientes controles para asegurar que no producía irritación cutánea. Se realizaron las dos siguientes pruebas con la crema base en seis controles sanos, tres atópicos y tres no atópicos, resultando negativas ambas en todos ellos:

- *PARCHE ABIERTO*

Aplicación abierta en piel sana en cara anterior de antebrazo cerca de la axila del codo.

Se aplicó 0,1 ml de crema base en área de 3 por 3 cm durante 15-30 minutos. Se efectuó una lectura inmediata y posteriormente a los 30 y 60 minutos y una segunda lectura a los tres o cuatro días. (292)

- *PARCHE CERRADO*

Aplicación en piel sana de crema base, en un pocillo de parches Marti Tor y se adhirió en la parte superior de la espalda, con posterior oclusión durante 48 horas. Pasado el tiempo de oclusión se retiró y se realizó una primera lectura, efectuando una segunda lectura a las 72 horas. (292)

4.4. PREPARACIÓN DEL PRODUCTO A APLICAR EN LOS PARCHES

4.4.1. Producto activo

La cantidad de proteína a aplicar en el parche se decidió basándose en las publicaciones previas sobre el tema (262,263) y teniendo en cuenta las diferencias del tipo de parche a utilizar respecto al empleado en los estudios previos (diámetro de cámara y forma de liberación del alérgeno).

Debido al tamaño de las cámaras del parche de 8 mm de diámetro, comprobamos que la cantidad máxima de producto a colocar en ellas no podía sobrepasar los 0,05 ml. De esa manera se rellenaba bien la cámara, pero sin salirse el extracto de ella al pegar el parche sobre la piel.

Los cálculos para ajustar la cantidad de proteína a aplicar en el parche se realizaron teniendo en cuenta que el volumen de mezcla total (extracto de avellana mezclado en crema base o sólo crema base en el caso del placebo) debía ser de 0,05ml.

Para una mejor conservación del producto y poder guardarlo en la nevera sin que se resecara, se decidió guardar las mezclas en jeringuillas de 1 ml. Para facilitar su manejo a los padres de los pacientes, se marcaron en la parte del cilindro de la jeringa

de 1 ml los volúmenes de 0,05 ml para que supieran la cantidad exacta que debían poner en cada pocillo del parche.

Puesto que el cilindro de las jeringuillas de 1 ml era demasiado pequeño, no se podía introducir la mezcla directamente en ellas, así que se tuvo que hacer un paso intermedio llenando previamente jeringas de 10 ml cuyo cilindro era mayor y permitía perfectamente introducir la mezcla en ellas. Posteriormente se introducía el pivote de la jeringa de 10 ml en el cilindro de las de 1 ml y se rellenaban una a una con la cantidad exacta. Al ser la mezcla totalmente homogénea la cantidad de proteína que había en cada jeringa de 1 ml era la misma. Una vez llenas las jeringas de 1 ml se taparon con un tapón específico y se resaltaron con un rotulador las mediciones intermedias entre cada marca de 0,1 ml para identificar los volúmenes de 0,05 ml que debía ponerse en los pocillos.

Se prepararon tres tipos de jeringas distintas, cada una de 1 ml de volumen total, en función de la dosis de proteína de avellana que se debía aplicar en el parche: 100 µg, 250 µg o 500 µg.

La preparación de las distintas dosis de proteína de cada una de las jeringuillas, partiendo de los viales de extracto de liofilizado de avellana que contenían cada uno 10 mg de proteína de avellana, variaba en la cantidad de agua para reconstituir cada vial y el número de viales a reconstituir. A continuación, se detalla la preparación de cada dosis:

- Dosis de 100 µg: Se reconstituyó cada liofilizado del vial con 500 µl (=0,5 ml) de agua. Se repitió la operación hasta reconstituir dos viales y obtener un volumen total de 1 ml en el que había 20 mg de proteína de avellana. Posteriormente se mezcló con 9 ml de crema base hasta conseguir una mezcla totalmente homogénea. Los 10 ml obtenidos se introdujeron en una jeringa de volumen total de 10 ml. Posteriormente se rellenaron diez jeringuillas de 1 ml cada una con la mezcla obtenida previamente. Cada jeringuilla de 1 ml contenía un total de 2 mg de proteína de avellana. Por lo tanto, cada 0,05 ml de la mezcla de dicha jeringuilla contenía 100 µg (=0,1 mg) de proteína de avellana.

- Dosis de 250 µg: Se reconstituyó cada lio lizado del vial con 200 µl (=0,2 ml) de agua. Se repitió la operación hasta reconstituir cinco viales y obtener un volumen total de 1ml en el que había 50 mg de proteína de avellana. Posteriormente se mezcló con 9 ml de crema base hasta conseguir una mezcla totalmente homogénea. Los 10 ml obtenidos se introdujeron en una jeringa de volumen total de 10 ml. Posteriormente se rellenaron diez jeringuillas de 1 ml cada una con la mezcla obtenida previamente. Cada jeringuilla de 1ml contenía un total de 5 mg de proteína de avellana. Por lo tanto, cada 0,05 ml de la mezcla de dicha jeringuilla contenía 250 µg (=0,25 mg) de proteína de avellana.

- Dosis de 500 µg: Se reconstituyó el lio lizado del vial con 100 µl (=0,1 ml) de agua. Se repitió la operación hasta reconstituir diez viales y obtener un volumen total de 1ml en el que había 100 mg de proteína de avellana. Posteriormente se mezcló con 9 ml de crema base hasta conseguir una mezcla totalmente homogénea. Los 10 ml obtenidos se introdujeron en una jeringa de volumen total de 10 ml. Posteriormente se rellenaron diez jeringuillas de 1 ml cada una con la mezcla obtenida previamente. Cada jeringuilla de 1ml contenía un total de 10 mg de proteína de avellana. Por lo tanto, cada 0,05 ml de la mezcla de dicha jeringuilla contenía 500 µg (=0,5 mg) de proteína de avellana.

En las imágenes 2, 3, 4 y 5 se resume el proceso de preparación de las jeringuillas.

Imagen 2.
Reconstituir lio lizado con agua.



Imagen 3.
Mezclar lio lizado con crema base.

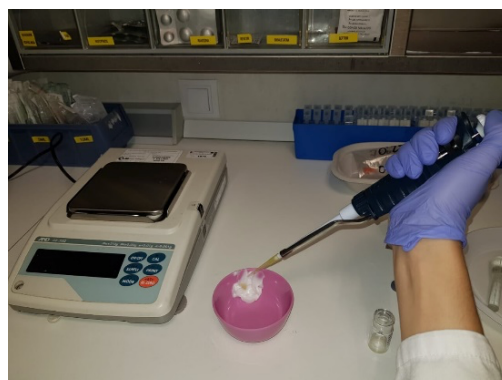


Imagen 4.
Llenar jeringuillas de 1 ml.

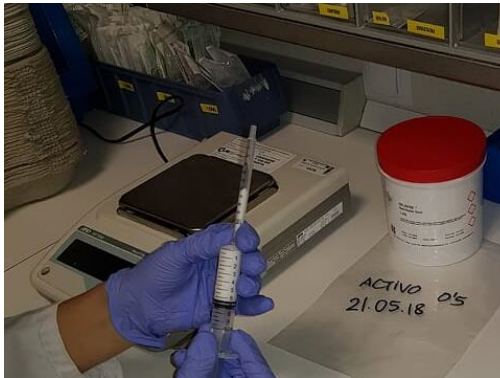


Imagen 5.
Tapar y marcar jeringuillas.



4.4.2. Producto placebo

Se llenaron jeringuillas de 1 ml con crema base, se taparon con un tapón específico y se resaltaron con un rotulador las mediciones intermedias entre cada 0,1 ml para marcar volúmenes de 0,05 ml.

No había diferencias en cuanto al color, textura u olor de la mezcla con o sin proteína de avellana, por lo que las jeringuillas eran indistinguibles.

4.5. ADMINISTRACIÓN Y MANEJO DEL PARCHÉ

A todos los padres de los pacientes se les administraron parches y jeringuillas suficientes para la preparación y aplicación del parche durante dos semanas. Cada dos semanas debían acudir al hospital de día de alergología a recoger más parches y jeringuillas. Se les instruyó a todos ellos sobre cómo preparar, aplicar y retirar los parches, haciendo pruebas con placebo hasta que dominaran la técnica. Además, se les entregó una hoja con instrucciones sobre la administración del parche. (Anexo I)

4.5.1. Preparación

Para una mayor comodidad, los parches estaban cortados de manera que

sólo tuvieran uno o dos pocillos en cada corte. Siempre se debía rellenar un solo pocillo con el extracto. (Imágenes 6 y 7)

**Imagen 6.
Parches 2 pocillos.**



**Imagen 7.
Parches 1 pocillos.**



Pasos en la preparación:

- Destapar la jeringuilla
- Empujar el émbolo de la jeringuilla y cargar uno de los pocillos con 0,05 ml siguiendo las marcas rotuladas como guía. Dejar vacío el otro pocillo en caso de que el corte del parche tuviera dos.

4.5.2. Aplicación

El parche se aplicaba en la parte alta de la espalda (293). Sobre piel sana, limpia y seca dejando libre la zona central de la espalda, ya que si se adhería sobre la columna se podía desprender. (Imágenes 8 y 9)

Pasos en la aplicación:

- Retirar el papel de la parte anterior del parche
- Pegar el parche en la espalda
- Presionar uniformemente para asegurar una buena adhesión
- Retirar el papel posterior del parche

Imagen 8.
Aplicación parche dos pocillos.

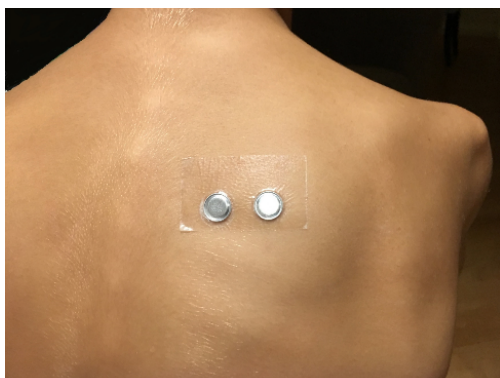


Imagen 9.
Aplicación parche un pocillo.



4.5.3. Retirada

Pasos en la retirada:

- Retirar tirando desde una esquina del parche con cuidado de no extender la crema
- Limpiar los restos de crema que hayan podido quedar adheridos en la espalda
- Tirar a la basura el parche usado

Se recomendaba retirar el parche por la noche antes del baño o la ducha, limpiando bien la zona. Tras la ducha se secaba la espalda y se procedía a aplicar el nuevo parche en una zona distinta a la previa. Se recomendaba hacerlo en la espalda siguiendo la dirección de las agujas del reloj para seguir siempre el mismo orden.

4.6. FASES DE ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO

La cantidad de proteína del parche se subía de forma gradual cada dos semanas hasta llegar a la dosis de mantenimiento de 500 µg que se administraba a diario durante seis meses.

4.6.1. Fase de escalada

Para la primera aplicación del parche de cada una de las dosis de proteína de avellana (100 µg, 250 µg y 500 µg) se citaba al paciente en el hospital de día de alergología, donde permanecía dos horas en observación hasta comprobar tolerancia inmediata, tras lo cual se retiraba el parche. Durante las dos semanas siguientes, en el domicilio, el paciente debía aplicarse cada día un nuevo parche con la dosis tolerada, aumentando las horas que lo mantenía pegado cada día (tabla 15). Al cambiar cada día el parche por uno nuevo, debía situarlo en una zona distinta al previo. Se recomendaba hacerlo siguiendo la dirección de las agujas del reloj para seguir siempre el mismo orden. Tras 14 días, si no había habido problemas de tolerancia en domicilio, se citaba de nuevo al paciente para comprobar la tolerancia al parche de la dosis superior. El proceso se repetía hasta comprobar la tolerancia al parche de la dosis de mantenimiento de 500 µg de proteína de avellana. Todo este proceso se realizaba de la misma manera en pacientes del grupo del parche placebo, con la única variante que en los parches sólo se aplicaba crema base.

Tabla 15. Tiempo de la aplicación del parche en fase de escalada.

HORAS DE ADMINISTRACIÓN DEL PARCHES EN DOMICILIO	
1º día	3h
2º-3º día	4h
4º -6º día	8h
7º-9º día	10h
10º-12º día	12h
13º-14º día	24h

En ningún caso se procedía a cambiar al parche con la siguiente dosis hasta comprobar la tolerancia de la dosis previa durante 24 horas.

4.6.2. Fase de mantenimiento

Una vez alcanzada la tolerancia de 24 horas diarias con el parche de 500 µg de proteína de avellana, el paciente debía cambiarse cada día el parche por uno nuevo y mantenerlo durante 24 horas diarias durante los seis meses de tratamiento. En los pacientes del grupo placebo se realizaba el mismo procedimiento, pero con la diferencia que las jeringuillas con las que rellenaban los pocillos del parche sólo contenían crema base.

5. VARIABLES DEL ESTUDIO

5.1. VARIABLES RELACIONADAS CON LA POBLACIÓN A ESTUDIO

De las variables que se hicieron varias mediciones a lo largo del estudio, se llevaron a cabo en tres momentos: inicio (en el momento de la prueba de exposición oral inicial antes de iniciar el tratamiento epicutáneo), mitad (mitad de la fase de mantenimiento del parche de 500 µg o placebo) y final (al finalizar el tratamiento epicutáneo, en el momento de la prueba de exposición oral final).

- Sexo: hombre, mujer. Cualitativa categórica binaria.
- Edad: en el momento de inclusión en el estudio. Valor en años. Cuantitativa continua.
- Antecedentes familiares de atopia: si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Alergia a alimentos, además de la alergia a avellana: si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Dermatitis atópica: si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Rinoconjuntivitis: si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Asma Bronquial, incluyendo sibilancias de inicio tardío: si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Clínica presentación avellana: orofaríngea, cutánea, digestiva, tracto respiratorio superior, tracto respiratorio inferior, sensibilización sin ingesta. Cualitativa categórica con varias categorías.
- Alimento implicado clínica presentación avellana: helado de avellana, crema de avellana, bombón con avellana. Cualitativa categórica con varias categorías.
- Tolerancia a cada fruto seco (almendra, cacahuete, nuez, pistacho, anacardo, semilla de girasol): si/no. Cualitativa categórica binaria.

- *Prick* a cada fruto seco (almendra, cacahuete, nuez, pistacho, anacardo, semilla de girasol) al inicio, mitad y final: positivo/negativo. Cualitativa categórica binaria. Se considera positivo ≥ 3 mm y negativo < 3 mm.
- *Prick* a cada aeroalérgeno (gramíneas salvajes, *Olea europeae*, *Platanus acerifolia*, *Cupressus arizónica*, *Betula verrucosa*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Alternaria alternata*, epitelio de perro, epitelio de gato) al inicio, mitad y final: positivo/negativo. Cualitativa categórica binaria. Se considera positivo ≥ 3 mm y negativo < 3 mm.
- *Prick* a cada panalérgeno (prolina, LTP, polcalcina) al inicio, mitad y final: positivo/negativo. Cualitativa categórica binaria. Se considera positivo ≥ 3 mm y negativo < 3 mm.

5.2. VARIABLES RELACIONADAS CON EL OBJETIVO DE EFICACIA CLÍNICA DEL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

Las variables de eficacia clínica se estudiaron tanto por intención de tratar (incluyendo al total de los pacientes del estudio) como por protocolo (incluyendo sólo a aquellos pacientes que cumplieron los seis meses de tratamiento con el parche de 500 μ g).

Las mediciones de las variables de eficacia clínica que se realizaron a lo largo del estudio, se llevaron a cabo en dos momentos: inicial (antes del inicio del tratamiento, en la prueba de exposición oral inicial) y final (tras finalizar el tratamiento, en la prueba de exposición oral final).

- Eficacia del tratamiento: sí/no. Cualitativa categórica binaria. El tratamiento se consideró eficaz cuando el paciente superaba la prueba de exposición oral final de hasta una dosis acumulada de proteína de avellana de 549,9 mg sin reacciones o aumentaba en diez veces la dosis desencadenante de síntomas respecto a la prueba de exposición oral inicial. Se definió paciente respondedor aquel en el que el tratamiento era eficaz.

- Tolerancia prueba de exposición oral final: si/no. Cualitativa categórica binaria. Se definió como la superación de la prueba de exposición oral final hasta una dosis acumulada de 549,9 mg de proteína de avellana sin presentar reacciones.
- Aumento en diez veces la dosis desencadenante de síntomas en prueba de exposición oral final respecto a la prueba de exposición oral inicial: si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Dosis única de proteína de avellana desencadenante de síntomas (DUDS) en la prueba de exposición oral inicial y final: valor en mg. Cuantitativa continua.
- Dosis acumulada de proteína de avellana desencadenante de síntomas (DADS) en las pruebas de exposición oral inicial y final: valor en mg. Cuantitativa continua.
- Cambio de la dosis única de proteína de avellana desencadenante de síntomas en prueba de exposición oral final respecto a inicial: aumenta, estable, disminuye. Cualitativa categórica con varias categorías.
- Síntomas/signos desarrollados en las provocaciones orales inicial y final: orofaríngeos, cutáneos, digestivos, tracto respiratorio superior, tracto respiratorio inferior, neurológicos, cardiovasculares. Cualitativa categórica con varias categorías. Se clasificaron los pacientes en función de todas las posibles asociaciones de síntomas desarrollados.
- Número de grupos de síntomas/signos afectados en las pruebas de exposición oral inicial y final. Cuantitativa discreta.
- Reducción en el número de grupos de síntomas/signos afectados en la prueba de exposición oral final respecto a la inicial. Cuantitativa discreta.
- Gravedad de la reacción en las pruebas de exposición oral inicial y final: leve, moderada, grave. Cualitativa categórica con varias categorías. Se definió reacción leve si presentaba síntomas orofaríngeos, moderada si presentaba síntomas cutáneos, del tracto respiratorio superior, o digestivos y

grave si presentaba síntomas del tracto respiratorio inferior, cardiovasculares, neurológicos o anafilaxia.

- Cambios en la clasificación en la gravedad de la reacción de la prueba de exposición oral final respecto a la inicial: mejoría, sin cambios, empeoramiento. Cualitativa categórica varias categorías. Se definió mejoría si pasaba de una reacción grave a moderada o leve, y de una reacción moderada a leve, sin cambios si seguía con la misma clasificación y empeoramiento si pasaba de reacción leve a moderada o grave, y de una reacción moderada a grave.

5.3. VARIABLES RELACIONADAS CON EL OBJETIVO DE SEGURIDAD DEL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

- Efectos adversos locales en global: si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Efectos adversos locales por cada tipo de reacción local (prurito, eritema, eccema, habones): si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Tratamiento de los efectos adversos locales: si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Tratamiento específico de los efectos adversos locales: corticoide tópico, antihistamínico oral y asociación de los dos. Cualitativa categórica varias categorías.
- Causalidad de los efectos adversos locales con el tratamiento epicutáneo: no relacionado, improbable, posible, probable, relacionado. Cualitativa categórica varias categorías.
- Efectos adversos sistémicos en global: si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Efectos adversos sistémicos cutáneos en global y por cada subtipo (prurito, eritema, eccema, habones): si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Efectos adversos sistémicos respiratorios en global y por cada subtipo (rinitis, conjuntivitis, tos, broncoespasmo) a lo largo del tratamiento: si/no. Cualitativa categórica binaria.

- Efectos adversos sistémicos digestivos, infecciosos o de ana laxia: si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Clasificación de la gravedad de los efectos adversos: leve, moderado, grave. Cualitativa categórica varias categorías. Se definió leve el efecto adverso transitorio y fácilmente tolerado, moderado el efecto adverso que causaba incomodidad e interferencia en el estado general y grave el efecto adverso que causaba interferencia considerable en el estado general y podía ser incapacitante.
- Tratamiento de los efectos adversos sistémicos cutáneos: corticoide tópico, antihistamínico oral, corticoide oral y posibles asociaciones entre ellos. Cualitativa categórica varias categorías
- Tratamiento efectos adversos sistémicos respiratorios: antihistamínico oral, colirio, broncodilatador de acción corta, corticoide inhalado y posibles asociaciones entre ellos. Cualitativa categórica varias categorías
- Causalidad de los distintos tipos de efectos adversos sistémicos (cutáneos, respiratorios, digestivos, infecciosos) con el tratamiento epicutáneo: no relacionado, improbable, posible, probable, relacionado. Cualitativa categórica varias categorías
- Interrupción temporal del tratamiento epicutáneo: si/no. Cualitativa categórica binaria. Se definió como cualquier interrupción que no suponía la discontinuación permanente del parche.
- Interrupción definitiva: si/no. Cualitativa categórica binaria

5.4. VARIABLES RELACIONADAS CON EL OBJETIVO DE CUMPLIMIENTO DEL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

- Cumplimiento del tratamiento: si/no. Cualitativa categórica binaria. Se definió como tratamiento cumplido aquel que se administraba durante los

seis meses de la fase de mantenimiento y el paciente presentaba olvidos en su administración menor o iguales a una vez a la semana.

- Pacientes que se aplicaban el parche durante 24 horas durante todo el tratamiento: si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Pacientes que se aplicaban el parche 12 horas (en los primeros tres meses y en los últimos tres meses de la fase de mantenimiento del tratamiento): si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Pacientes que se aplicaban el parche 24 horas (en los primeros tres meses y en los últimos tres meses de la fase de mantenimiento del tratamiento): si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Motivos relacionados con la disminución en el tiempo de aplicación del parche: efectos adversos, desprendimiento, vacaciones, otros y sus posibles asociaciones. Cualitativa categórica con varias categorías.
- Pacientes a los que se les desprendía el parche: si/no. Cualitativa categórica binaria.
- Pacientes a los que se les desprendía el parche con elevada frecuencia: Si/no. Cualitativa categórica binaria. Se definió elevada frecuencia como cuatro o más episodios de desprendimiento.
- Motivos relacionados con el desprendimiento del parche: calor/sudor, deporte, otros y sus posibles asociaciones. Cualitativa categórica con varias categorías.
- Olvidos aplicación parche: nunca, 1 ó 2 veces/mes, 1 vez/semana, >1 vez/semana. Cualitativa categórica con varias categorías.
- Motivos relacionados con la interrupción en la aplicación del tratamiento: problemas preparación parche, efectos adversos, otros y sus posibles asociaciones. Cualitativa categórica con varias categorías.

5.5. VARIABLES RELACIONADAS CON EL OBJETIVO DE PERCEPCIÓN Y SATISFACCIÓN DEL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

- Problemas con el parche: sí/no. Cualitativa categórica binaria.
- Molestias debido a problemas con el parche: muchísimo, mucho, algo, poco, nada. Cualitativa categórica con varias categorías.
- Interferencia en actividad física: Siempre, casi siempre, a veces, casi nunca, nunca. Cualitativa categórica con varias categorías.
- Interferencia concentrarse en clase: muchísimo, mucho, algo, muy poco, nada. Cualitativa categórica con varias categorías.
- Disgusto llevar el parche por problemas: muchísimo, mucho, algo, muy poco, nada. Cualitativa categórica con varias categorías.
- Dificultad en el uso del parche: sumamente difícil, muy difícil, difícil, algo fácil, fácil, muy fácil, sumamente fácil. Cualitativa categórica con varias categorías.
- Dificultad en la organización para llevar el parche: sumamente difícil, muy difícil, difícil, algo fácil, fácil, muy fácil, sumamente fácil. Cualitativa categórica con varias categorías.
- Creencia que el parche es bueno para tratar alergia: no, un poco, puede, creo que sí, estoy seguro de que sí. Cualitativa categórica con varias categorías.
- Creencia que el parche es bueno para tratar alergia a pesar de problemas: no, un poco, puede, creo que sí, estoy seguro de que sí. Cualitativa categórica con varias categorías.
- En general, está contento con el parche: disgustadísimo, muy disgustado, disgustado, algo contento, contento, muy contento, contentísimo. Cualitativa categórica con varias categorías.

- Problemas en las relaciones personales por el uso del parche: sí/no. Cualitativa categórica binaria.
- Dificultad en la preparación y manejo del parche: muy difícil, difícil, fácil, muy fácil. Cualitativa categórica con varias categorías.
- Peor parte de la preparación y manejo del parche: preparación, colocación, retirada y sus posibles asociaciones. Cualitativa categórica con varias categorías.

5.6. VARIABLES RELACIONADAS CON EL OBJETIVO DE CAMBIOS INMUNOLÓGICOS TRAS EL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

Las variables de cambios inmunológicos se estudiaron tanto por intención de tratar (incluyendo al total de los pacientes del estudio) como por protocolo (incluyendo sólo a aquellos pacientes que cumplieron los seis meses de tratamiento con el parche de 500 µg).

Las mediciones de las variables de cambios inmunológicos se realizaron a lo largo del estudio en tres momentos distintos: antes del inicio del tratamiento, en la prueba de exposición oral inicial, (denominado momento inicio), a la mitad del tratamiento del parche de 500 µg (denominado momento mitad) y tras finalizar el tratamiento, en la prueba de exposición oral final (denominado momento final).

- *Prick* avellana al inicio, mitad y final: positivo/negativo. Cualitativa categórica binaria. Se considera positivo ≥ 3 mm y negativo < 3 mm.
- *Prick* avellana al inicio, mitad y final: valor en mm. Cuantitativa continua.
- *Prick-prick* avellana al inicio, mitad y final: positivo/negativo. Cualitativa categórica binaria. Se considera positivo ≥ 3 mm y negativo < 3 mm.
- *Prick-prick* avellana al inicio, mitad y final: valor en mm. Cuantitativa continua.

- IgE específica a avellana al inicio, mitad y final: valor en kUA/L. Cuantitativa continua.
- IgG4 específica a avellana al inicio, mitad y final: valor en mg/L. Cuantitativa continua.
- Ratio IgG4/IgE específicas avellana al inicio, mitad y final: Cuantitativa continua.
- Test de activación de basófilos al inicio, mitad y final: valor en % activación basófilos. Cuantitativa continua.

5.7. VARIABLES RELACIONADAS CON EL OBJETIVO DEL PERFIL DE RECONOCIMIENTO A LA AVELLANA

Valores de positividad y unidad de medida de cada variable cualitativa de este apartado según método de detección:

- ISAC®: positivo ≥ 0,30 ISU; negativo < 0,30 ISU
- ImmunoCAP®: positivo ≥ 0,10 kUA/L; negativo < 0,10 kUA/L
- ALEX®: positivo ≥ 0,30 kUA/L; negativo < 0,30 kUA/L
- Global: usando los tres métodos (ISAC®, ImmunoCAP®, ALEX®). Positivo: si positivo en cualquiera de los métodos. Negativo: negativo en todos los métodos

Grupos de proteínas:

- Proteínas de reserva: Cor a 9, Cor a 11, Cor a 14
- Proteína PR-10: Cor a 1
- Proteína LTP: Cor a 8
- Cor a 1 por cada uno de los métodos de detección (ISAC®, ImmunoCAP®, ALEX®) y de forma global: positivo/negativo. Cualitativa categórica binaria.

- Cor a 1 por cada uno de los métodos de detección (ISAC[®], ImmunoCAP[®], ALEX[®]). Cuantitativa continua.
- Cor a 8 por cada uno de los métodos de detección (ISAC, ImmunoCAP[®], ALEX[®]) y de forma global: positivo/negativo. Cualitativa categórica binaria.
- Cor a 8 por cada uno de los métodos de detección (ISAC[®], ImmunoCAP[®], ALEX[®]). Cuantitativa continua.
- Cor a 9 por cada uno de los métodos de detección (ISAC[®], ImmunoCAP[®], ALEX[®]) y de forma global: positivo/negativo. Cualitativa categórica binaria.
- Cor a 9 por cada uno de los métodos de detección (ISAC[®], ImmunoCAP[®], ALEX[®]). Cuantitativa continua.
- Cor a 11 por método de detección ALEX[®]: positivo/negativo. Cualitativa categórica binaria.
- Cor a 11 por método de detección ALEX[®]. Cuantitativa continua.
- Cor a 14 por cada uno de los métodos de detección (ImmunoCAP[®], ALEX[®]) y de forma global: positivo/negativo. Cualitativa categórica binaria.
- Cor a 14 por cada método de detección (ImmunoCAP[®], ALEX[®]). Cuantitativa continua.
- Sensibilización grupos de proteínas: proteínas de reserva, PR-10, LTP. Cuantitativa categórica varias categorías. Se clasificaron a los pacientes por sensibilización encontrada en algunos de los tres grupos de proteínas, sin tener que ser monosensibles a ellos.
- Patrón reconocimiento: proteínas reserva, PR-10, LTP y posibles asociaciones entre ellas. Cualitativa categórica varias categorías.

6. MÉTODOS RELACIONADOS CON LA DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO

6.1. HISTORIA CLÍNICA

A todos los pacientes se les realizó una anamnesis detallada con recogida de variables demográficas, antecedentes familiares y personales de atopia: presencia de rinoconjuntivitis, asma bronquial (incluyendo sibilancias de inicio tardío), dermatitis atópica, alergia a alimentos distintos de frutos secos. La entrevista clínica se centró en la alergia alimentaria a frutos secos y específicamente a avellana, recogiendo las características de la primera reacción con avellana y tolerancia a otros frutos secos.

6.2. PRUEBAS CUTÁNEAS INTRAEPIDÉRMICAS

Las pruebas intraepidérmicas, *prick*, se realizaron siguiendo las recomendaciones de la EAACI (41). Previo a la realización de éstas, se comprobó que el paciente no hubiera realizado ningún tratamiento que pudiera alterar el resultado de las pruebas. La técnica consiste en el depósito de una pequeña cantidad de extracto en la superficie anterior del antebrazo y realizar una pequeña punción mediante una única lanceta (ALK-LANCET, ALK-Abelló, Denmark) para cada prueba, evitando así la contaminación, con un análisis posterior de los resultados transcurridos 15 minutos. Se utilizó hidrocloreuro de histamina (10 mg/ml) como control positivo y cloruro de sodio (NaCl al 0.9%) como control negativo (C.B.F. LETI, A; Tres cantos, España). Fueron consideradas positivas aquellas pruebas que presentaron una pápula de diámetro 3 mm mayor que la obtenida con el control negativo. Los resultados de las pruebas cutáneas se dan como la media en mm de los diámetros mayor y menor de la pápula.

Se realizaron pruebas en *prick* con extractos comerciales de frutos secos, neumalérgenos, pro lína, polcalcina y LTP. (Tabla 16)

Aunque pertenecen a familias diferentes, las pruebas cutáneas a frutos secos

también incluyeron cacahuets y semillas de girasol ya que generalmente se consumen mezclados con los frutos secos.

Tabla 16.
Extractos utilizados para las pruebas cutáneas intraepidérmicas.

ALÉRGENO	LABORATORIO	CONCENTRACIÓN
Almendra	Roxall SA	10000 DPU/ml
Cacahuete	Roxall SA	750 µg prot/ml
Nuez	Leti SLU	500 µg prot/ml
Pistacho	Leti SLU	7100 µg prot/ml
Anacardo	Roxall SA	10000 DPU/ml
Semilla de girasol	Leti SLU	1200 µg prot/ml
Gramíneas salvajes	Roxall SA	30000 DBU/ml
<i>Olea europeae</i>	Roxall SA	30000 DBU/ml
<i>Platanus acerifolia</i>	Roxall SA	20000 DBU/ml
<i>Cupressus arizónica</i>	Roxall SA	5000 DBU/ml
<i>Betula verrucosa</i>	Roxall SA	30000 DBU/ml
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	Roxall SA	20000 DBU/ml
<i>Alternaria alternata</i>	Roxall SA	20000 DBU/ml
Epitelio de perro	Roxall SA	5000 DBU/ml
Epitelio de gato	Roxall SA	20000 DBU/ml
Profilina	Roxall SA	10000 DPU/ml
LTP (melocotón)	Roxall SA	10000 DPU/ml
Polcalcina	ALK SA	500 µg prot/ml
Control negativo	Leti SLU	NaCl al 0.9%
Histamina	Leti SLU	10 mg/ml

DPU: Diagnostic Protein Units; DBU: Diagnostic Biological Units; LTP: proteína de transferencia de lípidos.

7. MÉTODOS RELACIONADOS CON EL OBJETIVO DE EFICACIA CLÍNICA DEL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

7.1. PRUEBAS DE EXPOSICIÓN ORAL CONTROLADA

Debido a problemas logísticos, la falta de personal sanitario suficiente junto con la necesidad de conocer exactamente el día en que se debía realizar la extracción de la sangre para el TAB, las pruebas de exposición controlada se hicieron en simple ciego para poder saber de antemano el día en el que se iba a administrar el activo.

El procedimiento se llevó a cabo basándose en las recomendaciones de la EAACI (41) y el consenso PRACTALL (71) sobre pruebas de exposición oral con alimentos.

Se realizó a todos los pacientes dos pruebas de exposición oral simple ciego controlado con placebo, una antes de iniciar el tratamiento con los parches y otra tras finalizar dicho tratamiento. En cada prueba de exposición oral se administró el activo y el placebo en días distintos no consecutivos.

7.1.1. Condiciones para la realización de la prueba de exposición oral controlada

Todas las pruebas de exposición oral se realizaron bajo la estrecha monitorización y supervisión de un alergólogo y con personal de enfermería especialmente entrenado en alergología. Se llevaron a cabo en el hospital de día con equipamiento apropiado para tratar las posibles reacciones alérgicas (294). A los pacientes se les indicó la suspensión de antihistamínicos orales y corticoides sistémicos cinco y siete días antes de la prueba, respectivamente y no debían presentar exacerbaciones de otras enfermedades (como asma, rinitis y/o dermatitis atópica), medicación concomitante que contraindicasen la administración de adrenalina o proceso infeccioso en el momento de realización de la prueba (72). A todos los pacientes se les realizó una exploración física minuciosa previa a la realización de la prueba de exposición oral, para poder determinar cualquier cambio en su situación a lo largo de la prueba.

7.1.2. Receta para la prueba de exposición oral controlada con avellana y placebo

Para llevar a cabo la prueba de exposición oral simple ciego controlada con placebo al inicio y al final del tratamiento, se elaboró una receta con avellana y otra con placebo. En el caso de que un paciente fuese alérgico a uno de los componentes o fuera celíaco la receta se personalizaba y se excluía el alimento con el que tuviese problemas.

INGREDIENTES UTILIZADOS:

- Avellana comercial cruda marca ITAC® (Lote L007250050012)
- Cereales Special K Classic® (Kellogg España. S.L., Alcobendas, España)
- Galletas María Fontaneda® (Mondelez España Comercial S.L., Madrid, España)
- Azúcar avainillado Vahiné® (McCormick España, S.A., Sabadell, España)
- Leche semidesnatada President® (Lactalis Iberia, S.A., Madrid, España)

PREPARACIÓN DE LA AVELLANA

La preparación de la avellana necesaria para la provocación fue realizada por el Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) del CSIC de la Universidad Autónoma de Madrid. Según la información del producto, la cantidad de proteína por cada 100 g era de 15 g, lo que corresponde a un 15% del total. Al usar siempre el mismo tipo de avellanas cada pieza tenía un tamaño similar y pesaba aproximadamente 1 g.

Para conseguir la textura de avellana necesaria para facilitar el enmascaramiento, se trituroó en un molinillo y se pasó por un tamiz de 0,5 micras para eliminar las trazas de mayor tamaño y conseguir así un grano homogéneo en polvo. Se prepararon cantidades individuales de avellana para mezclar en cada una de las dosis a administrar para que fuera más sencillo su mezclado y asegurarse la administración total de la dosis. Las dosis de avellana completa preparadas de forma individual fueron las siguientes: 1 mg, 5 mg, 10 mg, 50 mg, 100 mg, 500 mg, 1000 mg, 2000 mg.

PREPARACIÓN DE LA MEZCLA:

Se añadió en una batidora Thermomix® cereales Special K Classic®, galletas Maria Fontaneda®, (siguiendo la proporción de 1/3 de cereales y 2/3 de galletas) y dos cucharadas soperas de azúcar avainillado Vahiné®, hasta un peso total de 250gr. Tras batirlo y dejar un grano no, se añadió leche semidesnatada President® caliente hasta conseguir una masa homogénea.

PREPARACIÓN DE LAS DOSIS:

Para la dosis de 1 mg, 5 mg y 10 mg de avellana se mezcló la avellana con 5 ml de la mezcla (cereales + galleta + azúcar avainillado + leche). Para las dosis de 50 mg y 100 mg de avellana se utilizó 15 ml de la mezcla. Para la dosis de 500 mg de avellana, 25 ml de la mezcla. Para las dosis de 1000 mg de avellana, 50 ml de la mezcla y para administrar la dosis final de 2000 mg de avellana se mezcló con 80 ml de la masa.

Para las dosis de placebo se administraron las mismas cantidades de la mezcla, pero sin añadir la avellana.

7.1.3. Pauta de administración

Durante la prueba de exposición oral (tanto activo como placebo) se suministraron hasta un total de ocho dosis, administrando cada una de ellas cada 20 minutos (Tabla 17). Tanto en la prueba de exposición oral inicial como en la final se administraron las mismas cantidades de proteína de avellana.

Tabla 17.
Cantidades a administrar de dosis de receta activo/placebo y equivalencia de avellana y proteína en activo.

NÚMERO DE DOSIS	CANTIDAD DOSIS ACTIVA/PLACEBO	CANTIDAD DE AVELLANA EN ACTIVO	CANTIDAD DE PROTEÍNA DE AVELLANA EN ACTIVO
1	5ml	1 mg	0,15 mg
2	5ml	5 mg	0,75 mg

3	5ml	10 mg	1,50 mg
4	15 ml	50 mg	7,50 mg
5	15 ml	100 mg	15 mg
6	25 ml	500 mg	75 mg
7	50 ml	1000 mg	150 mg
8	80 ml	2000 mg	300 mg
Total:	200 ml	3666 mg	549,90 mg

7.1.4. Criterios para interpretar el resultado de la prueba de exposición oral controlada

Puesto que las exposiciones orales se realizaron en simple ciego, se decidió, previamente a la realización de éstas, concretar el procedimiento de interpretación del resultado de las pruebas de exposición oral. De esta manera, se pretendía determinar de forma más objetiva y semejante en todos los pacientes el momento en el que parar la prueba y considerarla positiva y evitar en lo posible los sesgos de subjetividad del médico responsable.

En primer lugar, se efectuó una clasificación de los signos y síntomas más habituales que podían ocurrir durante las provocaciones, reflejados en la tabla 18.

Tabla 18.
Signos y síntomas de posible aparición durante las provocaciones orales.

SIGNOS OBJETIVOS	SÍNTOMAS SUBJETIVOS
Lesiones eritematosas o habonosas orales o periorales	Prurito oral o en cualquier localización
Eritema	Disnea
Urticaria	Opresión torácica
Angioedema	Sensación de cierre de garganta
Lagrimeo	Disfagia

Inyección conjuntival	Náuseas
Estornudos	Epigastralgia
Rinorrea	Dolor abdominal
Obstrucción nasal	Mareo
Disfonía	Mal estar general
Tos	
Sibilancias	
Vómitos	
Diarrea	
Síncope	
Disminución del nivel de conciencia	
Hipotensión	

A continuación, y teniendo en cuenta los signos o síntomas que podrían aparecer durante la prueba de exposición, se determinaron los criterios utilizados para considerar la prueba de exposición oral positiva, negativa o no concluyente. Para definir la prueba de exposición oral como positiva se debía cumplir al menos uno de los tres criterios expuestos en el apartado de resultado positivo de la tabla 19.

Tabla 19.
Clasificación del resultado de la prueba de exposición oral.

RESULTADO	EVALUACIÓN DE SIGNOS Y SÍNTOMAS
Positivo	Aparición de signos objetivos
	Síntomas subjetivos con intensidad creciente evaluados en tres dosis consecutivas
	Persistencia de síntomas subjetivos durante más de 40 minutos durante el periodo de observación final
Negativo	No aparición de signos ni síntomas durante la exposición, las 2h de observación ni las 24 horas posteriores
No concluyente	No se puede considerar positiva ni negativa
	Aparición de signos o síntomas entre las 2h y 24 horas posteriores a la exposición

En caso de que la prueba de exposición oral se considerara positiva no se continuaba con las dosis sucesivas y se administraba el tratamiento necesario para la recuperación del paciente.

7.1.5. Resultado final de la prueba de exposición oral simple ciego controlada con placebo

En la tabla 20 se describe el resultado final de la prueba de exposición oral simple ciego controlada con placebo tras realizar en cada paciente la exposición con receta activa y receta placebo.

Tabla 20.

Resultado final de la exposición simple ciego controlada con placebo.

Resultado final PESCCP		EXPOSICIÓN CON RECETA ACTIVO	
		Positiva	Negativa
EXPOSICIÓN CON RECETA PLACEBO	Positiva	Exposición final No concluyente	Exposición final No concluyente
	Negativa	Exposición final Positiva	Exposición final Negativa

Modificada de Vlieg-Boerstra y colaboradores (295). PESCCP: prueba de exposición oral simple ciego controlada con placebo.

Sólo los pacientes con resultado final de la prueba de exposición oral positiva pasaron a la siguiente fase de aleatorización del tratamiento con parches.

7.1.6. Clasificación de la gravedad de la reacción observada en la prueba de exposición oral controlada

De cara a valorar la gravedad de la reacción observada durante la prueba de exposición controlada, se procedió a unir los distintos signos y síntomas observados en grupos.

Así pues, cuando un paciente presentase un signo o síntoma concreto se incluiría en uno de los grupos descritos a continuación en la tabla 21.

Tabla 21.
Clasificación de signos y síntomas en función de grupos.

GRUPOS	SIGNOS Y SÍNTOMAS REFLEJADOS
Orofaríngeos	Prurito, lesiones eritematosas, habonosas orales o periorales
Cutáneos	Prurito cutáneo, urticaria, eritema, angioedema
Tracto respiratorio superior (incluye ocular)	Estornudos, prurito nasal, rinorrea, obstrucción nasal, sensación de cierre de garganta, disfonía, prurito ocular, lagrimeo, inyección conjuntival
Tracto respiratorio inferior	Tos, sibilancias, disnea, opresión torácica
Digestivos	Náuseas, vómitos, diarrea, disfagia, epigastralgia, dolor abdominal
Cardiovasculares	Mareo, mal estar general, síncope, hipotensión, disminución del nivel de conciencia
Neurológicos	Convulsiones

Una vez establecida esta distribución por grupos basándonos en el artículo de Datema y colaboradores (79), se clasificó la gravedad de la reacción en función del grupo al cual perteneciera la clínica observada durante la provocación. (Tabla 22)

Tabla 22.
Clasificación de la gravedad de la reacción durante la prueba de exposición oral.

CLASIFICACIÓN DE LA REACCIÓN	GRUPOS DE SIGNOS Y SÍNTOMAS OBSERVADOS
Leve	Orofaríngeos
Moderada	Cutáneos, tracto respiratorio superior, digestivos
Grave	Tracto respiratorio inferior, cardiovasculares, neurológicos, anafilaxia

Modificada de Datema y colaboradores (79).

Todos los signos y síntomas observados durante las pruebas de provocación se registraron en un formulario específico. (Anexo II)

7.1.7. Tratamiento de los síntomas

El tratamiento administrado dependía de la clínica que presentase el paciente y del criterio del médico alergólogo responsable de la provocación. Ante una reacción anafiláctica siempre se debía administrar adrenalina IM a dosis adecuada para el peso del paciente.

8. MÉTODOS RELACIONADOS CON EL OBJETIVO DE SEGURIDAD DEL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

8.1. EFECTOS ADVERSOS DURANTE EL TRATAMIENTO

Se recogieron los efectos adversos, cualquier acontecimiento médico adverso incluidas enfermedades intercurrentes, que se produjeron durante el tiempo de administración del tratamiento epicutáneo, independientemente que pudieran tener una relación causal con este tratamiento. Dentro del apartado de seguridad no se incluyeron las reacciones sucedidas durante las exposiciones orales inicial y final.

A lo largo de todo el tratamiento los padres tenían acceso telefónico directo de lunes por la mañana a viernes por la tarde con el personal médico del estudio para solucionar dudas, comentar cualquier posible reacción o solicitar una cita presencial. Si a pesar de las instrucciones dadas sobre la actuación ante efectos adversos (anexo I), les surgía alguna duda en día festivo y no sabían si seguir o no con el tratamiento con parches se les indicaba que lo suspendieran hasta hablar con el personal médico el siguiente día laborable.

Cada dos semanas, a lo largo de todo el tratamiento, los padres acudían al hospital de día de alergología a recoger parches y jeringuillas, momento que se aprovechaba para controlar tolerancia del tratamiento y resolver preguntas.

En la revisión clínica del tercer y sexto mes de tratamiento se preguntaba de nuevo por efectos adversos desde el inicio del tratamiento para poder tenerlos reflejados en la historia del paciente.

Al no tener los pacientes un diario específico de recogida de datos, se registraron los efectos adversos no por número de efectos adversos sino por número de pacientes que presentaron alguna de estas reacciones a lo largo del tratamiento.

Se clasificó el efecto adverso en función de la afectación al paciente: leve

(transitorio y fácilmente tolerado), moderado (causa incomodidad e interferencia en su estado general) y grave (causa interferencia considerable en su estado general y puede ser incapacitante), según estudio previo de Sampson y colaboradores (261). Al no registrarse el número exacto de efectos adversos, sólo se contabilizó el número de pacientes que habían tenido a lo largo del tratamiento algún efecto adverso leve, moderado o grave.

8.1.1. Tipos de efectos adversos

8.1.1.1. Locales

Referidos a aquellos ocurridos en la zona de aplicación del parche. A su vez se clasificaron en:

- Prurito
- Eritema
- Eccema
- Habones

8.1.1.2. Sistémicos

Se consideraron como efectos adversos sistémicos los ocurridos a distancia de la zona de aplicación del parche. Se clasificaron en:

- Cutáneos: prurito, eccema, urticaria, angioedema
- Respiratorios: rinitis, conjuntivitis, tos, broncoespasmo
- Digestivos: diarrea, vómitos, dolor abdominal
- Infecciones: respiratorias, digestivas
- Anafilaxia
- Otros: cualquier otro efecto adverso distinto a los explicados previamente

8.2. TRATAMIENTO DE LOS EFECTOS ADVERSOS

Ante la aparición de cualquier efecto adverso se les indicó a los padres de los pacientes que debían avisar al personal médico responsable del estudio en los teléfonos de contacto.

Se instruyó a los padres de los pacientes para el tratamiento inmediato de todos los efectos adversos locales y sistémicos, excepto para los sistémicos incluidos en el apartado de infecciones, para los cuales se les indicaba acudir primero a su pediatra de atención primaria.

8.2.1. Tratamiento de los efectos adversos locales

En caso de presentar lesiones habonosas en la zona de aplicación del parche, prurito o eccema muy intenso que interfería en la actividad habitual del paciente se les indicaba retirarlo, lavar la zona y aplicar crema con corticoide y/o antihistamínico oral. Si tras el tratamiento cedía la reacción debían reiniciar el tratamiento en una zona distinta de la espalda a donde habían aplicado previamente el parche.

8.2.2. Tratamiento de los efectos adversos sistémicos

En caso de presentar reacciones sistémicas, en el momento agudo se les indicaba retirar el parche, lavar la zona y tratar la reacción, siguiendo las instrucciones dadas habitualmente en consulta ante cualquier reacción accidental, según los síntomas que presentaran.

A todos los pacientes se les recetaron los medicamentos necesarios para el tratamiento agudo de posibles reacciones alérgicas y se les recordó el manejo de la adrenalina autoinyectable, que deberían llevar en todo momento consigo.

A continuación, se detalla la medicación a administrar en función de los síntomas presentados:

- Síntomas cutáneos: antihistamínicos orales, corticoides orales

- Síntomas respiratorios del tracto superior: antihistamínicos orales, colirio con antihistamínico
- Síntomas respiratorios del tracto inferior: broncodilatadores de acción corta
- Ana laxia: Adrenalina IM

En los casos de reacciones más graves (síntomas respiratorios tracto inferior, ana laxia) o reacciones que no cedían con el tratamiento debían acudir a urgencias para valoración.

Tras presentar una reacción sistémica nunca debían reiniciar la aplicación del parche hasta ponerse en contacto con el personal médico del estudio.

8.3. CAUSALIDAD DE LOS EFECTOS ADVERSOS DURANTE EL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

Se evaluó la relación con el tratamiento epicutáneo de cualquier efecto adverso que se produjera durante el estudio, usando la clasificación de no relacionado, improbable, posible, probable y relacionado según descrito previamente en Sampson y colaboradores (261).

Para el análisis de los resultados se agruparon en efectos adversos no asociados con el tratamiento si cumplían los criterios de no relacionado o improbable, y efectos adversos asociados con el tratamiento si cumplían los criterios de posible, probable o relacionado.

8.4. AJUSTE EN EL TIEMPO DE APLICACIÓN Y DOSIS DE LOS PARCHES

En caso de que el paciente presentase efectos adversos locales repetidos que afectasen su actividad diaria, o reacciones sistémicas asociadas al tratamiento se procedería a disminuir el tiempo de aplicación del parche o disminuir la dosis del parche

en función de la reacción presentada, según el criterio del personal médico responsable. En el caso de que el paciente presentase una reacción anafiláctica o síntomas respiratorios del tracto respiratorio inferior, cualquiera de las dos clasificadas como posibles, probables o relacionadas con el tratamiento, se suspendería el tratamiento epicutáneo sin realizar ajustes en el tiempo de aplicación ni en la dosis del parche.

8.5. CRITERIOS DE SUSPENSIÓN DEL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

- Efectos adversos locales repetidos que interfirieran en la actividad diaria del paciente que continúen a pesar de la disminución del tiempo de aplicación o de la dosis del parche
- Efectos adversos sistémicos clasificados como posibles, probables o relacionados en relación con el tratamiento, que se repitan a pesar de la disminución del tiempo de aplicación o de la dosis del parche
- Aparición de cualquier episodio de anafilaxia clasificada como posible, probable o relacionada en relación con el tratamiento
- Aparición de síntomas del tracto respiratorio inferior clasificados como posibles, probables o relacionados en relación con el tratamiento
- Decisión del paciente en cualquier momento a lo largo del tratamiento

9. MÉTODOS RELACIONADOS CON LOS OBJETIVOS DE CUMPLIMIENTO, PERCEPCIÓN Y SATISFACCIÓN DEL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

A los tres y seis meses del inicio de la fase de mantenimiento del tratamiento se les entregó a los padres y a los pacientes de ocho años o mayores, un cuestionario para recoger datos sobre la satisfacción y adherencia al tratamiento. A los padres se les preguntaba por cómo habían estado sus hijos con el parche, grado de satisfacción y cómo creían que les afectaba en sus actividades diarias. En el cuestionario de los padres se les añadió unas preguntas específicas sobre la preparación y administración del parche, así como olvidos en su aplicación. A los pacientes de ocho años o mayores se les preguntaba exclusivamente por la satisfacción con el parche y posible afectación en sus actividades diarias. (Anexo III y IV)

Los cuestionarios de satisfacción entregados a los pacientes se realizaron modificando el cuestionario sobre la satisfacción con el medicamento (versión española del TSQM versión 1.4) (296). Se analizaron sólo las respuestas del cuestionario de satisfacción al finalizar el tratamiento.

En la revisión clínica del tercer y sexto mes de tratamiento se realizaron preguntas específicas sobre el número de horas que mantenían el parche aplicado en la espalda o posibles problemas de adhesión del parche a la piel. También se les preguntaba por la aparición de reacciones locales y generales desde el inicio del tratamiento. Además, se preguntaba específicamente por cómo podía afectar en su relación con otros compañeros el hecho de que les hubieran visto con el parche puesto.

A lo largo de todo el tratamiento los padres tenían acceso telefónico directo de lunes por la mañana a viernes por la tarde con el personal médico del estudio para solucionar dudas, comentar cualquier posible reacción o solicitar una cita presencial y cada dos semanas, a lo largo de todo el tratamiento, acudían al hospital de día a recoger parches y jeringuillas, momento que se aprovechaba para confirmar tolerancia y resolver preguntas.

10. MÉTODOS RELACIONADOS CON EL OBJETIVO DE CAMBIOS INMUNOLÓGICOS TRAS EL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

10.1. PRUEBAS CUTÁNEAS

Las pruebas cutáneas en *prick* y *prick-prick* con avellana se realizaron siguiendo la metodología descrita en el apartado 6.1.2. de pruebas intraepidérmicas.

El extracto comercial de avellana utilizado era del laboratorio Leti SLU, a una concentración de 3400 µg proteína/ml.

La única diferencia fue que, para la realización de pruebas cutáneas con el alimento natural, se utilizó el método *prick-prick*, que consiste en pinchar con la misma lanceta primero el alimento, en este caso la avellana que se utilizaba en las pruebas de exposición oral, e inmediatamente después la piel del paciente.

10.2. PRUEBAS *IN VITRO*

Todas las determinaciones *in vitro* fueron realizadas en el laboratorio UR Salud del Hospital Infanta Sofía a excepción de la técnica de activación de basó los que fue realizada en el Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación del CSIC de la Universidad Autónoma de Madrid.

A todos los pacientes se les realizaron tres extracciones sanguíneas mediante venopunción para estudiar los posibles cambios inmunológicos. La primera extracción antes del tratamiento epicutáneo (momento inicial), a la mitad del tratamiento del parche con 500 µg (momento mitad) y al finalizar el tratamiento (momento final).

Debido a problemas logísticos, se debía asegurar que la extracción para el TAB se realizaba en un paciente con prueba de exposición oral positiva con el activo y que por lo tanto podría incluirse en el estudio, por lo que la extracción de sangre al

inicio del tratamiento se hizo el mismo día de la prueba de exposición oral positiva, justo al confirmarse la positividad de la prueba y tratar al paciente. La analítica de mitad de tratamiento se extrajo el día de la revisión clínica. La extracción final se llevó a cabo tras la prueba de exposición oral final y tras tratar al paciente en caso de que fuera necesario, para intentar reproducir en lo posible las mismas condiciones en las que se hizo la extracción antes del inicio del tratamiento.

En todas las extracciones sanguíneas la sangre se dejó coagular a temperatura ambiente durante 30 minutos y posteriormente se centrifugó a 4500 rpm durante diez minutos obteniendo el suero sobrenadante. Parte del suero sobrenadante se utilizó inmediatamente para la determinación de IgE específica a avellana extracto total y el resto del suero se conservó al momento a -40°C hasta la determinación de los niveles de IgG4 específica a avellana. Además, en estas tres extracciones a todos los pacientes se les extrajo sangre para la determinación del TAB que se procesaba en las primeras 24 horas tras la extracción.

10.2.1. IgE específica a la avellana

La IgE específica frente al extracto total de avellana se determinó mediante la técnica Immulite® (Siemens). Es un ensayo de inmunoluminiscencia. Emplea alérgenos unidos a polímeros solubles de polilisina que se unen a una bola de poliestireno a través de un complejo estreptavidina-biotina en una fase líquida. Una vez incubadas las bolas que tiene unidos los alérgenos con la muestra del paciente, se utiliza un anticuerpo anti-IgE conjugado con fosfatasa alcalina y, como sustrato, adamantil-dioxetano que produce una señal luminiscente. La correspondencia entre esta señal y la IgE unida al alérgeno se establece mediante una curva patrón formada por siete puntos (297). Los resultados de los niveles de IgE específica se expresaron en kU_{A/L}, considerándose positivos valores de 0,1 kU_{A/L} o superiores.

10.2.2. IgG4 específica a la avellana

La IgG4 específica para el extracto total de avellana se determinó mediante la técnica ImmunoCAP® (ThermoFisher Scientific). Es un sistema de ensayo *in vitro*

para la medición cuantitativa de los anticuerpos IgG específicos en el suero o plasma humanos. El antígeno de interés, con enlace covalente a ImmunoCAP, reacciona con los anticuerpos IgG específicos en la muestra del paciente. Después de eliminar la IgG no específica, se añaden anticuerpos marcados con enzimas frente a IgG para formar un complejo (β -galactosidasa-anti-IgG). Tras la incubación, los anticuerpos anti-IgG no unidos a una enzima se eliminan y la mezcla de unión se incuba con un agente de desarrollo (4-metilumbeliferil- β -D-galactósido al 0,01%). Después de detener la reacción (carbonato de sodio al 4%), se mide la fluorescencia del eluido. Cuanto más elevado sea el valor de respuesta, más IgG específica habrá en la muestra. Para evaluar los resultados de las pruebas, las unidades de respuesta se transforman en concentraciones utilizando la curva de calibración (52). Los resultados de la IgG4 específica se dieron en mg/L.

10.2.3. Test de activación de basófilos

Para la realización de esta técnica tras la extracción de sangre en tubos heparinizados se conservó a 4°C hasta su análisis, realizándolo siempre en las primeras 24 horas de la extracción.

El análisis se basa en el método descrito por primera vez por Sainte-Laudy y colaboradores en 1994 (57) en que la activación de los basófilos por alérgenos o controles se detecta mediante citometría de flujo, determinada por el aumento del CD63 (gp53) en la superficie celular. Se añaden tampón de estimulación y alérgeno a la sangre completa de pacientes con sospecha de alergia o hipersensibilidad. El alérgeno imita la reacción *in vivo*, en la que la IgE específica, unida a la superficie celular, forma puentes por el alérgeno ofensor y activa una cascada de señalización intracelular que lleva a la activación de los basófilos. En consecuencia, los compuestos intracelulares que transportan la proteína transmembrana CD63 se fusionan con la membrana celular y, por lo tanto, quedan expuestos en la matriz extracelular.

Como control positivo, se usa el receptor de alta afinidad para la región Fc de IgE o el activador celular inespecífico fMLP. Además de la estimulación celular, se

añade reactivo de coloración, que contiene una mezcla de anticuerpos monoclonales contra el CD63 humano, marcado con isotiocianato de fluoresceína (anti-CD63-FITC) y contra el receptor de quimiocina humana CCR3 marcado con coeritrina (anti-CCR3-PE). El CCR3 se expresa constitutivamente sobre los eosinófilos y los basófilos (58). Los eritrocitos se extraen mediante una reacción de lisis y, después de un breve paso de centrifugado, las células se resuspenden en tampón de lavado y se analizan mediante citometría de flujo.

El TAB se realizó con el kit Flow CAST® (Bühlmann Laboratories AG). Se adquirieron del orden de 500-600 basófilos por muestra en un citómetro de flujo Gallios (Beckman Coulter, Krefeld, Alemania), capaz de medir simultáneamente "Forward Scatter" (indicador del volumen de la célula), "Side Scatter" (complejidad celular) y diez fluorescencias diferentes utilizando tres láseres. El análisis de datos se realizó empleando los programas de análisis Kaluza (versiones 1.3 y 2.0) y Flowjo (versión 7.6.5).

Se decidió utilizar como alérgeno el mismo extracto de avellana utilizado en el tratamiento con parches. Para determinar la concentración de proteína de avellana a utilizar en el TAB se llevó a cabo previamente un estudio en tres pacientes controles y tres pacientes alérgicos a avellana. Basándose en la literatura publicada al respecto se probaron dos concentraciones de proteína de avellana: 10 µg/mL y 50 µg/mL (62, 298, 299). Dado el resultado de este estudio preliminar (tabla 23) se resolvió utilizar la concentración de 50 µg/mL.

Para una evaluación correcta de los resultados del TAB realizado en los pacientes a lo largo del estudio se tuvieron en cuenta los siguientes controles de calidad:

- Control positivo (control de estimulación): En el kit se incluyeron dos controles positivos diferentes (anticuerpo monoclonal Anti-FcεRI y fMLP). Si alguno de esos dos estimuladores mostraba una activación de >10% de los basófilos, la muestra era evaluable.

- Se consideraba sin respuesta a las personas con baja reactividad (<10% de células positivas para CD63) frente a fMLP y anticuerpo anti-FcεRI.
- Control negativo (control de tampón): Un valor base para un determinado paciente de entre el 2,0 y el 2,5% de los basófilos activados debía considerarse negativo.

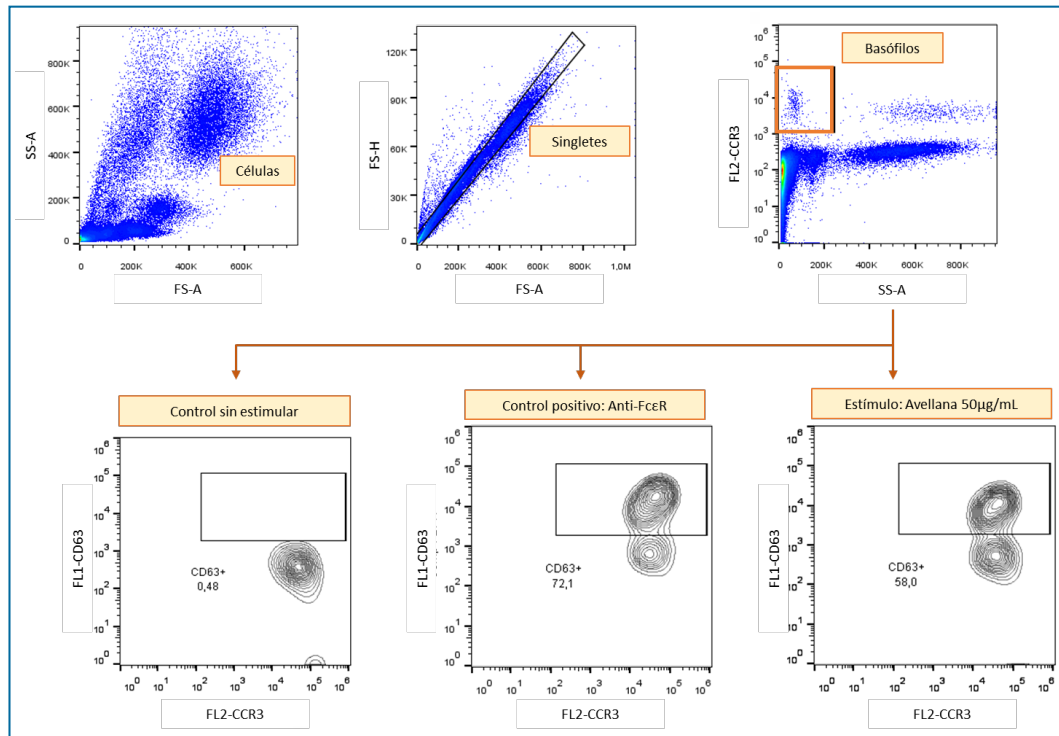
Tabla 23.
Resultados del estudio preliminar del TAB para obtener la dosis de concentración de proteína de avellana a utilizar.

	CONTROL NEGATIVO	CONTROL POSITIVO (ANTI-FcεRI)	CONTROL POSITIVO (INESPECÍFICO FMLP)	PROTEÍNA DE AVELLANA 10µG/ML	PROTEÍNA DE AVELLANA 50µG/ML
Paciente control 1	4,90%	54,87%	9,08%	1,60%	1,52%
Paciente control 2	0,60%	63,82%	22,21%	1,09%	0,85%
Paciente control 3	1,34%	57,40%	15,21%	2,25%	2,92%
Paciente alérgico 1	0,58%	66,89%	31,33%	8,50%	41,63%
Paciente alérgico 2	4,67%	72,58%	11,11%	50,35%	72,13%
Paciente alérgico 3	2,21%	83,40%	52,38%	78,11%	81,13%

Resultados en % de activación de basófilos. TAB: test de activación de basófilos. FcεRI: receptor de alta afinidad para la región Fc de IgE. fMLP: activador celular inespecífico.

Se determinó el nivel de activación de los basófilos en respuesta a la concentración de proteína de avellana de 50 µg/mL en todos los pacientes y en los tres tiempos del estudio (inicio, mitad, y final) en muestras de sangre periférica, mediante citometría de flujo, analizando el nivel de expresión de la proteína CD63. Los resultados se expresaron como el porcentaje total de basófilos que degranulan con el alérgeno (proteína de avellana). En la figura 8 se describe la estrategia de gateo empleada.

Figura 8.
Estrategia de gateo empleada en el análisis del test de activación de basófilos en sangre completa.



Los basófilos se seleccionaron en función de su complejidad o side scatter ($SS-A^{low}$) y la expresión de $CCR3^{pos}$. Posteriormente para el estudio de la activación de los basófilos se analizó el porcentaje de células positivas para la proteína transmembrana CD63 ($CCR3^+ CD63^+$), en una muestra sin estimular, control positivo Anti-FcεR y estímulo de avellana 50 µg/mL.

11. MÉTODOS RELACIONADOS CON EL OBJETIVO DEL PERFIL DE RECONOCIMIENTO A LA AVELLANA

A todos los pacientes se les realizó una extracción sanguínea mediante venopunción entre uno y tres meses antes de la prueba de exposición oral inicial, para hacer el estudio del perfil de sensibilización a los componentes proteicos de la avellana.

Tras la extracción, la sangre se dejó coagular a temperatura ambiente durante 30 minutos y posteriormente se centrifugó a 4500 rpm durante diez minutos obteniendo el suero sobrenadante. En la extracción previa a la prueba de exposición oral, el suero sobrenadante se conservó al momento a -40°C hasta la determinación de los niveles de IgE específicas a componentes moleculares de avellana.

La IgE específica a los distintos componentes moleculares de la avellana se determinaron mediante tres técnicas distintas. Inicialmente se utilizó la técnica de ISAC[®], pero al obtener gran cantidad de negativos se decidió hacer la determinación con ImmunoCAP[®] para tener la opción de caracterizar correctamente a la población a estudio. Finalmente, se decidió ampliar el estudio molecular con una tercera técnica, ALEX[®], para poder incluir el alérgeno Cor a 11 que no se encontraba disponible en las dos plataformas previas. De esta manera se pudieron obtener resultados de todos los componentes moleculares de la avellana disponibles comercialmente.

11.1. MÉTODO IMMUNOCAP ISAC[®] (THERMOFISHER SCIENTIFIC)

Es un inmunoensayo de fase sólida. Los componentes alergénicos son inmovilizados en un sustrato sólido en formato de micromatriz (portaobjetos) y reaccionan con la IgE específica de la muestra de suero del paciente (30 l). Después de eliminar la IgE no específica con lavados, aquellos componentes que reaccionan con el suero son detectados por un anticuerpo secundario (anti-IgE humana) marcado con un fluo-

rochromo. Tras la incubación, los anticuerpos anti-IgE marcados que no se han unido se eliminan mediante un nuevo lavado. El procedimiento va seguido de la medida de la fluorescencia mediante un escáner de micromatriz. Con una curva de calibración estándar los resultados se representan en un rango de 0.3 a 100 unidades internacionales estandarizadas ISAC (ISU) que ofrecen una indicación semicuantitativa de las concentraciones de IgE (300, 301). Se consideraron valores positivos aquellos iguales o mayor de 0,3 ISU.

Los componentes de avellana que se determinaron por este método fueron los siguientes: rCor a 1 (PR-10), rCor a 8 (LTP), nCor a 9 (11S). Cor a 1 y Cor a 8 eran proteínas recombinantes (r) y Cor a 9 proteína natural (n).

11.2. MÉTODO IMMUNOCAP® (THERMOFISHER SCIENTIFIC)

En esta prueba el antígeno de interés, con enlace covalente a ImmunoCAP®, reacciona con los anticuerpos IgE específicos en la muestra del paciente. Después de eliminar la IgE no específica, los anticuerpos marcados con enzimas contra IgE se añaden para formar un complejo. Tras la incubación, anti-IgE no unido a una enzima se elimina y la mezcla de unión se incuba con un agente de desarrollo. Después de detener la reacción, se mide la fluorescencia del eluido. Cuanto más elevado sea el valor de respuesta, más IgE específica habrá en la muestra. Para evaluar los resultados de la prueba, la respuesta de las muestras del paciente se transforma a concentraciones mediante el uso de una curva de calibración (52). El límite inferior de cuantificación global para anticuerpos IgE específicos de alérgenos es de 0,1 kU/L. valor a partir del cual se consideró positivo.

Los componentes de la avellana que se determinaron por este método fueron los siguientes: rCor a 1 (PR-10), rCor a 8 (LTP), nCor a 9 (11S), rCor a 14 (2S). Cor a 1, Cor a 8 y Cor a 14 eran proteínas recombinantes (r) y Cor a 9 proteína natural (n).

11.3. MÉTODO ALEX® (MACRO ARRAY DIAGNOSTICS)

ALEX® es una técnica en la que los diferentes alérgenos se colocan sobre una membrana de nitrocelulosa en un microchip. Tras una incubación con 0,5 ml de una dilución del suero que contiene un inhibidor de determinantes carbohidratados (CCD) se pasa a realizar una serie de lavados del microchip y se agrega una dilución pre-titulada de anti-IgE humana marcada con fosfatasa alcalina, incubándose posteriormente durante 30 minutos. Después de otro ciclo de lavado, se agrega el sustrato enzimático. Las membranas se secan y la intensidad de la reacción de color producida para cada alérgeno se miden con una cámara CCD. Finalmente, se obtiene una curva de calibración arbitraria haciendo reaccionar cuatro puntos con concentraciones decrecientes de IgE específica, dando un resultado cuantitativo de las concentraciones de IgE (50). El límite inferior de cuantificación global para anticuerpos IgE específicos de alérgenos es de 0,3 kUA/L, por lo que se consideraron valores positivos a partir de ese límite.

Los componentes de la avellana que se determinaron por este método fueron los siguientes: rCor a 1 (PR-10), rCor a 8 (LTP), nCor a 9 (11S), nCor a 11 (2S), rCor a 14 (2S). Cor a 1, Cor a 8 y Cor a 14 eran proteínas recombinantes (r) y Cor a 9 y Cor a 11 proteínas naturales (n).

12. ESTUDIO ESTADÍSTICO

El análisis descriptivo de las variables de estudio se realizó a través del cálculo de la media \pm desviación estándar o mediana [rango intercuartilico=Q3-Q1], una vez comprobada la distribución normal, para las variables cuantitativas. Para describir las variables cualitativas se utilizaron las frecuencias absolutas (n) y relativas (%).

Para estudiar la relación entre las variables cuantitativas de las características demográficas de la población (edad), eficacia clínica (DUDS, DADS, número grupos síntomas, reducción número grupos síntomas), cambios inmunológicos (*prick* y *prick-prick* avellana, IgE específica, IgG4 específica, ratio IgG4/IgE específica, TAB avellana) y del perfil de sensibilización (componentes moleculares por método diagnóstico), con respecto al tratamiento suministrado al paciente (activo o placebo), se emplearon las pruebas T de Student o U de Mann Whitney una vez comprobado el comportamiento paramétrico o no paramétrico de las variables cuantitativas, respectivamente.

Además, se empleó la prueba Chi cuadrado (o prueba exacta de Fisher) para comparar el tipo de tratamiento (activo o placebo) con respecto a las variables cualitativas registradas en el estudio, de descripción de la población (características demográficas y antecedentes, pruebas cutáneas con frutos secos, aeroalérgenos, panalérgenos), eficacia clínica (eficacia del tratamiento, tolerancia provocación, aumento en diez veces dosis desencadenante respecto a provocación inicial, síntomas/signos en las provocaciones, gravedad de las provocaciones, cambio en la gravedad), seguridad (efectos adversos locales global y por tipos, efectos adversos sistémicos global y por tipos), cumplimiento del tratamiento (pacientes que se aplican el parche 24 horas todo el tratamiento, 12 horas los primeros o últimos meses, 24 horas los primeros o últimos meses, desprendimiento del parche, olvidos en la aplicación del parche), cambios inmunológicos (*prick* y *prick-prick* avellana) y de perfil de sensibilización (componentes moleculares por método diagnóstico y global, patrones de reconocimiento).

La valoración de las diferencias estadísticas entre el momento inicial y final

con relación a las dosis de proteínas desencadenantes de síntomas en las provocaciones orales (DUDS, DADS), *prick* avellana y *prick-prick* avellana, IgE específica avellana, IgG4 específica avellana, ratio IgG4/IgE y los valores de activación de basófilos con avellana se analizó mediante la prueba T de Student para muestras relacionadas (en caso de comprobarse la normalidad de los valores de las variables) y la prueba de Wilcoxon si las variables no seguían una distribución normal.

Todos los cálculos estadísticos se realizaron utilizando el programa estadístico SPSS (versión 25.0 IBM Corp.; EE. UU.). Se asumió que existían diferencias estadísticamente significativas si el p-valor obtenido era menor o igual a 0,05.

13. ASPECTOS ÉTICOS

El protocolo del estudio se sometió a la evaluación por parte del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Paz (código HULP: PI-2419) que dictó una resolución favorable, que se puede consultar en el anexo V.

El proyecto se realizó siguiendo las normativas en materia de bioética según la declaración de Helsinki, el informe de Belmont, el convenio de Oviedo sobre los derechos humanos y la biomedicina y la ley 14/2007, de 3 de julio, de investigación biomédica. El estudio cumplió estrictamente la legislación de la UE sobre datos personales, en concreto la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales, el Real Decreto 1720/2007, la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica. Los participantes al proyecto mantuvieron absoluta confidencialidad y reserva sobre cualquier dato que pudieran conocer con ocasión de la realización del trabajo, especialmente los de carácter personal, que no fueron copiados o utilizados con un fin distinto al que se determinó, ni tampoco se cedió a otros ni siquiera a efectos de conservación. Esta obligación subsistirá una vez cumplido el periodo de tiempo para el que se le haya autorizado el acceso a sus datos y resultados.

Previa a su participación, todos los padres de los pacientes incluidos en el estudio firmaron un consentimiento informado por escrito, así como también lo firmaron los pacientes con 12 años o más (consentimiento del menor maduro), cuyos modelos se puede consultar en los anexos VI y VII respectivamente. Para llevar a cabo el estudio se contrató una póliza de responsabilidad civil que se puede consultar en el anexo VIII.

14. FINANCIACIÓN DEL PROYECTO

El trabajo se llevó a cabo con la financiación de una beca de la Fundación de la SEAIC en la convocatoria de ayudas de 2016, cuya resolución se puede consultar en el anexo IX.

V. Resultados

1. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO

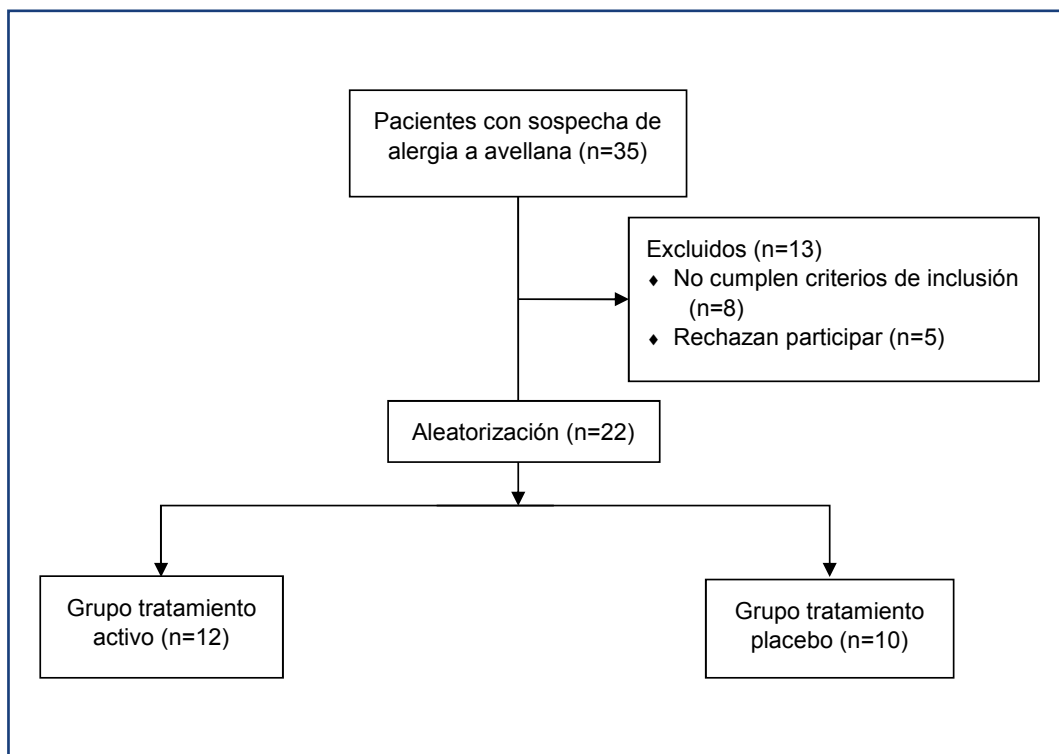
1.1. INCLUSIÓN DE PACIENTES

Se ofreció participar en el estudio a un total de 35 pacientes con sospecha de alergia a la avellana de entre 3 a 16 años, vistos todos ellos en revisión en las consultas de alergología del HUIS entre junio y noviembre de 2017.

De esos 35 pacientes, 13 fueron excluidos. Ocho por tolerar la avellana en la prueba de exposición oral inicial y cinco por rechazar participar en el estudio.

Cumplieron los criterios de inclusión para participar en el estudio 22 pacientes. Tras la aleatorización, 12 se incluyeron en el grupo de tratamiento activo y diez en el grupo de tratamiento placebo. (Figura 9)

Figura 9.
Diagrama de reclutamiento y aleatorización.



1.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN DEL ESTUDIO

Se incluyeron 22 pacientes de raza caucásica de 4 a 14 años (media \pm DE: 8,1 \pm 2,7 años), de los cuales 18 eran niños (81,8%) y cuatro niñas (18,2%). Tras la aleatorización 12 pacientes formaron el grupo de tratamiento activo y diez pacientes el grupo de tratamiento placebo. Los datos demográficos y clínicos de ambos grupos se encuentran reflejados en la tabla 24. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos respecto a sexo, edad, antecedentes familiares alérgicos, presencia de rinoconjuntivitis polínica, asma bronquial, antecedentes de alergia a otros alimentos o presentar dermatitis atópica.

Tabla 24.
Características demográficas y clínicas de la población a estudio.

	TOTAL (N=22)	ACTIVO (N=12)	PLACEBO (N=10)	P-VALOR
Sexo n (%)				
Hombre	18 (81,8)	9 (75,0)	9 (90,0)	0,594
Mujer	4 (18,2)	3 (25,0)	1 (10,0)	
Edad media\pmDE (mín-máx)				
	8,1 \pm 2,7 (4-14)	8,0 \pm 3,0 (4-14)	8,2 \pm 2,4 (5-12)	0,866
AF alérgicos n (%)				
No	17 (77,3)	9 (75,0)	8 (80,0)	1,000
Sí	5 (22,7)	3 (25,0)	2 (20,0)	
Rinoconjuntivitis polen n (%)				
No	14 (63,6)	9 (75,0)	5 (50,0)	0,378
Sí	8 (36,4)	3 (25,0)	5 (50,0)	
Asma bronquial n (%)				
No	14 (63,6)	6 (50,0)	8 (80,0)	0,130
Sí	8 (36,4)	6 (50,0)	2 (20,0)	

Alergia a alimentos n (%)				
No	5 (22,3)	3 (25,0)	2 (20,0)	1,000
Sí	17 (77,3)	9 (75,0)	8 (80,0)	
Dermatitis atópica n (%)				
No	8 (36,4)	4 (33,3)	4 (40,0)	1,000
Sí	14 (63,6)	8 (66,7)	6 (60,0)	

N: número de pacientes. %: porcentaje de pacientes. DE: desviación estándar. Mín: valor mínimo. Máx: valor máximo. AF: antecedentes familiares. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo.

La mayoría de los pacientes, 19 (86,4%), tenían una edad menor o igual a 11 años. Además de la alergia a la avellana, los alimentos a los que más frecuentemente eran alérgicos eran los de origen vegetal, siendo otros frutos secos los más frecuentes en ambos grupos, seguido del grupo de las frutas. La alergia a fruta la padecían siete pacientes, tres del grupo activo y cuatro del placebo.

1.3 CLÍNICA DE SOSPECHA DE ALERGIA A LA AVELLANA POR ANAMNESIS

En la tabla 25 se refleja la clínica referida por los pacientes en el momento que presentaron la primera reacción con avellana, así como el alimento con el cual tuvieron los síntomas descritos. Cuatro de los 22 pacientes, dos del grupo activo y dos del grupo placebo, no habían tenido ninguna reacción con avellana, puesto que la evitaban tras evidenciarse la sensibilización, sin ingesta previa a la misma, en el transcurso del estudio de otras alergias alimentarias. La clínica más frecuente descrita fue la cutánea, presentándola 14 pacientes (63,6%), ocho del grupo activo y seis del grupo placebo. En segundo lugar, afectando al 18,2% de los pacientes, la clínica orofaríngea y abdominal. La clínica respiratoria inferior se presentó en tres pacientes (13,6%), uno del grupo activo y dos del grupo placebo. El alimento más frecuentemente implicado en las reacciones fue la crema de avellana, encontrándose en el 50% de las reacciones y el segundo lugar lo ocupaba la avellana en fruto seco entero.

Tabla 25.
Clínica de presentación de alergia a avellana y alimento implicado.

Nº PACIENTE	GRUPO DE TRATAMIENTO	CLÍNICA PRESENTACIÓN (SEGÚN ANAMNESIS)	ALIMENTO IMPLICADO
1	Activo	Orofaringea, digestiva	Helado de avellana
2	Activo	Orofaringea	Crema de avellana
3	Activo	Cutánea	Crema de avellana
4	Activo	Orofaringea	Crema de avellana
5	Activo	Cutánea	Crema de avellana
6	Activo	Cutánea	Crema de avellana
7	Activo	Cutánea, digestiva	Crema de avellana
8	Activo	Cutánea, digestiva, tracto respiratorio inferior	Avellana
9	Activo	Sensibilización sin ingesta	-
10	Activo	Sensibilización sin ingesta	-
11	Activo	Orofaringea, digestiva	Crema de avellana
12	Activo	Cutánea	Avellana
13	Placebo	Cutánea, tracto respiratorio inferior	Avellana
14	Placebo	Cutáneo	Avellana
15	Placebo	Cutáneo	Crema de avellana
16	Placebo	Cutánea, tracto respiratorio inferior	Bollería con crema de avellana
17	Placebo	Orofaringea	Bombón con avellana
18	Placebo	Cutánea	Crema de avellana
19	Placebo	Sensibilización sin ingesta	-
20	Placebo	Sensibilización sin ingesta	-
21	Placebo	Cutánea	Avellana
22	Placebo	Orofaringea	Crema de avellana

1.4. TOLERANCIA A OTROS FRUTOS SECOS

Al inicio del estudio todos los pacientes, excepto cuatro que evitaban todo tipo de frutos secos, consumían algún fruto seco distinto a la avellana. Los frutos secos más consumidos en ambos grupos eran las almendras y las semillas de girasol, seguidos del cacahuete y de los pistachos. Los menos consumidos tanto en el grupo activo como en el placebo eran las nueces y los anacardos. Los pacientes que no consumían otros frutos secos era debido a haber sufrido en el pasado reacciones alérgicas con ellos o por evitación tanto por haber presentado una sensibilización previa o por precaución. En la tabla 26 se reflejan los frutos secos consumidos por los pacientes.

Tabla 26.
Tolerancia a otros frutos secos al inicio del estudio.

TOLERANCIA A FRUTOS SECOS	TOTAL (N=22) N* (%)	ACTIVO (N=12) N* (%)	PLACEBO (N=10) N* (%)
Almendra	15 (68,2)	8 (66,7)	7 (70,0)
Cacahuete	10 (45,5)	6 (50,0)	4 (40,0)
Nuez	3 (13,6)	2 (16,7)	1 (10,0)
Pistacho	8 (36,4)	5 (41,7)	3 (30,0)
Anacardo	3 (13,6)	1 (8,3)	2 (20,0)
Semilla de girasol	15 (68,2)	9 (75,0)	6 (60,0)

*N: número de pacientes. *: cada paciente puede tolerar más de un fruto seco. %: porcentaje de pacientes*

1.5. PRUEBAS CUTÁNEAS

1.5.1. Pruebas cutáneas con otros frutos secos

El fruto seco que produjo con mayor frecuencia resultados positivos fue la nuez (77,3%), seguido en orden de frecuencia del cacahuete (59,1%) y de anacardo

y pistacho, ambos positivos en un 45,5% de la población a estudio. Los que menos positivities produjeron fueron la almendra (36,4%) y la semilla de girasol (27,3%). No se encontraron diferencias significativas entre las sensibilizaciones encontradas en ambos grupos. Tanto en el grupo activo como en el placebo el fruto seco que producía más sensibilización cutánea fue la nuez seguido del cacahuete. (Tabla 27)

Tabla 27.
Sensibilización a otros frutos secos por prueba cutánea al inicio del estudio.

SENSIBILIZACIÓN A FRUTOS SECOS	TOTAL (N=22) N* (%)	ACTIVO (N=12) N* (%)	PLACEBO (N=10) N* (%)	P-VALOR
	8 (36,4)	4 (33,3)	4 (40,0)	1,000
Cacahuete	13 (59,1)	6 (50,0)	7 (70,0)	0,415
Nuez	17 (77,3)	9 (75,0)	8 (80,0)	1,000
Pistacho	10 (45,5)	4 (33,3)	6 (60,0)	0,391
Anacardo	10 (45,5)	4 (33,3)	6 (60,0)	0,391
Semilla de girasol	6 (27,3)	2 (16,7)	4 (40,0)	0,348

*N: número de pacientes. *: cada paciente puede mostrar sensibilización a varios frutos secos. %: porcentaje de pacientes. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo.*

1.5.2. Pruebas cutáneas con aeroalérgenos

De los 22 pacientes, 19 presentaron alguna sensibilización y sólo tres, dos del grupo activo y uno del placebo, no tenían sensibilización a ninguno de los aeroalérgenos probados. La sensibilización a polen de gramíneas se encontró en el 81,8% de los pacientes, seguidos en un 72,7% tanto a polen de olivo como de arizónica. El 50% de los pacientes tenían sensibilización a polen de abedul y el 45,5% a plátano de sombra. La sensibilización al resto de aeroalérgenos se evidenció en menos del 50%

de los pacientes, siendo los ácaros y la alternaria los que menor frecuencia tenían con un 4,5% y 9,1% respectivamente. En la tabla 28 se expresan los resultados de las pruebas cutáneas con aeroalérgenos realizadas al inicio del estudio. No se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos activo y placebo.

Tabla 28.
Sensibilización a aeroalérgenos por prueba cutánea al inicio del estudio.

SENSIBILIZACIÓN A AEROALÉRGENOS	TOTAL (N=22) N* (%)	ACTIVO (N=12) N* (%)	PLACEBO (N=10) N* (%)	P-VALOR
Gramíneas salvajes	18 (81,8)	10 (83,3)	8 (80,0)	1,000
<i>Olea europeae</i>	16 (72,7)	7 (58,3)	9 (90,0)	0,162
<i>Platanus acerifolia</i>	10 (45,5)	5 (41,7)	5 (50,0)	1,000
<i>Cupressus arizónica</i>	16 (72,7)	8 (66,7)	8 (80,0)	0,646
<i>Betula verrucosa</i>	11 (50,0)	5 (41,7)	6 (60,0)	0,392
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	1 (4,5)	0	1 (10,0)	0,455
<i>Alternaria alternata</i>	2 (9,1)	1 (8,3)	1 (10,0)	1,000
Epitelio de perro	8 (36,4)	4 (33,3)	4 (40,0)	1,000
Epitelio de gato	8 (36,4)	3 (25,0)	5 (50,0)	0,378

*N: número de pacientes. *: cada paciente puede mostrar varias sensibilizaciones. %: porcentaje de pacientes. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo.*

1.5.3. Pruebas cutáneas con panalérgenos

El panalérgeno que produjo más sensibilizaciones en la muestra total de pacientes fue la LTP (40,9%) seguido de la polcalcina (27,3%) y pro lina (22,7%). De los nueve pacientes que tenían la prueba cutánea positiva a LTP, seis de ellos, dos del grupo activo y cuatro del grupo placebo, tenían alergia a frutas. Nueve pacientes (40,9%), seis del grupo activo y tres del placebo, no presentaron ninguna sensibilización a los panalérgenos probados y sólo un paciente del grupo placebo presentaba

positividad a los tres panalérgenos. Tanto en el grupo activo como en el placebo la LTP fue el panalérgeno que más sensibilización produjo, seguido de la profilina en el grupo activo y de la polcalcina en el grupo placebo. No se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. (Tabla 29)

Tabla 29.
Sensibilización a panalérgenos por prueba cutánea al inicio del estudio.

SENSIBILIZACIÓN A PANALÉRGENOS	TOTAL (N=22) N* (%)	ACTIVO (N=12) N* (%)	PLACEBO (N=10) N* (%)	P-VALOR
Profilina	5 (22,7)	3 (25,0)	2 (20,0)	1,000
LTP	9 (40,9)	4 (33,3)	5 (50,0)	0,666
Polcalcina	6 (27,3)	2 (16,7)	4 (40,0)	0,348

*N: número de pacientes. *: cada paciente puede mostrar varias sensibilizaciones. %: porcentaje de pacientes. LTP: Proteína transportadora de lípidos. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo.*

2. EFICACIA CLÍNICA DEL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

2.1. EFICACIA DEL TRATAMIENTO

De los 22 pacientes del estudio, en diez de ellos (45%) fue eficaz el tratamiento, seis (50%) del grupo activo y cuatro (40%) del placebo.

Del total de pacientes, cuatro (18,2%) toleraron la dosis inicial de avellana y no presentaron ninguna reacción durante la prueba de exposición inicial, tres del grupo activo y uno del grupo placebo. De los seis pacientes restantes en los que fue eficaz el tratamiento, tres del grupo activo y tres del grupo placebo, fue debido a un aumento en diez veces de la dosis desencadenante de síntomas en la exposición oral respecto a la inicial.

En los pacientes que aumentaron en diez veces el umbral de referencia, en el grupo placebo partían de dosis muy bajas en la prueba de exposición inicial (segunda o tercera dosis administrada), mientras que en el activo un paciente partía de una dosis más alta (quinta dosis administrada) y los otros dos de dosis bajas.

Al hacer el estudio por protocolo no varió el número de pacientes en los que había sido eficaz el tratamiento ya que en los dos pacientes del grupo activo que no cumplieron correctamente el tratamiento, este no fue eficaz.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupo activo y placebo respecto a la eficacia del tratamiento. (Tabla 30)

Tras hacer el cálculo de eficacia por rangos de edad dentro de cada grupo de tratamiento, no se encontraron diferencias significativas puesto que, tanto para los pacientes del activo (tanto por intención de tratar como por protocolo) como para los del placebo, de los pacientes respondedores el 50% pertenecían al rango de 4 a 7 años y el otro 50% de respondedores estaban en el rango de entre 8 y 14 años.

Tabla 30.
Eficacia del tratamiento epicutáneo por grupos de tratamiento.

EFICACIA TRATAMIENTO	ACTIVO N (%)	PLACEBO N (%)	P-VALOR
Intención de tratar	6 (50,0)	4 (40,0)	0,691
Por protocolo	6 (60,0)	4 (40,0)	0,371

N: número de pacientes. %: porcentaje de pacientes.

2.2. DOSIS DE PROTEÍNA DE AVELLANA DESENCADENANTE DE SÍNTOMAS EN LAS PRUEBAS DE EXPOSICIÓN ORAL

2.2.1. Dosis única de proteína de avellana desencadenante de síntomas en las pruebas de exposición oral

No había diferencias significativas en la mediana de la dosis única de proteína de avellana desencadenante de síntomas entre ambos grupos de tratamiento en la prueba de exposición oral inicial.

La mediana de la dosis única de proteína de avellana desencadenante de síntomas en la prueba de exposición oral final era mayor en el grupo activo que en el grupo placebo, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ni por intención de tratar, ni por protocolo. (Tabla 31)

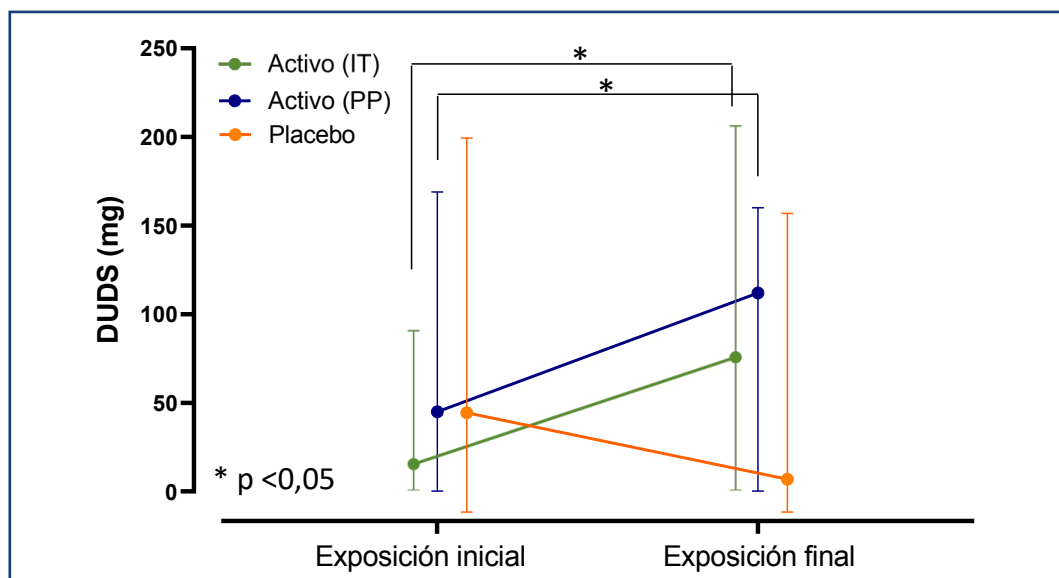
Al calcular la diferencia de las medianas de la dosis de proteína única desencadenante de síntomas en cada grupo de estudio entre el inicio y el final del tratamiento, se evidenció que en el grupo activo la dosis aumentaba de 15 a 75 mg en el análisis por intención de tratar y de 45 a 112,5 mg en el análisis por protocolo, siendo ambas diferencias estadísticamente significativas ($p=0,021$ y $p=0,025$ respectivamente). Esta diferencia no fue estadísticamente significativa en el grupo placebo que pasó de una mediana de dosis desencadenante de síntomas de 45 a 15 mg ($p=0,833$). (Figura 10)

Tabla 31.
Dosis única de proteína de avellana desencadenante de síntomas en las exposiciones orales.

INTENCIÓN DE TRATAR	ACTIVO (N=12)	PLACEBO (N=10)	P-VALOR
Exposición inicial mediana [RIC] (mín-máx)	15 [129,75] (1,5-300)	45 [148,50] (0,75-300)	0,973
Exposición final mediana [RIC] (mín-máx)	75 [255,00] (0,15-300)	15 [142,50] (1,5-300)	0,502
POR PROTOCOLO	ACTIVO (N=10)	PLACEBO (N=10)	P-VALOR
Exposición inicial mediana [RIC] (mín-máx)	45 [148,50] (1-300)	45 [148,50] (0,75-300)	0,757
Exposición final mediana [RIC] (mín-máx)	112,5 [286,87] (7,5-300)	15 [142,50] (1,5-300)	0,178

N: número de pacientes. [RIC]: rango intercuartílico. Mín: valor mínimo. Máx: valor máximo. Los valores de la dosis de proteína de avellana se dan en mg.

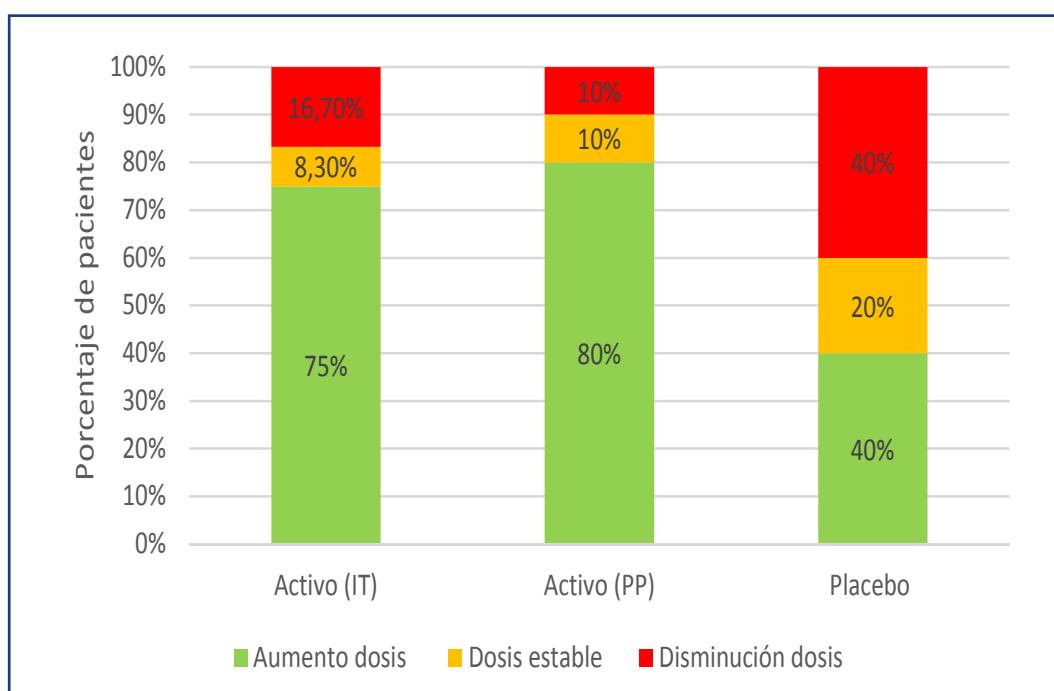
Figura 10.
Evolución de la mediana de la dosis única de proteína de avellana desencadenante de síntomas en las exposiciones orales en ambos grupos de tratamiento.



DUDS: dosis única de proteína desencadenante de síntomas. IT: intención de tratar. PP: por protocolo. El punto representa la mediana y las líneas verticales el rango intercuartílico.

La mayoría de los pacientes del grupo activo, tanto por intención de tratar (75%), como por protocolo (80%) aumentaron la dosis de proteína de avellana necesaria para desencadenar síntomas en la exposición final respecto a la inicial. Mientras que en el placebo sólo el 40% de los pacientes aumentaron dicha dosis. (Figura 11)

Figura 11.
Cambios en dosis única de proteína de avellana necesaria para desencadenar síntomas en la exposición final respecto a la inicial en ambos grupos del estudio.



IT: Intención de tratar. PP: por protocolo.

Este incremento en la DUDS por intención de tratar en el grupo activo supone aumentar la cantidad de avellana total con la que se tiene reacción, pasando de una décima parte de una pieza de avellana a la mitad de una avellana, y en el estudio por protocolo, se desarrollan síntomas con tres décimos de la pieza de avellana al inicio y con tres cuartas partes del fruto seco entero tras el tratamiento. Mientras que en el grupo placebo se disminuye en la cantidad de avellana con la que reaccionan, pasando de tres décimos de la pieza de avellana a la décima parte de una avellana al finalizar el estudio.

2.2.2. Dosis acumulada de proteína de avellana desencadenante de síntomas en las pruebas de exposición oral

No había diferencias significativas en la mediana de la dosis acumulada de proteína de avellana desencadenante de síntomas entre ambos grupos de tratamiento en la prueba de exposición oral inicial.

La mediana de la dosis acumulada de proteína de avellana desencadenante de síntomas en la prueba de exposición oral final era mayor en el grupo activo que en el grupo placebo, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ni por intención de tratar, ni por protocolo (Tabla 32)

Tabla 32.
Dosis de proteína acumulada de avellana desencadenante de síntomas en las exposiciones orales.

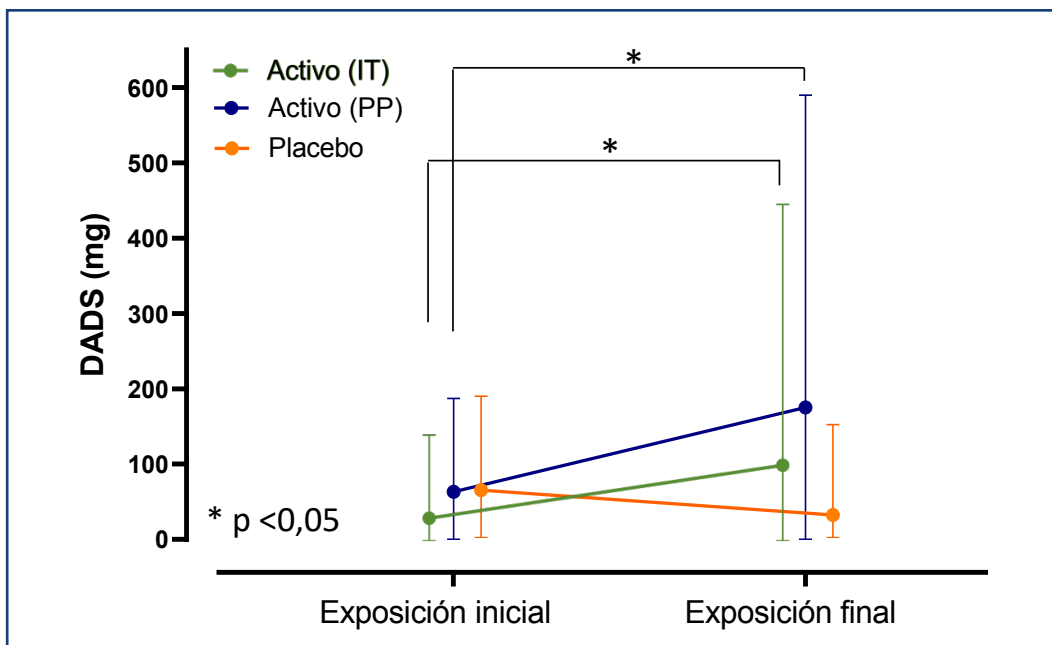
INTENCIÓN DE TRATAR	ACTIVO (N=12)	PLACEBO (N=10)	P-VALOR
Exposición inicial mediana [RIC] (mín-máx)	24,9 [210,0] (2-550)	62,4 [247,5] (1-550)	0,973
Exposición final mediana [RIC] (mín-máx)	99,9 [690,0] (0-850)	24,9 [240,0] (2-850)	0,502
POR PROTOCOLO	ACTIVO (N=10)	PLACEBO (N=10)	P-VALOR
Exposición inicial mediana [RIC] (mín-máx)	62,4 [247,5] (2-550)	62,4 [247,5] (1-550)	0,757
Exposición final mediana [RIC] (mín-máx)	174,9 [828,8] (10-850)	24,9 [240,0] (2-850)	0,178

N: número de pacientes. [RIC]: rango intercuartílico. Mín: valor mínimo. Máx: valor máximo. Los valores de la dosis de proteína de avellana se dan en mg.

Al calcular la diferencia de las medianas de la dosis de proteína acumulada desencadenante de síntomas en cada grupo de estudio entre el inicio y el final del tratamiento, se evidenció que en el grupo activo la dosis aumentaba de 24,9 a 99,9 mg en el análisis por intención de tratar y de 62,4 a 174,9 mg en el análisis por protocolo,

siendo ambas diferencias estadísticamente significativas ($p=0,021$ y $p=0,015$ respectivamente). Esta diferencia no fue estadísticamente significativa en el grupo placebo que pasó de una mediana de dosis acumulada desencadenante de síntomas de 62,4 a 24,9 mg ($p=0,889$). (Figura 12)

Figura 12.
Evolución de la mediana de la dosis acumulada de proteína de la avellana desencadenante de síntomas en las exposiciones orales en ambos grupos de tratamiento.



DADS: dosis acumulada de proteína desencadenante de síntomas. IT: intención de tratar. PP: por protocolo. El punto representa la mediana y las líneas verticales el rango intercuartílico.

Este incremento en la DADS por intención de tratar en el grupo activo supone aumentar la cantidad de avellana total con la que se tiene reacción, pasando de un sexto de una pieza de avellana a dos tercios de una avellana, y en el estudio por protocolo, se desarrollan síntomas con un poco menos de la mitad de la pieza de avellana al inicio y con tres cuartas partes del fruto seco entero tras el tratamiento. Mientras que en el grupo placebo se disminuye en la cantidad de avellana con la que reaccionan, pasando de un poco menos de la mitad de la pieza de avellana a un sexto de avellana al finalizar el estudio.

2.3. SÍNTOMAS/SIGNOS DESARROLLADOS EN LAS PRUEBAS DE EXPOSICIÓN ORAL

Del total de las provocaciones orales realizadas con placebo sólo un paciente en una prueba de exposición oral inicial presentó síntomas orofaríngeos de prurito oral en una de las dosis administradas, que cedieron de forma espontánea en menos de cinco minutos y no se repitió en dosis posteriores. En el resto de las provocaciones orales con placebo, tanto de las iniciales como finales, no se registró ningún síntoma.

Los siguientes datos presentados se refieren a las provocaciones orales realizadas con la receta de activo (avellana).

Tabla 33.
Sintomatología producida en la exposición inicial.

SÍNTOMAS/SIGNOS EXPOSICIÓN INICIAL	ACTIVO (N=12) N* (%)	PLACEBO (N=10) N*(%)	P-VALOR
Orofaringeos	8 (66,7)	4 (40,0)	0,391
Cutáneos	7 (58,3)	8 (80,0)	0,381
Tracto respiratorio superior	3 (25,0)	1 (10,0)	0,594
Tracto respiratorio inferior	5 (41,7)	0	0,040
Digestivos	5 (41,7)	4 (40,0)	1,000

*N: número de pacientes. *: cada paciente puede presentar más de un grupo de síntomas/signos. %: porcentaje de pacientes.*

La prueba de exposición oral inicial fue considerada positiva en todos los pacientes, presentando todos ellos signos objetivos. En la prueba de exposición oral inicial la clínica presentada más frecuentemente en el grupo activo fue la orofaríngea (66,7%), seguida de la cutánea (58,3%). Este orden se invirtió en el grupo placebo donde la más frecuente fue la cutánea (80%) seguida de la orofaríngea (40%). No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de síntomas/signos identificados durante la prueba de exposición oral inicial excepto en los referentes al tracto

respiratorio inferior. Cinco de los 12 pacientes del grupo activo (41,7%) presentaron síntomas bronquiales mientras que en ningún paciente del grupo placebo se evidenciaron estos síntomas, lo que supuso una diferencia estadísticamente significativa. (Tabla 33). De los 22 pacientes del estudio, nueve de ellos presentaron una reacción anafiláctica durante la prueba de exposición oral inicial, cinco en el grupo activo (41,7% del total de pacientes de ese grupo) y cuatro en el grupo placebo (40% del total de ese grupo), sin ser esta diferencia estadísticamente significativa. No se objetivó ningún síntoma neurológico, cardiovascular o choque anafiláctico.

Tras finalizar el tratamiento epicutáneo y realizar de nuevo la prueba de exposición oral, se consideró positiva en 18 pacientes (81,8%), nueve (75%) del grupo activo y nueve (90%) del grupo placebo. De los 18 pacientes que no superaron la prueba de provocación, en 13 (72,2%) se consideró positiva al presentar signos objetivos, mientras que en los otros cinco pacientes (27,8%), tres del grupo activo y dos del placebo, fueron los síntomas subjetivos mantenidos los que se consideraron como criterio para la positividad.

Tabla 34.
Sintomatología producida en la prueba de exposición oral final.

SÍNTOMAS/SIGNOS EXPOSICIÓN FINAL	ACTIVO (N=12) N* (%)	PLACEBO (N=10) N* (%)	P-VALOR
Orofaringeos	4 (33,3)	4 (40,0)	1,000
Cutáneos	4 (33,3)	7 (70,0)	0,087
Tracto respiratorio superior	0	1 (10,0)	0,455
Digestivos	3 (25,0)	2 (20,0)	1,000

*N: número de pacientes. *: cada paciente puede presentar más de un grupo de síntomas/signos. %: porcentaje de pacientes.*

No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos de tratamiento al comparar el tipo de sintomatología objetivada. Los síntomas más frecuentemente observados en el grupo activo fueron los orofaringeos (33,3%) y cutáneos

(33,3%) y en el grupo placebo los cutáneos (70%). (Tabla 34) En la prueba de exposición oral final no se objetivó ningún síntoma del tracto respiratorio inferior, neurológico, cardiovascular o choque anafiláctico.

El número de reacciones anafilácticas se redujeron en ambos grupos en la prueba de exposición oral final respecto a la inicial, sin hallarse diferencias estadísticamente significativas. En el grupo activo se pasó de cinco reacciones anafilácticas a una y en el placebo de cuatro a una.

2.3.1. Número de grupos de síntomas/signos afectos

No se encontraron diferencias significativas, ni en la prueba de exposición oral inicial ni final, entre el número de grupos de síntomas/signos presentes por paciente entre ambos grupos de estudio. En la prueba de exposición oral final la mediana, tanto por intención de tratar como por protocolo, en los pacientes del tratamiento activo fue de un grupo de síntomas por paciente, mientras que en los del placebo fue de un grupo y medio de síntomas por paciente. (Tabla 35)

Tabla 35.
Número de grupos de signos/síntomas afectos en las exposiciones orales.

INTENCIÓN DE TRATAR	ACTIVO (N=12)	PLACEBO (N=10)	P-VALOR
Exposición inicial mediana [RIC] (mín-máx)	2 [1,0] (1-4)	1,5 [1,3] (1-3)	0,103
Exposición final mediana [RIC] (mín-máx)	1 [0,8] (0-2)	1,5 [1,3] (0-3)	0,192
POR PROTOCOLO	ACTIVO (N=10)	PLACEBO (N=10)	P-VALOR
Exposición inicial mediana [RIC] (mín-máx)	2,5 [1,0] (1-4)	1,5 [1,3] (1-3)	0,052
Exposición final mediana [RIC] (mín-máx)	1 [1,3] (0-2)	1,5 [1,3] (0-3)	0,216

N: número de pacientes. RIC: rango intercuartílico. Mín: valor mínimo. Máx: valor máximo.

2.3.2. Cambio en el número de grupos de síntomas/signos afectos en la prueba de exposición oral respecto a la inicial

Al analizar la reducción del número de grupos de síntomas/signos afectados en la prueba de exposición oral respecto a la inicial se encontraron diferencias estadísticamente significativas, objetivándose una mayor reducción de grupos de síntomas en el grupo activo frente al placebo. (Tabla 36)

Tabla 36.
Reducción del número de grupos de síntomas/signos observados en la prueba de exposición oral respecto a la inicial.

INTENCIÓN DE TRATAR	ACTIVO (N=12)	PLACEBO (N=10)	P-VALOR
Reducción del nº de grupos de síntomas mediana [RIC] (mín-máx)	1,0 [1,8] (0-4)	0,0 [1,3] (-1-3)	0,029
POR PROTOCOLO	ACTIVO (N=10)	PLACEBO (N=10)	P-VALOR
Reducción del nº de grupos de síntomas mediana [RIC] (mín-máx)	1,5 [1,3] (0-4)	0,0 [1,3] (-1-3)	0,021

N: número de pacientes. RIC: rango intercuartílico. Mín: valor mínimo. Máx: valor máximo.

2.4. CLASIFICACIÓN DE LA GRAVEDAD DE LA REACCIÓN DURANTE LAS PRUEBAS DE EXPOSICIÓN ORAL

En la prueba de exposición oral inicial las reacciones moderadas y graves fueron las más frecuentes tanto en el grupo de tratamiento activo (50% y 41,7% respectivamente) como en el placebo (40% en ambas). Las reacciones leves fueron las menos frecuentes, ocurriendo en el 8,3% del grupo activo y el 20% del placebo. No se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en la clasificación de gravedad entre ambos grupos de tratamiento.

En la prueba de exposición oral final la reacción más frecuente fue la clasificada como moderada, tanto en el grupo activo (55,6%) como en el placebo (88,9%). Las reacciones graves ocurrieron en el 11,1% de cada grupo de tratamiento y las leves en el 33,3% del grupo activo, sin observarse ninguna reacción leve en el grupo placebo. No se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en la clasificación de gravedad entre ambos grupos de tratamiento.

2.4.1. Cambios en la clasificación de la gravedad de la reacción durante la prueba de exposición oral final respecto a la inicial

En ambos grupos de tratamiento los pacientes mejoraron en la gravedad de la reacción presentada (tuvieron una reacción más leve, o no tuvieron reacción) en la prueba de exposición oral final respecto a la inicial. Aunque mejoraron más pacientes del grupo activo que del grupo placebo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa. (Tabla 37)

Tabla 37.
Cambios en la clasificación de la gravedad de las reacciones en la prueba de exposición oral final respecto a la inicial.

INTENCIÓN DE TRATAR	ACTIVO (N=12) N (%)	PLACEBO (N=10) N (%)	P-VALOR
Mejoría	7 (58,3)	4 (40,0)	0,392
Empeoramiento	1 (8,3)	2 (20,0)	0,571
POR PROTOCOLO	ACTIVO (N=10) N (%)	PLACEBO (N=10) N (%)	P-VALOR
Mejoría	6 (60,0)	4 (40,0)	0,371
Empeoramiento	0	2 (20,0)	0,474

N: número de pacientes. %: porcentaje de pacientes. Mejoría: pasar de reacción grave o moderada en provocación inicial a leve o moderada, o leve respectivamente. Empeoramiento: pasar de reacción leve o moderada en provocación inicial a moderada o grave, o grave respectivamente.

3. SEGURIDAD DEL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

3.1. EFECTOS ADVERSOS LOCALES

Las reacciones locales fueron los efectos adversos más frecuentemente observados en los pacientes, tanto en el total de la población a estudio (77,3%), como en el grupo activo (91,7%). En el grupo placebo el mismo porcentaje de pacientes (60%) presentó efectos adversos locales que sistémicos.

Sólo un paciente del grupo activo no presentó ningún efecto adverso local, mientras que en el grupo placebo fueron cuatro los pacientes que no tuvieron ninguno. Aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de tratamiento en la frecuencia de presentación de efectos adversos locales, sí que fueron más frecuentes en el activo (91,7%) respecto al placebo (60%), observándose una tendencia. (Tabla 38)

3.1.1. Clasificación de los efectos adversos locales

Por orden de frecuencia los efectos adversos más presentados en ambos grupos fueron: prurito, eritema, eccema y habones.

Aunque los cuatro tipos de efectos adversos locales fueron más frecuentes en el grupo activo que en el grupo placebo, en el caso del eccema y los habones esta diferencia fue estadísticamente significativa. (Tabla 38)

De los 11 pacientes del grupo activo que tuvieron efectos adversos locales, en seis (54,5%) se consideraron leves y en cinco (45,5%) moderados. En el grupo placebo, en todos los pacientes se consideraron leves.

En la imagen 10 se observan lesiones habonosas en la zona de administración del parche, que aparecieron de forma inmediata tras su aplicación. En la imagen 11 se pueden apreciar lesiones eccematosas en la zona donde se aplicó el parche en los días previos.

Tabla 38.
Pacientes que presentan efectos adversos locales
en ambos grupos de tratamiento.

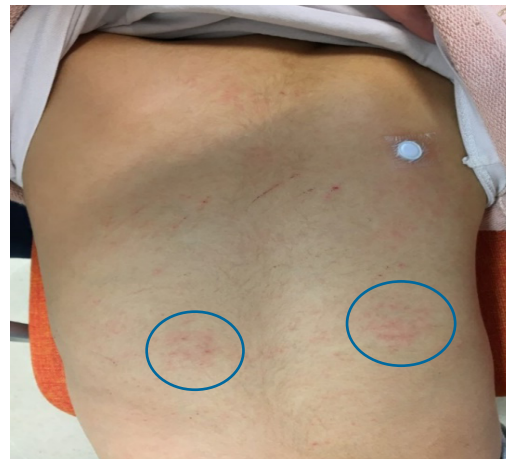
TIPOS DE EFECTOS ADVERSOS LOCALES	TOTAL (N=22) N* (%)	ACTIVO (N=12) N* (%)	PLACEBO (N=10) N* (%)	P-VALOR
Total	17 (77,3)	11 (91,7)	6 (60,0)	0,096
Prurito	14 (63,6)	10 (83,3)	4 (40,0)	0,074
Eritema	12 (54,5)	9 (75,0)	3 (30,0)	0,084
Eccema	10 (45,5)	8 (66,7)	2 (20,0)	0,043
Habones	5 (22,7)	5 (41,7)	0	0,040

*N: número de pacientes. *: cada paciente puede presentar más de un efecto adverso. %: porcentaje de pacientes. P-valor muestra la diferencia entre activo y placebo.*

Imagen 10.
Habones en zona de aplicación.



Imagen 11.
Eccemas en zona de aplicación.



3.1.2. Tratamiento de los efectos adversos locales

El 41,2% del total de los pacientes que presentaron efectos adversos locales precisaron tratamiento con antihistamínico oral y/o corticoide tópico. De los 11 pacientes del grupo activo que presentaron efectos adversos locales cinco (45,5%)

precisaron tratamiento, tres utilizaron corticoide tópico y dos corticoide tópico y antihistamínico oral. Respecto al grupo placebo, de los seis pacientes que presentaron efectos adversos locales sólo dos (33,3%) precisaron tratamiento, uno utilizó corticoide tópico y uno antihistamínico oral. Ninguno de los pacientes del grupo activo o placebo que presentó sólo prurito precisó tratamiento.

3.1.3. Efectos adversos locales asociados con el tratamiento

En el caso de los efectos adversos locales, tanto en el grupo activo como en el placebo, todos ellos se consideraron asociados con el tratamiento y se clasificaron como relacionados.

3.2. EFECTOS ADVERSOS SISTÉMICOS

En el total de la muestra, el 68,2% de los pacientes presentaron algún efecto adverso sistémico. Más de la mitad de los pacientes de cada grupo presentaron algún efecto adverso sistémico durante el tratamiento, nueve (75%) del grupo activo y seis (60%) del grupo placebo, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. (Tabla 16)

3.2.1. Clasificación de los efectos adversos sistémicos

Se contabilizaron los efectos adversos sistémicos por número de pacientes que los presentaron, siendo los más frecuentes los pacientes que presentaron efectos adversos respiratorios, seguidos de infecciosos y cutáneos. Todos los efectos adversos sistémicos cutáneos ocurrieron en el grupo activo, afectando al 50% de los pacientes y ninguno en el grupo placebo. Esta diferencia entre ambos grupos de tratamiento fue estadísticamente significativa. Respecto al porcentaje de pacientes que reportaron el resto de tipos de efectos adversos sistémicos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de tratamiento. (Tabla 39)

Tabla 39.
Pacientes que presentan efectos adversos sistémicos
en ambos grupos de tratamiento.

EFFECTOS ADVERSOS SISTÉMICOS	TOTAL (N=22) N* (%)	ACTIVO (N=12) N* (%)	PLACEBO (N=10) N* (%)	P-VALOR
Total general	15 (68,2)	9 (75,0)	6 (60,0)	0,271
Cutáneos				
Total	6 (27,3)	6 (50,0)	0	0,015
Prurito	4 (18,2)	4 (33,3)	0	0,096
Eccema	4 (18,2)	4 (33,3)	0	0,096
Urticaria	4 (18,2)	4 (33,3)	0	0,096
Angioedema	1 (4,5)	1 (8,3)	0	1,000
Respiratorios				
Total	12 (54,5)	6 (50,0)	6 (60,0)	0,691
Rinitis	9 (40,9)	5 (41,7)	4 (40,0)	1,000
Conjuntivitis	9 (40,9)	4 (33,3)	5 (50,0)	0,666
Tos	2 (9,1)	1 (8,3)	1 (10,0)	1,000
Broncoespasmo	2 (9,1)	0	2 (20,0)	0,390
Digestivos				
Diarrea	1 (4,5)	1 (8,3)	0	1,000
Infecciones				
Respiratorias	7 (31,8)	6 (50,0)	1 (10,0)	0,074
Ana laxia				
	0	0	0	

N:* número de pacientes. ***: cada paciente puede presentar más de un efecto adverso. *%*: porcentaje de pacientes. *P*-valor muestra diferencias entre grupos activo y placebo.

Ningún paciente, ni del grupo activo ni del placebo, presentó una reacción anafiláctica durante la duración del tratamiento.

De los 15 pacientes que tuvieron un efecto adverso sistémico, en ninguno de ellos se clasificó como grave. En el grupo activo, de los nueve pacientes que los presentaron, en seis pacientes (66,7%) se clasificaron como moderados y en tres (33,3%) como leves. En el grupo placebo cinco pacientes (83,3%) tuvieron reacciones clasificadas como moderadas y uno (16,7%) como leve.

3.2.2. Tratamiento de los efectos adversos sistémicos

3.2.2.1. Cutáneos

Los seis pacientes, todos del grupo activo, que presentaron efectos adversos sistémicos cutáneos precisaron tratamiento. La medicación más utilizada fue el antihistamínico oral que se administró en los seis pacientes. Cuatro pacientes tuvieron que añadir un corticoide tópico y el paciente que presentó el angioedema labial un corticoide oral.

3.2.2.2. Respiratorios

De los 12 pacientes que presentaron efectos adversos respiratorios, diez (83,3%) precisaron tratamiento, cinco de cada grupo de tratamiento.

Dentro de los diez pacientes que presentaron clínica de rinoconjuntivitis, dos pacientes no precisaron tratamiento, uno de cada grupo de estudio, debido a que la clínica fue muy leve. El resto de los ocho pacientes precisaron tratamiento con antihistamínico oral y en cinco de ellos además colirio.

Los cuatro pacientes que presentaron clínica bronquial, uno del grupo activo y tres del grupo placebo, precisaron tratamiento con inhaladores, uno con broncodilatador de acción corta, dos con broncodilatador de acción corta y corticoide inhalado y el cuarto sólo corticoide inhalado.

3.2.2.3. Digestivos

El único paciente, del grupo activo, que presentó un efecto adverso digestivo no precisó ninguna medicación para controlarlo.

3.2.2.4. Infecciosos

De los siete pacientes que presentaron un proceso infeccioso en seis se les prescribió un antibiótico, y en uno de ellos además se le añadió paracetamol para controlar los síntomas. El único paciente que no precisó antibiótico, del grupo activo, fue tratado con ibuprofeno.

3.2.3. Efectos adversos sistémicos asociados con el tratamiento

En la tabla 40 se muestra el número de pacientes que presentaron cada tipo de efecto adverso sistémico asociado con el tratamiento epicutáneo.

Del total de los 15 pacientes que presentaron efectos adversos sistémicos sólo en tres (20%), todos ellos del grupo activo, se relacionaron con el tratamiento. Uno de los tres pacientes del grupo activo presentó efectos adversos respiratorios y cutáneos.

Tabla 40.
Pacientes con efectos adversos sistémicos y causalidad con el tratamiento epicutáneo.

PACIENTES CON EFECTOS ADVERSOS SISTÉMICOS	ACTIVO ASOCIADO CON EPIT		PLACEBO ASOCIADO CON EPIT	
	SÍ	NO	SÍ	NO
Cutáneos n (%)	3 (50,0)	3 (50,0)	-	-
Respiratorios n (%)	1 (8,3)	5 (41,7)	0	6 (50,0)
Digestivos n (%)	0	1 (100,0)	-	-
Infecciosos n (%)	0	6 (85,7)	0	1 (14,3)

N: número de pacientes. %: porcentaje de pacientes. EPIT: inmunoterapia epicutánea. Asociado con EPIT: efectos adversos probables, posibles o relacionados con inmunoterapia epicutánea.

A continuación, se detallan los efectos adversos posibles, probables o relacionados, y que se analizaron como asociados con el tratamiento epicutáneo.

3.2.3.1. Efectos adversos cutáneos

Seis pacientes, todos del grupo activo, presentaron reacciones cutáneas a distancia de la zona de aplicación del parche. En tres de ellos se clasificaron como asociadas con el tratamiento. Cada uno de estos tres pacientes presentó reacciones de prurito, urticaria y eccema.

En dos pacientes, de 11 y 12 años de edad, las urticarias se produjeron tras desprenderse el parche y rozar el extracto activo con otras zonas de la espalda. En el tercer paciente, de ocho años de edad, la urticaria en la espalda aparentemente no tuvo que ver con el desprendimiento del parche, aunque era un paciente que presentaba mucho prurito en la zona de aplicación y se rascaba de forma muy frecuente, habiéndosele despegado alguna vez por dicho motivo.

Imagen 12.

Urticaria: lesiones habonosas a distancia de la zona de aplicación.



Coincidiendo con los episodios de lesiones habonosas en los tres pacientes, presentaron lesiones eccematosas a distancia, dos pacientes en la espalda y uno en

exuras de extremidades, y además prurito sin relación con la zona de las lesiones eczematosas ni urticariales, siempre a distancia de la zona de aplicación del parche. Todos los efectos adversos se clasificaron en la categoría de probable o relacionado.

En la imagen 12, se pueden observar varias lesiones habonosas a distancia del lugar de la administración del parche, en la espalda de uno de los pacientes del grupo activo.

3.2.3.2. Efectos adversos respiratorios

RINOCONJUNTIVITIS

Diez pacientes, cinco del grupo activo y cinco del grupo placebo, presentaron síntomas de rinitis y/o conjuntivitis durante el tratamiento epicutáneo. Sólo en uno de ellos, del grupo activo, los síntomas se relacionaron con el uso del parche.

El paciente en el que se relacionó el efecto adverso con el tratamiento presentó entre cinco y seis episodios, en días no consecutivos y durante un periodo de dos semanas, de rinorrea acuosa y congestión nasal a los 30 minutos de aplicarse el parche por las noches, que cedían con antihistamínico. El efecto adverso en este paciente se consideró posible en relación con el tratamiento a estudio.

3.2.4. Efectos adversos no asociados con el tratamiento

En la tabla 40 se muestra el número de pacientes que presentó cada tipo de efecto adverso sistémico no asociado con el tratamiento epicutáneo.

A continuación, se detallan los efectos adversos clasificados como improbables o no relacionados y que se analizaron como no asociados con el tratamiento epicutáneo.

3.2.4.1. Efectos adversos cutáneos

En tres de los seis pacientes del grupo activo que presentaron reacciones

cutáneas a distancia de la zona de aplicación del parche se clasificaron como no asociadas con el tratamiento.

Un paciente de siete años de edad, presentó un episodio de angioedema labial a los pocos días de haber tenido un proceso infeccioso respiratorio febril que le había producido una queilitis. En el momento del episodio estaba comiendo unos maíces salados. Se trató con antihistamínico y corticoide oral con mejoría. Llevaba más de ocho horas con el parche puesto. Se consideró el episodio improbable.

El segundo paciente, de nueve años de edad, presentó un episodio de urticaria generalizada durante un proceso infeccioso febril, faringitis, que estaba tratando con ibuprofeno. En el momento de inicio de las lesiones habonosas llevaba más de seis horas con el parche aplicado, la clínica cutánea mejoró al disminuir la fiebre y persistió tres días a pesar de haber retirado el parche temporalmente. Se consideró el episodio improbable.

El tercer paciente, de seis años de edad, presentó varios episodios de prurito cutáneo y un episodio de lesiones eccematosas en muñecas a las horas de la aplicación del parche. Este paciente presentaba dermatitis atópica con brotes habituales. A pesar de no suspender el parche la clínica fue mejorando con su tratamiento con antihistamínico y corticoide tópico. Se consideraron los episodios improbables.

3.2.4.2. Efectos adversos respiratorios

RINOCONJUNTIVITIS

En nueve pacientes, cuatro del grupo activo y cinco del grupo placebo, del total de los diez que presentaron rinitis y/o conjuntivitis durante el tratamiento epicutáneo, se clasificó este efecto adverso como no asociado a la terapia en estudio.

De esos nueve pacientes, seis (dos del grupo activo y cuatro del grupo placebo) tenían el diagnóstico previo de rinoconjuntivitis por sensibilización a pólenes. Esos seis pacientes presentaron síntomas de rinitis y/o conjuntivitis en la misma época que

años previos y con características similares a lo largo de toda la temporada de polinización sin exacerbación de los síntomas de forma inmediata al aplicarse el parche. Una vez el nivel de polen en el ambiente se redujo los síntomas desaparecieron. En estos seis casos el efecto adverso se consideró no relacionado con el tratamiento.

Los tres pacientes, dos del grupo activo y uno del grupo placebo, que no tenían diagnóstico previo de rinoconjuntivitis sí que presentaban sensibilización al polen que polinizaba en el momento de aparición de los síntomas. La clínica no tenía una secuencia temporal clara con la aplicación del parche, empeoraba al aire libre y los síntomas disminuyeron al bajar el nivel de polen ambiental. En estos tres casos el efecto adverso se consideró improbable.

SÍNTOMAS BRONQUIALES

Cuatro pacientes, uno del grupo activo y tres del placebo, presentaron clínica bronquial durante el tratamiento con los parches. De los cuatro pacientes, dos presentaron tos como único síntoma y los otros dos tos, disnea y sibilancias.

En dos pacientes, del grupo placebo, la clínica bronquial se asoció a rinoconjuntivitis en el mes de mayo coincidiendo con la polinización del polen al cual eran alérgicos. Ambos estaban diagnosticados de asma bronquial y habían presentado síntomas similares en primaveras previas. El efecto adverso se consideró no relacionado.

El tercer paciente, del grupo activo, presentó episodio de tos persistente en el mes de junio. No tenía diagnóstico previo de alergia al polen, pero sí de sibilancias de inicio tardío y había presentado previamente episodios similares de tos persistente a lo largo del año no siempre en relación con infecciones. El efecto adverso se consideró improbable.

En el último paciente, del grupo placebo, en el contexto de una infección respiratoria febril presentó tos, disnea y sibilancias, sin relación con el momento de aplicación del parche. El paciente no tenía antecedentes de asma bronquial. El efecto adverso se consideró improbable.

3.2.4.3. Efectos adversos digestivos

Sólo un paciente del grupo activo presentó síntomas digestivos. Episodio autolimitado de diarrea tras la comida sin relación temporal con la aplicación del parche. El efecto adverso se consideró improbable.

3.2.4.4. Efectos adversos infecciosos

Durante el tiempo de duración del tratamiento se produjeron siete procesos infecciosos, seis en el grupo activo y uno en el grupo placebo. Todos los procesos fueron valorados por el pediatra de atención primaria y sin relación temporal inmediata con la aplicación del parche. En todos ellos el proceso infeccioso duró unos días. Todas las infecciones se consideraron efectos adversos no relacionados con el tratamiento del parche.

3.3. EFECTOS ADVERSOS QUE SUPONEN LA INTERRUPCIÓN DEL TRATAMIENTO

3.3.1. Interrupción temporal

3.3.1.1. Efectos adversos locales

Sólo tres pacientes (17,6%), todos del grupo activo, de los 17 totales que presentaron reacciones cutáneas locales tuvieron que interrumpir de forma temporal la aplicación de los parches mientras remitían las lesiones, sobre todo de eccema, en la zona de aplicación del parche. La interrupción no superó los tres días en ninguno de los pacientes.

3.3.1.2. Efectos adversos sistémicos

CUTÁNEOS

De los seis pacientes que presentaron efectos adversos sistémicos cutáneos, cinco (83,3%) tuvieron que suspender temporalmente la aplicación del parche mien-

tras mejoraba la reacción cutánea. La interrupción no superó los cuatro días en ninguno de los pacientes.

RESPIRATORIOS

Ninguno de los pacientes que presentaron efectos adversos respiratorios tuvieron que suspender temporalmente la aplicación del parche mientras presentaban los síntomas.

DIGESTIVOS

El único paciente que presentó un efecto adverso digestivo no tuvo que suspender de forma temporal el tratamiento debido a la clínica digestiva.

INFECCIOSOS

Ninguno de los pacientes que presentaron una infección durante el tratamiento con los parches tuvieron que suspenderlo de forma temporal debido a dicho efecto adverso.

3.3.2. Interrupción de nitiva

Del total de la muestra, sólo un paciente (4,5%), perteneciente al grupo activo, tuvo que discontinuar de forma de nitiva el tratamiento con los parches debido a las reacciones locales repetidas que interferían de forma importante en su actividad diaria.

Estando en la fase de escalada de la dosis de 500 µg, en el periodo de cuatro horas de aplicación diarias inicia prurito intenso con eccema y lesiones microhabonosas en la espalda a distancia de las zonas de aplicación del parche. Tras tratar el efecto adverso y suspender de forma temporal el tratamiento, se reinicia en el hospital de día el parche con la dosis de 250 µg una vez el paciente está asintomático. Mejora la tolerancia inicial, aunque de forma progresiva aparecen reacciones locales que van en aumento, motivo por el que no se puede llegar a las 24 horas de aplicación y se

mantiene con 8-12 horas diarias de aplicación nocturna. Durante el tiempo de aplicación nocturna presenta unos cinco-seis episodios, en días no consecutivos y durante un periodo de dos semanas, de rinorrea acuosa y congestión nasal a los 30 minutos de aplicarse el parche, que cedían con antihistamínico. Al no ocurrirle todos los días y coincidir con la época de polinización del polen al cual es alérgico el paciente, no se ponen en contacto con el personal médico del estudio y siguen aplicando el parche sin presentar nuevas reacciones nasales en las siguientes aplicaciones. En ese periodo empeoran las reacciones locales e inter fieren en su actividad habitual. Tras comunicar las reacciones al personal médico del estudio, se suspende temporalmente el tratamiento y se tratan las lesiones cutáneas hasta su total resolución. Posteriormente se intenta administrar en el hospital de día el parche con la dosis de menor concentración, 100 µg, presentando de forma inmediata prurito muy intenso y aparición de lesiones habonosas locales. Finalmente se decide la retirada definitiva de los parches.

4. CUMPLIMIENTO DEL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

4.1. CUMPLIMIENTO TERAPÉUTICO

De los 22 pacientes a los que se le administró el tratamiento con parches, 20 (90,9%) lo cumplieron correctamente puesto que finalizaron los seis meses de terapia epicutánea y los olvidos en la administración del parche fueron menores o iguales de una vez a la semana.

Dos pacientes, los dos del grupo activo, fueron los únicos pacientes que no cumplieron correctamente con el tratamiento:

Un paciente tuvo que suspender de forma definitiva la administración del parche, a los tres meses del inicio del tratamiento, por reacciones locales repetidas que interferían en su actividad diaria

El segundo paciente empezó a presentar olvidos frecuentes (> 1 vez/semana) en la administración del parche a partir del cuarto mes de tratamiento. Coincidiendo con las vacaciones de verano dejó de ponerse el parche.

4.2. TIEMPO DIARIO DE APLICACIÓN

Los pacientes debían llevar el parche aplicado a la espalda el mayor tiempo posible, recomendándose alcanzar las 24 horas diarias, pero intentando siempre un mínimo de 12 horas al día.

El porcentaje de pacientes que mantuvieron el parche aplicado durante 24 horas a lo largo de todo el tratamiento fue significativamente mayor en el grupo placebo (80%) que en el grupo activo (25%). (Tabla 41)

Durante los tres primeros meses de tratamiento no se observaron diferencias

significativas entre activo y placebo en cuanto al número de pacientes que se aplicaban el parche las 24 horas. (Tabla 42)

Tabla 41.
Pacientes que se aplican el parche 24 horas a lo largo del tratamiento.

CUMPLIMIENTO TIEMPO APLICACIÓN 24H DURANTE EL TRATAMIENTO	TOTAL (N=22) N (%)	ACTIVO (N=12) N (%)	PLACEBO (N=10) N (%)	P-VALOR
Sí	12 (54,5)	3 (25,0)	8 (80,0)	0,014
No	10 (45,5)	9 (75,0)	2 (20,0)	

N: número de pacientes. %: porcentaje de pacientes. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo.

En los tres últimos meses de tratamiento dos pacientes del grupo activo dejaron de ponerse el parche, uno por olvidos y otro tras suspenderle definitivamente el tratamiento por reacciones locales repetidas. De los diez pacientes restantes del grupo activo menos de la mitad (40%) mantenían el parche aplicado durante 24 horas, mientras que en el placebo el 80% lo mantenía aplicado las 24 horas, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa, sí que se observó una tendencia. (Tabla 42)

Tabla 42.
Evolución del tiempo de aplicación del parche en los meses de tratamiento.

PRIMEROS 3 MESES	TOTAL (N=22) N (%)	ACTIVO (N=12) N (%)	PLACEBO (N=10) N (%)	P-VALOR
24 horas	18 (81,8)	10 (83,3)	8 (80,0)	0,286
12 horas	4 (18,2)	2 (16,7%)	2 (20,0)	
ÚLTIMOS TRES MESES	TOTAL (N=20) N (%)	ACTIVO (N=10) N (%)	PLACEBO (N=10) N (%)	P-VALOR
24 horas	12 (60,0)	4 (40,0)	8 (80,0)	0,075
12 horas	8 (40,0)	6 (60,0)	2 (20,0)	

N: número de pacientes. %: porcentaje de pacientes. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo.

Las principales razones por las que se veía alterado el tiempo de aplicación del parche fueron las siguientes:

- **Efectos adversos:** Sólo se tuvo que disminuir el tiempo de aplicación del parche por efectos adversos locales repetidos en un paciente del grupo activo.
- **Desprendimiento del parche:** Cuatro pacientes tuvieron que disminuir el tiempo de aplicación a 12 horas, que pasaron a aplicar por la tarde-noche, porque se les despegaba a lo largo del día. Tres del grupo activo y uno del placebo.
- **Incomodidad al verle otros compañeros:** Un paciente del grupo activo se sentía mal y le daba vergüenza que le vieran el resto de los compañeros con el parche, por lo que se decidió que se lo pusiera 12 horas al día una vez que llegara a casa del colegio.
- **Vacaciones de verano:** seis pacientes, cinco del grupo activo y uno del placebo, pasaron a ponérselo durante 12 horas durante al menos dos meses de verano y sobre todo durante la estancia en la playa por petición de las familias. Se lo aplicaban desde el final de la tarde y toda la noche.

4.3. DESPRENDIMIENTO DEL PARCHES

Durante el estudio el parche se les despegó en al menos una ocasión a 15 pacientes, siete (58,3%) del grupo activo y ocho (80%) del placebo. Sin encontrarse diferencias significativas entre ambos grupos.

En seis de esos 15 pacientes, el parche se despegaba de forma más frecuente, al menos en cuatro ocasiones. Tres del grupo activo y tres del grupo placebo. En dos de los pacientes del grupo activo se despegaba por calor y/o sudor y en el tercero por prurito en la zona del parche y con el rascado continuo se despegaba el parche. En uno de los pacientes al que se le desprendía mucho el parche, la madre le cambió

la zona de aplicación a la zona superior de la cara externa del brazo, dejando de tener más episodios de desprendimiento.

En los tres pacientes del grupo placebo, en uno se despegaba por calor y/o sudor, en otro durante su estancia en la playa en vacaciones y en el tercero cuando realizaba deporte, al sudar.

De los 22 pacientes, la mitad (cinco del grupo activo y seis del placebo) iban a clases de natación todas las semanas y sólo en dos de ellos (uno del grupo activo y uno del grupo placebo) se les despegaba el parche en ocasiones en relación con este deporte.

4.4. CONTINUIDAD EN LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO

La continuidad en la administración del tratamiento fue alta, realizando el tratamiento a diario o como mucho con olvidos de una o dos veces al mes en más del 80% de los pacientes. Sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre el grupo activo o placebo. (Tabla 43)

Tabla 43.
Olvidos en la aplicación del parche.

OLVIDOS	TOTAL (N=22) N (%)	ACTIVO (N=12) N (%)	PLACEBO (N=10) N (%)	P-VALOR
Nunca o 1 ó 2 veces/mes	18 (81,8)	11 (91,7)	7 (70,0)	0,394
1 vez/sem o >1 vez/sem	4 (18,2)	1 (8,3)	3 (30,0)	

N: número de pacientes. %: porcentaje de pacientes. Sem: semana. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo.

A partir del cuarto mes de tratamiento los padres de un paciente del grupo activo empezaron a tener olvidos cada vez más frecuentes (> 1 vez a la semana) al aplicarle el parche. A partir del quinto mes de tratamiento coincidiendo con las vaca-

ciones de verano dejaron de ponérselo. Este paciente del grupo activo fue el único de todo el estudio que presentó olvidos mayores a una vez a la semana.

Además de los olvidos otros dos motivos influyeron de forma temporal en la administración del tratamiento:

- **Problemas en la preparación del parche:** Cinco de los pacientes, tres del grupo activo y dos del grupo placebo, estuvieron varios días sin ponerse el parche debido a estancia en campamentos en los cuales no había ningún adulto que pudiera administrarles el parche. Cada uno de estos pacientes estuvo entre cinco y siete días sin aplicarse el parche, excepto uno del grupo placebo que estuvo en una ocasión 15 días sin aplicárselo por estancia en un campamento de verano.

- **Efectos adversos:** Ocho pacientes tuvieron que discontinuar temporalmente el tratamiento con los parches por presentar efectos adversos y no volvieron a reiniciarlo hasta la resolución de los síntomas. Tres pacientes con efectos adversos locales y cinco pacientes con efectos adversos sistémicos. El paciente que menos tiempo lo interrumpió fue un día y el que más cuatro días.

Salvo los dos pacientes que no cumplieron el tratamiento, ningún paciente estuvo en total más de 30 días sin ponerse el parche a lo largo de todo el periodo de seis meses. Lo que supone una continuidad del tratamiento de al menos el 83,3% de los días posibles de terapia epicutánea.

5. PERCEPCIÓN Y SATISFACCIÓN DEL TRATAMIENTO POR PADRES Y PACIENTES

Todos los padres contestaron a todas las preguntas de los cuestionarios, pero de los 13 pacientes que por edad podían responderlas, seis del grupo activo y siete del grupo placebo, en alguna pregunta un paciente del grupo activo no contestó.

5.1. PROBLEMAS CON EL TRATAMIENTO A LO LARGO DEL ESTUDIO

5.1.1. Cuestionario realizado a padres

Más padres del grupo activo (33,3%) respondieron creer que sus hijos habían tenido algún problema con los parches a lo largo del tratamiento en comparación con los padres del grupo placebo (10%). (Tabla 44)

Tabla 44.
Respuestas cuestionarios padres: problemas con el tratamiento.

PROBLEMAS CUESTIONARIO PADRES	TOTAL (N=22) N (%)	ACTIVO (N=12) N (%)	PLACEBO (N=10) N (%)
Sí	5 (22,7)	4 (33,3)	1 (10,0)
No	17 (77,3)	8 (66,7)	9 (90,0)

N: número de pacientes. %: porcentaje de pacientes.

De los que respondieron de forma positiva a la pregunta, un padre del grupo activo creía que esos problemas habían afectado muchísimo a su hijo y el resto de padres creían que algo o poco.

5.1.2. Cuestionario realizado a pacientes

De los 13 pacientes que por edad podían contestar al cuestionario, la mayor parte de los pacientes del grupo activo (83,3%) respondieron haber tenido algún proble-

ma con el parche a lo largo del tratamiento y sin embargo en el grupo placebo fue sólo el 14,3%. (Tabla 45)

Tabla 45.
Respuestas cuestionarios pacientes: problemas con el tratamiento

PROBLEMAS CUESTIONARIO PACIENTES	TOTAL (N=13) N (%)	ACTIVO (N=6) N (%)	PLACEBO (N=7) N (%)
Sí	6 (46,2)	5 (83,3)	1 (14,3)
No	7 (53,8)	1 (16,7)	6 (85,7)

N: número de pacientes. %: porcentaje de pacientes.

De los cinco pacientes del grupo activo que re rieron problemas con los parches, cuatro habían presentado algún efecto adverso sistémico cutáneo y uno de esos cuatro tuvo que suspender el tratamiento por reacciones locales repetidas, este paciente contestó que los problemas con el parche le habían molestado mucho y los cuatro pacientes anteriores contestaron que les molestó algo.

El paciente del placebo que re rió problemas, tuvo muchas di cultades a lo largo de todo el tratamiento al retirar el parche porque se le pegaba en el vello que tenía en la espalda y contestó al cuestionario diciendo que ese problema le había molestado muchísimo.

5.2. INTERFERENCIA EN ACTIVIDADES DIARIAS HABITUALES

En el cuestionario de satisfacción se incluyeron dos preguntas respecto a la interferencia del uso del parche en relación con el deporte y la concentración en clase.

5.2.1. Cuestionario realizado a padres

Cuatro padres (18,2%) re rieron haber notado que el uso de los parches había interferido en estas actividades de sus hijos, uno lo refería con el deporte y los otros tres con la concentración en clase.

Sólo un padre del grupo activo creyó que, debido a estos problemas, a su hijo le había disgustado muchísimo llevar el parche. Al resto de padres les pareció que les había disgustado llevarlo algo, muy poco o nada.

5.2.2. Cuestionario realizado a pacientes

De los 13 pacientes encuestados, sólo tres (23,1%), todos del grupo activo, refirieron problemas en estas dos situaciones. Uno tanto al realizar deporte como en la concentración en clase, otro sólo al realizar deporte y el tercero en la concentración en clase.

A ningún paciente le disgustó mucho o muchísimo llevar el parche por estos problemas, sólo un paciente del grupo activo refirió que le disgustó algo y el resto respondió muy poco o nada.

5.3. OPINIÓN SOBRE EL USO Y ORGANIZACIÓN CON EL PARCHÉ

5.3.1. Cuestionario realizado a padres

A ninguno de los padres encuestados les pareció que a sus hijos les era difícil usar el parche. La mayoría (86,5%) de los padres, tanto del grupo activo (75%) como del placebo (100%), opinaron que fue fácil o muy fácil.

Sólo un padre del grupo activo pensó que a su hijo le había sido difícil organizarse para llevar puesto el parche, el resto de padres del activo como todos los del placebo opinaron que la organización para llevarlo fue fácil o muy fácil.

5.3.2. Cuestionario realizado a pacientes

De los 13 pacientes encuestados, un paciente del grupo activo no contestó a estas preguntas sobre el uso y la organización con el parche.

A un paciente del grupo activo le pareció difícil el uso del parche, fue el mismo paciente al que se le tuvo que suspender el tratamiento por efectos adversos. Un paciente del grupo placebo re rió que el uso del parche le pareció sumamente difícil, este paciente fue el único del grupo placebo que había referido problemas con el parche en la primera pregunta del cuestionario.

A la mayoría de los pacientes del grupo activo (66,7%) y del grupo placebo (57,1%) les pareció fácil o muy fácil el uso del parche.

En cuanto a la organización para llevarlo puesto, a la mayoría del grupo activo (80%) y del grupo placebo (71,4%) les pareció fácil, muy fácil o sumamente fácil y sólo un paciente del grupo activo y dos del grupo placebo contestaron que les había parecido difícil y algo fácil respectivamente.

5.4. OPINIÓN SOBRE EL TRATAMIENTO Y SU ALERGIA

5.4.1. Cuestionario realizado a padres

Al analizar el estudio la mayoría de los padres opinaban que sus hijos creían o estaban seguros de que el tratamiento probado era bueno para su alergia. (Tabla 46)

Tabla 46.
Respuestas cuestionarios padres: opinión tratamiento.

BUENO PARA ALERGIA CUESTIONARIO PADRES	TOTAL (N=22) N (%)	ACTIVO (N=12) N (%)	PLACEBO (N=10) N (%)
Puede	3 (13,6)	2 (16,7)	1 (10,0)
Creo que sí	15 (68,2)	6 (50,0)	9 (90,0)
Seguro que si	4 (18,2)	4 (33,3)	0

N: número de pacientes. %: porcentaje de pacientes.

A pesar de los problemas que el parche les había podido dar, la mayoría de padres del grupo activo (66,7%) y del grupo placebo (80%) opinaban que sus hijos

creían que el tratamiento era bueno para su alergia. Sólo en dos padres, uno de cada grupo, respondieron a la pregunta con puede que sea bueno para la alergia a pesar de los problemas.

5.4.2. Cuestionario realizado a pacientes

Al analizar el estudio los niños que respondieron a esta pregunta, la mayoría creía o estaban seguros de que el tratamiento probado era bueno para su alergia tanto en el grupo activo como en el placebo. (Tabla 47)

Tabla 47.
Respuestas cuestionarios pacientes: opinión tratamiento.

BUENO PARA ALERGIA CUESTIONARIO PACIENTES	TOTAL (N=12) N (%)	ACTIVO (N=5) N (%)	PLACEBO (N=7) N (%)
Puede	1 (8,3)	1 (20,0)	0
Creo que sí	8 (66,7)	4 (80,0)	4 (57,1)
Seguro que sí	3 (25,0)	0	3 (42,9)

N: número de pacientes. %: porcentaje de pacientes.

A pesar de los problemas que el parche podía haberles causado, el 80% de los pacientes del grupo activo y el 28,6% del grupo placebo creían que era bueno para su alergia y el resto de pacientes de ambos grupos estaban seguros de que era bueno para su alergia.

5.5. GRADO DE SATISFACCIÓN GLOBAL CON EL PARCHÉ

5.5.1. Cuestionario realizado a padres

Al analizar el estudio la mayoría de los padres creían que sus hijos estaban contentos con el tratamiento del parche. (Tabla 48)

Tabla 48.
Respuestas cuestionarios padres: grado satisfacción global.

SATISFACCIÓN GLOBAL CUESTIONARIO PADRES	TOTAL (N=22) N (%)	ACTIVO (N=12) N (%)	PLACEBO (N=10) N (%)
Algo contento	2 (9,1)	1 (8,3)	1 (10,0)
Contento	16 (72,7)	9 (75,0)	7 (70,0)
Muy contento	3 (13,6)	2 (16,7)	1 (10,0)
Contentísimo	1 (4,5)	0	1 (10,0)

N: número de pacientes. %: porcentaje de pacientes.

5.5.2. Cuestionario realizado a pacientes

Al analizar el estudio los niños que respondieron a la pregunta de satisfacción global con el parche, en su mayoría contestaron estar contentos o muy contentos y sólo un paciente del grupo placebo reñó estar disgustadísimo con el parche. (Tabla 49)

Tabla 49.
Respuestas cuestionarios pacientes: grado satisfacción global.

SATISFACCIÓN GLOBAL CUESTIONARIO PACIENTES	TOTAL (N=12) N (%)	ACTIVO (N=6) N (%)	PLACEBO (N=6) N (%)
Disgustadísimo	1 (8,3)	0	1 (16,7)
Algo contento	3 (25,0)	3 (50,0)	0
Contento	5 (41,7)	1 (16,7)	4 (66,6)
Muy contento	3 (25,0)	2 (33,3)	1 (16,7)

N: número de pacientes. %: porcentaje de pacientes.

El paciente del placebo que reñó estar disgustadísimo fue el mismo que reñó problemas con el parche.

5.6. PROBLEMAS EN LAS RELACIONES PERSONALES POR EL USO DEL PARCHÉ

En las revisiones realizadas a mitad y a final del tratamiento se les preguntaba a los pacientes por cómo les afectaba el llevar el parche en la relación con sus amigos y compañeros. Sólo a dos pacientes (9,1%) del total del estudio les afectaron los comentarios realizados por sus compañeros al verlos con el parche.

En uno de ellos, del grupo placebo, fue durante la estancia en un campamento de verano al que acudía de día, y se enfadaba por tener que dar explicaciones sobre el motivo por el cual tenía el parche, sin embargo, no quiso dejar de aplicárselo en esa temporada.

El otro paciente, del grupo activo, se sentía mal cada vez que le decían algo en el colegio y le daba vergüenza que le vieran con el parche, por lo que se decidió junto con los padres que sólo se administrara el parche al volver del colegio durante la tarde y la noche y las 24 horas los días que no fuera al colegio (fines de semana, festivos y vacaciones).

5.7. FACILIDAD EN LA PREPARACIÓN Y MANEJO DEL PARCHÉ

En el cuestionario entregado a los padres se incluía una pregunta sobre la dificultad en el manejo y preparación del parche.

De los 22 padres, al 81,8% les pareció fácil o muy fácil la preparación y manejo del parche. (Tabla 50)

En caso de que les pareciera difícil debían marcar en qué parte tuvieron problemas. Sólo cuatro padres reñeron dificultad en el manejo y preparación del parche, pero diez padres más quisieron aportar información y sugerencias para mejorar el parche y contestaron la pregunta a pesar de que les parecía fácil o muy fácil su manejo. Un padre de un paciente del grupo placebo reñó problemas en la preparación

del parche, puesto que le parecía difícil colocar la parte exacta de crema en el pocillo. Ocho padres, seis del grupo activo y dos del placebo, tuvieron algún contratiempo con la colocación del parche, sobre todo en relación con el paso de despegar la parte adhesiva del parche para pegarlo posteriormente en la piel. Cinco padres, cuatro del grupo activo y uno del placebo, tuvieron complicaciones con la retirada del parche, puesto que el parche estaba muy pegado a la piel y los niños se quejaban.

Tabla 50.
Opinión de padres sobre la facilidad en la preparación del parche.

MANEJO Y PREPARACIÓN DEL PARCHÉ	TOTAL (N=22) N (%)	ACTIVO (N=12) N (%)	PLACEBO (N=8) N (%)
Difícil	4 (18,2)	3 (25,0)	1 (10,0)
Fácil	14 (63,6)	6 (50,0)	8 (80,0)
Muy fácil	4 (18,2)	3 (25,0)	1 (10,0)

N: número de pacientes. %: porcentaje de pacientes.

6. CAMBIOS INMUNOLÓGICOS PRODUCIDOS TRAS EL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

6.1. PRUEBAS CUTÁNEAS

Al inicio del tratamiento, en uno de los 22 pacientes del estudio, perteneciente al grupo activo, tanto en la prueba cutánea con extracto comercial de avellana como en *prick-prick* con avellana natural los resultados fueron negativos. Además, otro paciente del grupo placebo también presentó un resultado negativo en la prueba de *prick-prick* con avellana, aunque en este caso la prueba cutánea con extracto comercial si fue positiva.

En la mitad del tratamiento no se le pudieron realizar las pruebas cutáneas a dos pacientes del grupo placebo por estar tomando antihistamínico por los síntomas de rinoconjuntivitis en relación con la polinización del momento.

En las pruebas cutáneas del final del tratamiento el resultado de la prueba en *prick-prick* con avellana en uno de los pacientes del placebo no se efectuó.

Los valores de *prick* y *prick-prick* fueron similares en cada momento del tratamiento tanto en el grupo activo como en el placebo y no se encontraron diferencias significativas. (Tablas 51 y 52)

Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar los valores de *prick* test y *prick-prick* con avellana entre el momento inicial y final del tratamiento en el grupo activo y los mismos valores en el grupo placebo. (Figuras 13 y 14) Si que se observó un ligero aumento de la media de los valores del *prick* y del *prick-prick* del inicio al final del tratamiento en el grupo activo, mientras que el *prick-prick* en el grupo placebo descendió levemente del inicio al final, pero ninguna de estas diferencias fue significativa.

Tabla 51.
Valores de la media del *prick* a la avellana en cada momento del tratamiento.

PRICK AVELLANA MEDIA±DE (MÍN-MÁX)	ACTIVO	PLACEBO	P-VALOR
Intención de tratar			
Inicio	n=12	n=10	0,831
	6,04 ± 2,49 (0-10)	6,25 ± 1,91 (3-9)	
Mitad	n=12	n=8	0,435
	6,83 ± 2,76 (0-10,5)	6,00 ± 1,19 (4-8)	
Final	n=12	n=10	0,455
	7,37 ± 2,73 (3-13)	6,60 ± 1,83 (4-9)	
Por protocolo			
Inicio	n=10	n=10	0,613
	5,80 ± 2,77 (0-10)	6,25 ± 1,91 (3-9)	
Mitad	n=10	n=8	0,599
	6,60 ± 2,96 (0-10,5)	6,00 ± 1,19 (4-8)	
Final	n=10	n=10	0,751
	7,25 ± 2,48 (3-10)	6,60 ± 1,83 (4-9)	

DE: desviación estándar. Mín: valor mínimo. Máx: valor máximo. N: número pacientes. Los valores del *prick* se dan en mm.

Tabla 52.
Valores de la media del *prick-prick* a avellana en cada momento del tratamiento.

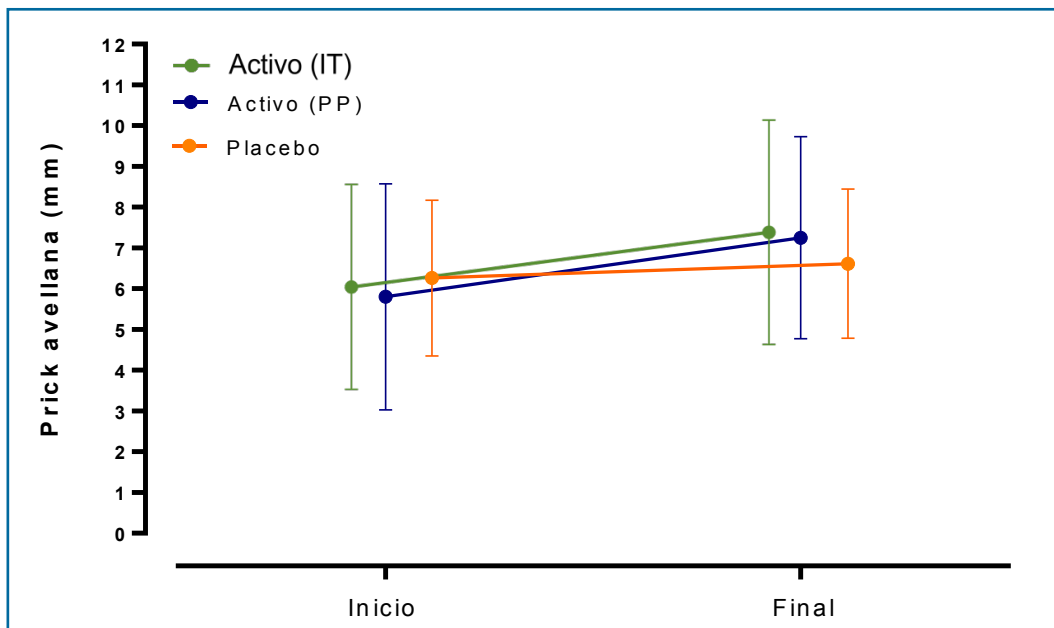
PRICK-PRICK AVELLANA MEDIA±DE (MÍN-MÁX)	ACTIVO	PLACEBO	P-VALOR
Intención de tratar			
Inicio	n=12	n=10	0,307
	5,45 ± 3,06 (0-12,5)	6,80 ± 2,88 (0-11)	
Mitad	n=12	n=8	0,818
	6,12 ± 2,47 (0-9,5)	6,37 ± 2,13 (4-10)	
Final	n=12	n=9	0,685
	6,33 ± 3,17 (0-13)	5,83 ± 2,03 (3-9)	

Por protocolo			
Inicio	n=10	n=10	0,382
	5,60 ± 3,33 (0-12,5)	6,80 ± 2,88 (0-11)	
Mitad	n=10	n=8	0,754
	6,00 ± 2,71 (0-9,5)	6,37 ± 2,13 (4-10)	
Final	n=10	n=9	0,713
	6,45 ± 3,28 (0-13)	5,83 ± 2,03 (3-9)	

DE: desviación estándar. Mín: valor mínimo. Máx: valor máximo. N: número pacientes. Los valores del prick-prick se dan en mm

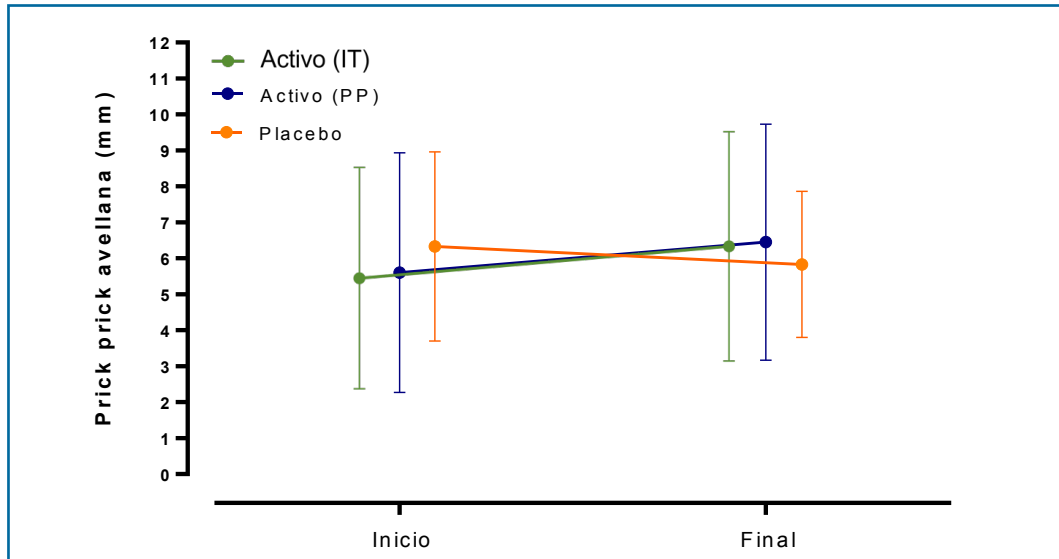
Figura 13.

Evolución de la media de los valores de la prueba cutánea en *prick* con avellana a lo largo del tratamiento en ambos grupos de estudio.



IT: intención de tratar. PP: por protocolo. El punto representa la media y las líneas verticales la desviación estándar.

Figura 14.
Evolución de la media de los valores de la prueba cutánea en *prick-prick* con avellana a lo largo del tratamiento en ambos grupos de estudio.



IT: intención de tratar. PP: por protocolo. El punto representa la media y las líneas verticales la desviación estándar.

6.2. IgE ESPECÍFICA A LA AVELLANA

Al inicio del tratamiento todos los pacientes presentaron un valor de IgE específica a avellana $\leq 0,1$ kUA/L, excepto un paciente del grupo activo en el cual fue negativo.

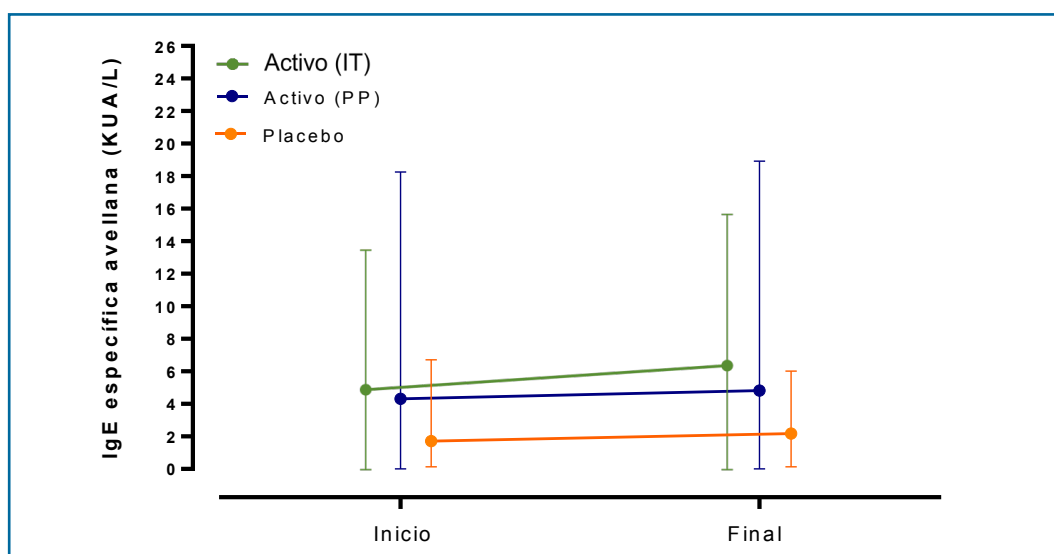
No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de estudio entre las medianas de la IgE específica a avellana al inicio del tratamiento.

Aunque la mediana de la IgE específica a avellana fue mayor en el grupo activo en todos los momentos del tratamiento respecto al grupo placebo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. (Tabla 53)

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la evolución

de los valores de la mediana de la IgE específica a avellana entre el momento inicial y final del tratamiento ni el grupo activo ni el placebo. (Figura 15) Sí que se observó en ambos grupos un ligero aumento de la mediana de los valores del final respecto al inicio, un poco mayor en el grupo activo, pero ninguna de estas diferencias fue significativa.

Figura 15.
Evolución de la mediana de los valores de la IgE específica a avellana a lo largo del tratamiento en ambos grupos de estudio.



IT: intención de tratar. PP: por protocolo. El punto representa la mediana y las líneas verticales el rango intercuartílico.

Tabla 53.
Valores de la mediana de la IgE específica a avellana en cada momento del tratamiento.

IGE ESPECÍFICA AVELLANA MEDIANA [RIC] (MÍN-MÁX)	ACTIVO	PLACEBO	P-VALOR
Intención de tratar			
Inicio	n=12	n=10	0,323
	4,91 [17,17] (0-157)	1,59 [10,01] (0,39-17,7)	
Mitad	n=12	n=10	0,291
	6,72 [30,17] (0-76,2)	2,58 [9,21] (0,16-27,1)	
Final	n=12	n=10	0,276
	6,39 [18,57] (0-62,4)	2,05 [7,69] (0-22,2)	

Por protocolo			
Inicio	n=10	n=10	0,364
	4,31 [27,95] (0-157)	1,59 [10,01] (0,39-17,7)	
Mitad	n=10	n=10	0,450
	4,79 [43,19] (0-76,2)	2,58 [9,21] (0,16-27,1)	
Final	n=10	n=10	0,427
	4,82 [28,24] (0-62,4)	2,05 [7,69] (0-22,2)	

RIC: rango intercuartílico. Mín: valor mínimo. Máx: valor máximo. N: número pacientes. Los resultados de IgE específica se dan en kUAIL.

6.3. IgG4 ESPECÍFICA A LA AVELLANA

A lo largo del tratamiento los valores de IgG4 específica a avellana fueron más elevados en el grupo activo que en el placebo, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. (Tabla 54)

Al analizar los valores de la mediana de la IgG4 específica a avellana a lo largo del tratamiento se observó un aumento al final respecto al inicio que fue estadísticamente significativo ($p=0,041$) en el grupo activo, por intención de tratar.

En el grupo placebo se produjo la evolución contraria, la mediana de los valores de IgG4 específica a avellana al final del tratamiento fue más baja que al inicio, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0,028$). (Figura 16)

Tabla 54.
Valores de la mediana de la IgG4 específica a avellana en cada momento del tratamiento.

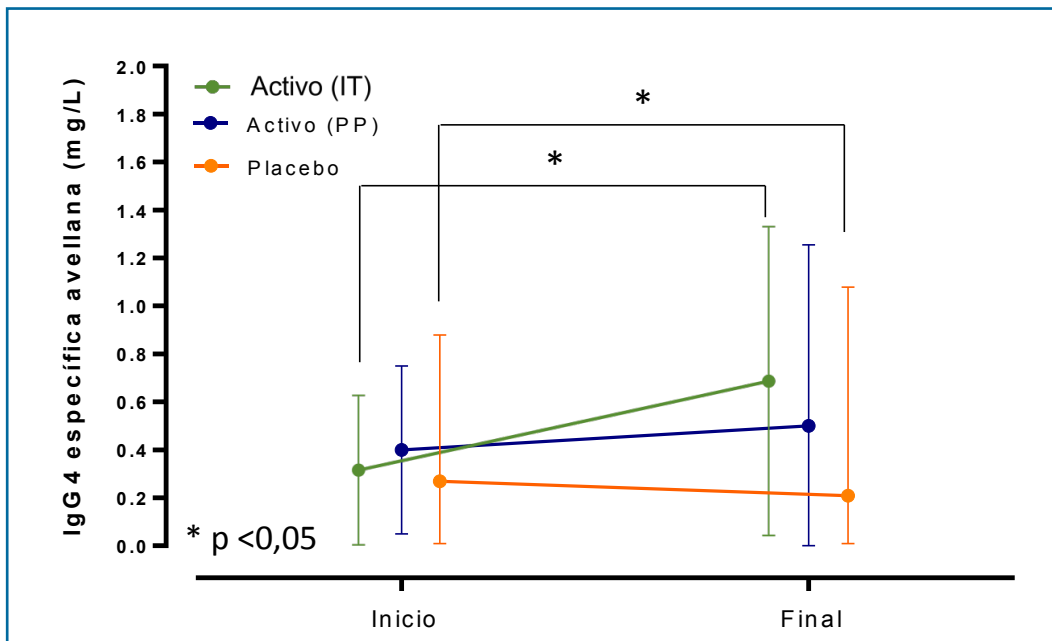
IGG4 ESPECÍFICA AVELLANA MEDIANA [RIC] (MÍN-MÁX)	ACTIVO	PLACEBO	P-VALOR
Intención de tratar			
Inicio	n=12	n=10	0,644
	0,31 [0,62] (0,02-2,57)	0,26 [1,22] (0,01-1,61)	

Mitad	n=12	n=10	0,210
	1,02 [3,12] (0,08-7,97)	0,32 [2,85] (0,04-4,89)	
Final	n=12	n=10	0,468
	0,68 [1,28] (0,03-4,72)	0,20 [1,74] (0,02-2,83)	
Por protocolo			
Inicio	n=10	n=10	0,596
	0,40 [0,7] (0,02-2,57)	0,26 [1,22] (0,01-1,61)	
Mitad	n=10	n=10	0,257
	0,85 [3,77] (0,08-7,97)	0,32 [2,85] (0,04-4,89)	
Final	n=10	n=10	0,496
	0,50 [1,51] (0,03-4,72)	0,20 [1,74] (0,02-2,83)	

RIC: rango intercuartílico. Mín: valor mínimo. Máx: valor máximo. N: número pacientes. Los resultados de IgG4 específica se dan en mg/L

Figura 16.

Evolución de la mediana de los valores de la IgG4 específica a avellana a lo largo del tratamiento en ambos grupos de estudio.



IT: intención de tratar. PP: por protocolo. El punto representa la mediana y las líneas verticales el rango intercuartílico.

6.4. RATIO IGG4/IGE ESPECÍFICA A LA AVELLANA

No se encontraron diferencias significativas en el valor de la ratio IgG4/IgE específica a avellana entre los grupos activo y placebo ni al inicio ni mitad del tratamiento ni tras finalizar los seis meses de tratamiento. (Tabla 55)

Tabla 55.
Valores de la mediana de la ratio IgG4/IgE específica a la avellana en cada momento del tratamiento.

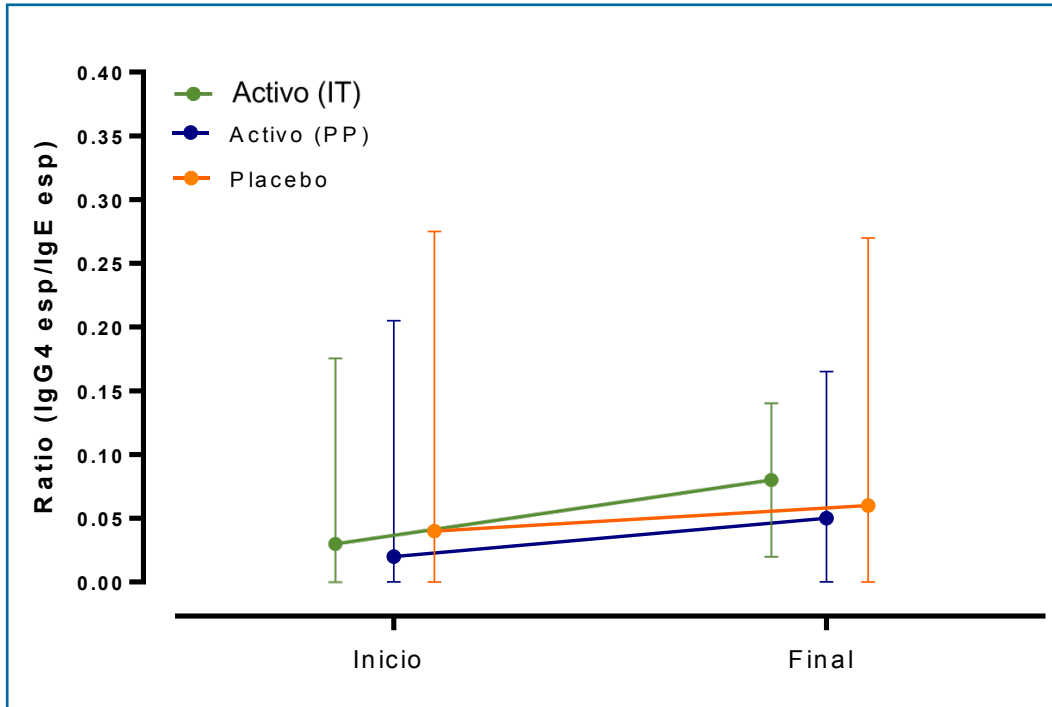
IGG4/IGE ESPECÍFICA AVELLANA MEDIANA [RIC] (MÍN-MÁX)	ACTIVO	PLACEBO	P-VALOR
Intención de tratar			
Inicio	n=12	n=10	0,531
	0,03 [0,29] (0-3,25)	0,04 [0,47] (0-1,84)	
Mitad	n=12	n=10	0,741
	0,13 [0,63] (0-14,23)	0,14 [0,43] (0,03-20,38)	
Final	n=12	n=10	1,000
	0,08 [0,12] (0-7,87)	0,06 [0,42] (0-6,6)	
Por protocolo			
Inicio	n=10	n=10	0,473
	0,02 [0,37] (0-3,25)	0,04 [0,47] (0-1,84)	
Mitad	n=10	n=10	0,650
	0,10 [0,76] (0-14,23)	0,14 [0,43] (0,03-20,38)	
Final	n=10	n=10	0,909
	0,05 [0,23] (0-7,87)	0,06 [0,42] (0-6,6)	

RIC: rango intercuartílico. Mín: valor mínimo. Máx: valor máximo. N: número pacientes.

Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la evolución de los valores de la mediana de la ratio IgG4/IgE específica a avellana entre el momento inicial y final del tratamiento en el grupo activo y en los mismos valores en el grupo placebo. Sí que se observó en ambos grupos un ligero aumento de la mediana de los valores del final respecto al inicio, un poco mayor en el grupo activo, pero ninguna de estas diferencias fue significativa. (Figura 17)

Figura 17.

Evolución de la mediana de los valores de la ratio IgG4/IgE específica a avellana a lo largo del tratamiento en ambos grupos de estudio.



IT: intención de tratar. PP: por protocolo. El punto representa la mediana y las líneas verticales el rango intercuartílico.

6.5. TEST DE ACTIVACIÓN DE BASÓFILOS

Se realizó la prueba de activación de basófilos a todos los pacientes al inicio, mitad y final del tratamiento. En el momento final uno de los pacientes del grupo placebo no era respondedor a los controles positivos utilizados por lo que sus datos no se pudieron incluir y los análisis de la evolución del TAB a lo largo del tratamiento en el grupo placebo se hicieron siempre con nueve pacientes.

Se evidenció una tendencia al hacer el análisis por intención de tratar al comparar los valores de activación de basófilos tras los seis meses de tratamiento entre grupo activo (mediana más baja) y placebo (mediana más alta). Al hacer el mismo análisis por protocolo se encontraron diferencias estadísticamente significativas, en

el grupo activo la mediana de activación de los basó los tenía un valor del 10,93%, mientras que en el grupo placebo la activación de basó los al analizar el tratamiento era de un 27,53%. (Tabla 56)

Tabla 56.
Valores de la mediana del test de activación de basó los con avellana en cada momento del tratamiento.

TAB MEDIANA [RIC] (MÍN-MÁX)	ACTIVO	PLACEBO	P-VALOR
Intención de tratar			
Inicio	n=12	n=10	0,511
	45,14 [25,31] (3,39-62,99)	31,44 [43,56] (1,98-62,84)	
Mitad	n=12	n=10	0,727
	45,37 [43,2] (9,38-81,49)	45,99 [40,74] (3,34-71,52)	
Final	n=12	n=9	0,088
	11,45 [38,61] (5,81-55,07)	27,53 [49,26] (8,7-67,77)	
Por protocolo			
Inicio	n=10	n=10	0,512
	45,14 [18,97] (3,39-62,99)	31,44 [43,56] (1,98-62,84)	
Mitad	n=10	n=10	0,531
	45,37 [41,85] (9,38-63,64)	45,99 [40,74] (3,34-71,52)	
Final	n=10	n=9	0,041
	10,93 [15,26] (5,81-55,07)	27,53 [49,26] (8,7-67,77)	

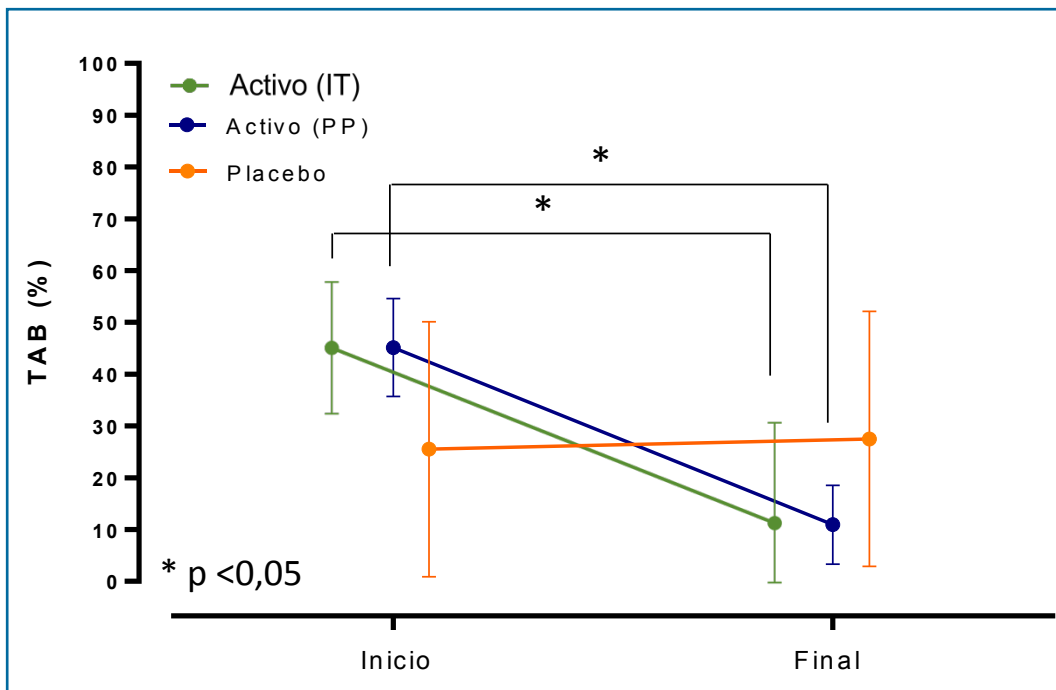
TAB: test de activación de basófilos. RIC: rango intercuartílico. Mín: valor mínimo. Máx: valor máximo. El resultado del TAB se da en porcentaje de activación de basófilos.

También se encontraron diferencias estadísticamente significativas al analizar la evolución de la mediana de los valores de activación de basó los con avellana del grupo activo desde el inicio del tratamiento epicutáneo hasta su finalización. En el análisis por intención de tratar, la mediana de la activación de basó los bajó de un 45,14% al inicio del tratamiento a un 11,45% al analizarlo ($p=0,049$). Al hacer el estudio por protocolo la diferencia estadísticamente significativa fue mayor aún, pa-

sando la mediana de la activación de basó los al inicio del 45,14% hasta un 10,93% al finalizar el tratamiento ($p=0,028$).

Sin embargo, en el grupo placebo no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en la activación de basó los con avellana a lo largo del tratamiento, puesto que los valores de la mediana eran similares al inicio y al final de la inmunoterapia epicutánea. (Figura 18)

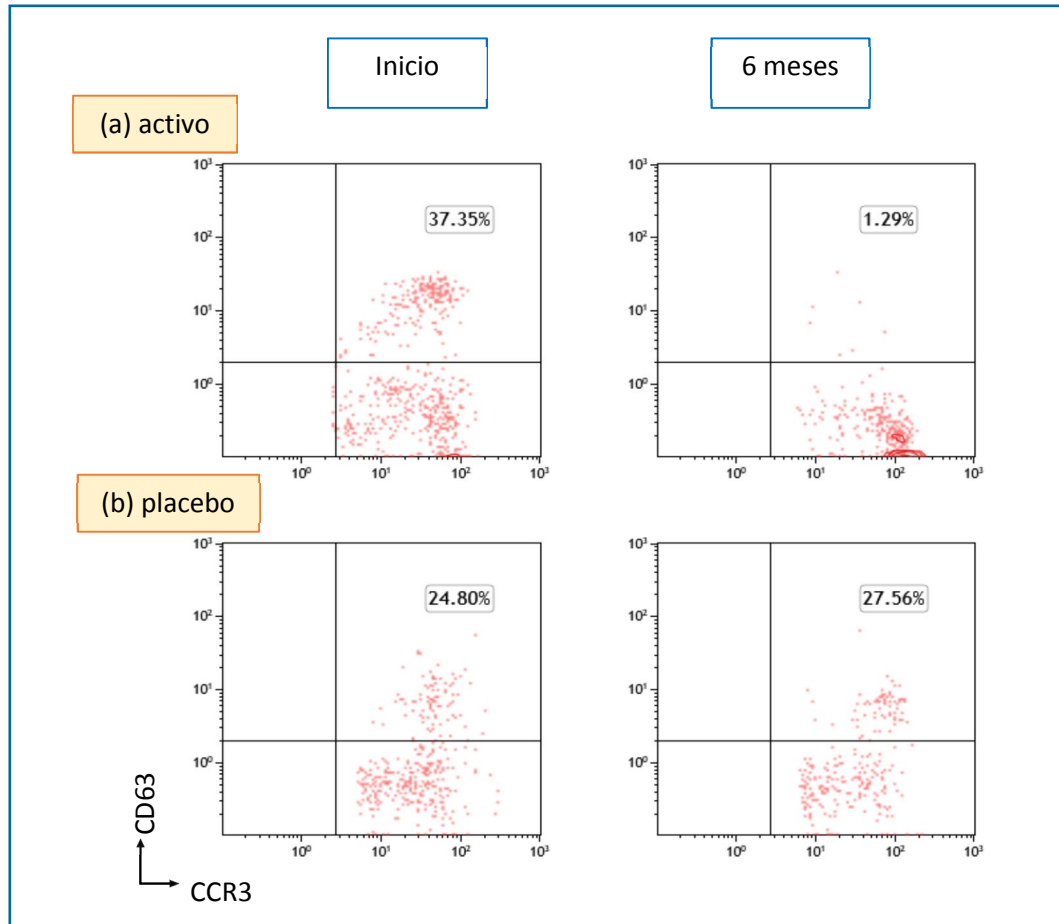
Figura 18.
Evolución de la mediana de los valores de la activación de basó los con avellana a lo largo del tratamiento en ambos grupos de estudio.



IT: intención de tratar. PP: por protocolo. El punto representa la mediana y las líneas verticales el rango intercuartílico

En la figura 19 se representa el resultado del TAB al inicio y a los seis meses del tratamiento de dos pacientes, uno del grupo activo y otro del grupo placebo. Los resultados muestran el porcentaje de activación CCR3⁺ CD63⁺.

Figura 19.
Evolución de los porcentajes de activación de basó los obtenidos en dos pacientes al inicio y tras 6 meses de tratamiento.



(a) paciente del grupo activo y (b) paciente del grupo placebo. CD63, CCR3: marcadores para detectar la población de basófilos.

7. PERFIL DE RECONOCIMIENTO A LAS PROTEÍNAS DE LA AVELLANA

Para el estudio del per I de sensibilización a las distintas proteínas de la avellana se utilizaron tres métodos diagnósticos antes del inicio del tratamiento epicutáneo. A continuación, se detallan los resultados por cada técnica empleada y de forma global.

7.1. COMPONENTES MOLECULARES

7.1.1. Método ISAC®

Utilizando este método de detección de IgE específica 11 pacientes (50%) del total de la muestra tuvieron resultados positivos y el 50% restante, cinco del grupo activo y seis del placebo, tuvieron resultados negativos para todos los alérgenos de avellana probados. Cor a 8 fue el alérgeno con mayor reconocimiento en el grupo activo (33,3%), seguido de Cor a 9 y Cor a 1 en la misma proporción (16,7%). En el grupo placebo, de los cinco pacientes que tuvieron algún resultado positivo, Cor a 8 y Cor a 9 fueron los alérgenos con mayor reconocimiento (20%). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. (Tabla 57)

Tabla 57.
Pacientes con valores positivos a los componentes moleculares de avellana por método ISAC®.

COMPONENTES MOLECULARES ISAC®	TOTAL (N=22) N* (%)	ACTIVO (N=12) N* (%)	PLACEBO (N=10) N* (%)	P-VALOR
Cor a 1	3 (13,6)	2 (16,7)	1 (10,0)	1,000
Cor a 8	6 (27,3)	4 (33,3)	2 (20,0)	0,646
Cor a 9	4 (18,2)	2 (16,7)	2 (20,0)	1,000

*N: número de pacientes. *: cada paciente puede mostrar más de una positividad. %: porcentaje de pacientes. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo*

Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de los valores objetivados para los distintos componentes de avellana entre los grupos activo y placebo. (Tabla 58)

Tabla 58.
Estudio cuantitativo de los componentes moleculares de avellana método ISAC®.

COMPONENTES MOLECULARES ISAC®	TOTAL (N=22)	ACTIVO (N=12)	PLACEBO (N=10)	P-VALOR
Cor a 1 mediana [RIC] (mín-máx)	0 [0,00] (0-6,8)	0 [0,00] (0-6,8)	0 [0,00] (0-2,66)	0,659
Cor a 8 mediana [RIC] (mín-máx)	0 [0,64] (0-4,86)	0 [2,05] (0-4,86)	0 [0,51] (0-3,7)	0,540
Cor a 9 mediana [RIC] (mín-máx)	0 [0,26] (0-3,2)	0,05 [0,24] (0-3,2)	0 [0,31] (0-0,43)	0,746

N: número de pacientes. RIC: rango intercuartílico. Mín: valor mínimo. Máx: valor máximo. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo. Resultados de valores expresados en ISU (Unidades Internacionales ISAC).

7.1.2. Método ImmunoCAP®

Del total de los 22 pacientes, sólo dos pacientes del grupo placebo tuvieron resultados negativos para todos los componentes moleculares de la avellana estudiados con el método ImmunoCAP®. La mayoría de los pacientes con resultados positivos estaban sensibilizados a las proteínas de reserva Cor a 9 y Cor a 14, siendo el porcentaje de positividad para cada una de ellas del 91,7% en el grupo activo y del 70% en el grupo placebo. Cor a 8 fue positiva en un tercio de los pacientes de ambos grupos. La proteína homóloga de PR-10, Cor a 1, fue la menos reconocida por los pacientes de los grupos activo y placebo.

De los 20 pacientes que presentaron algún resultado positivo a los componentes moleculares, en 19 se observó la sensibilización a al menos una de las proteínas de reserva y sólo un paciente del grupo placebo mostró resultados negativos para ambas.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las sensibilizaciones encontradas a los distintos componentes de avellana entre los grupos activo y placebo. En la tabla 59 se refleja el número de pacientes con resultados positivos y diferencias entre grupos.

Tabla 59.
Pacientes con valores positivos en los componentes moleculares de avellana método ImmunoCAP®.

COMPONENTES MOLECULARES IMMUNOCAP®	TOTAL (N=22) N* (%)	ACTIVO (N=12) N* (%)	PLACEBO (N=10) N* (%)	P-VALOR
Cor a 1	4 (18,2)	3 (25,0)	1 (10,0)	0,594
Cor a 8	7 (31,8)	4 (33,3)	3 (30,0)	1,000
Cor a 9	18 (81,8)	11 (91,7)	7 (70,0)	0,293
Cor a 14	18 (81,8)	11 (91,7)	7 (70,0)	0,293

*N: número de pacientes. *: cada paciente puede mostrar más de una positividad. %: porcentaje de pacientes. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo.*

Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de los valores objetivados para los distintos componentes de avellana entre los grupos activo y placebo. (Tabla 60)

Tabla 60.
Estudio cuantitativo de los componentes moleculares de avellana método ImmunoCAP®.

COMPONENTES MOLECULARES IMMUNOCAP®	TOTAL (N=22)	ACTIVO (N=12)	PLACEBO (N=10)	P-VALOR
Cor a 1 mediana [RIC] (mín-máx)	0,03 [0,04] (0-21,9)	0,04 [0,08] (0-21,9)	0,03 [0,01] (0,02-6,3)	0,763
Cor a 8 mediana [RIC] (mín-máx)	0,04 [1,33] (0-12,3)	0,05 [1,71] (0-7,1)	0,03 [1,95] (0-12,3)	0,766
Cor a 9 mediana [RIC] (mín-máx)	0,67 [2,82] (0-38,6)	1,1 [2,57] (0,03-38,6)	0,28 [3,59] (0-7,1)	0,306

Cor a 14 mediana [RIC] (mín-máx)	0,73 [4,90] (0,01-41,4)	0,67 [2,60] (0,01-17,5)	0,99 [10,51] (0,01-41,4)	0,974
---	----------------------------	----------------------------	-----------------------------	-------

RIC: rango intercuartílico. Mín: valor mínimo. Máx: valor máximo. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo. Resultados de valores expresados en kUAIL.

7.1.3. Método ALEX®

Del total de los 22 pacientes, sólo uno del grupo placebo resultó negativo para todos los componentes moleculares estudiados con el método ALEX®. Las proteínas de reserva Cor a 9, Cor a 11 y Cor a 14 fueron las más reconocidas por los pacientes, tanto del grupo activo como del placebo. La menos reconocida fue Cor a 1, sólo positiva en el 16,7% de los pacientes del grupo activo y en el 10% de los pacientes del grupo placebo. No se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas respecto al reconocimiento de componentes moleculares de avellana por el método ALEX® entre los grupos activo y placebo. (Tabla 61)

Tabla 61.
Pacientes con valores positivos en los componentes moleculares de avellana método ALEX®.

COMPONENTES MOLECULARES ALEX®	TOTAL (N=22) N* (%)	ACTIVO (N=12) N* (%)	PLACEBO (N=10) N* (%)	P-VALOR
Cor a 1	3 (13,6)	2 (16,7)	1 (10,0)	1,000
Cor a 8	7 (31,8)	4 (33,3)	3 (30,0)	1,000
Cor a 9	13 (59,1)	8 (66,7)	5 (50,0)	0,666
Cor a 11	18 (81,8)	10 (83,3)	8 (80,0)	0,406
Cor a 14	19 (86,4)	11 (91,7)	8 (80,0)	0,571

*N: número de pacientes. *: cada paciente puede mostrar más de una positividad. %: porcentaje de pacientes. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo.*

Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de los valores objetivados para los distintos componentes de avellana entre los grupos activo y placebo. (Tabla 62)

Tabla 62.
Estudio cuantitativo de los componentes
moleculares de avellana método ALEX®.

COMPONENTES MOLECULARES ALEX®	TOTAL (N=22)	ACTIVO (N=12)	PLACEBO (N=10)	P-VALOR
Cor a 1 mediana [RIC] (mín-máx)	0 [0,00] (0-22,98)	0 [0,00] (0-22,98)	0 [0,02] (0-0,41)	1,000
Cor a 8 mediana [RIC] (mín-máx)	0,01 [6,09] (0-38,89)	0,04 [19,91] (0-38,89)	0,01 [6,09] (0-35,58)	0,888
Cor a 9 mediana [RIC] (mín-máx)	1,32 [4,85] (0-25,82)	1,36 [4,14] (0-25,82)	0,77 [5,15] (0-6,95)	0,424
Cor a 11 mediana [RIC] (mín-máx)	1,22 [8,76] (0-40,55)	1,54 [7,81] (0-40,55)	1,20 [11,18] (0-13,81)	0,692
Cor a 14 mediana [RIC] (mín-máx)	9,9 [27,96] (0-41,48)	9,52 [32,19] (0-41,48)	12,24 [28,72] (0-41,37)	0,895

RIC: rango intercuartílico. Mín: valor mínimo. Máx: valor máximo. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo. Resultados de valores expresados en kUAIL.

7.1.4. Resultado global: ISAC®, ImmunoCAP®, ALEX®

Al unir los resultados de los tres métodos *in vitro* utilizados para el estudio de la sensibilización a los distintos componentes moleculares de la avellana, y considerando positivo el componente con tal de que lo fuera en al menos uno de los tres métodos, encontramos que todos los pacientes tenían al menos una positividad a alguno de los alérgenos probados. En la tabla 63 se reflejan las positividades detectadas, sin encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos activo y placebo. Tres pacientes, dos del grupo activo y uno del placebo, tenían positivo un solo componente, Cor a 14, Cor a 9 y Cor a 11 respectivamente. El resto de los pacientes tenían positivos al menos dos componentes moleculares distintos.

Tabla 63.
Pacientes con valores positivos utilizando los 3 métodos *in vitro*.

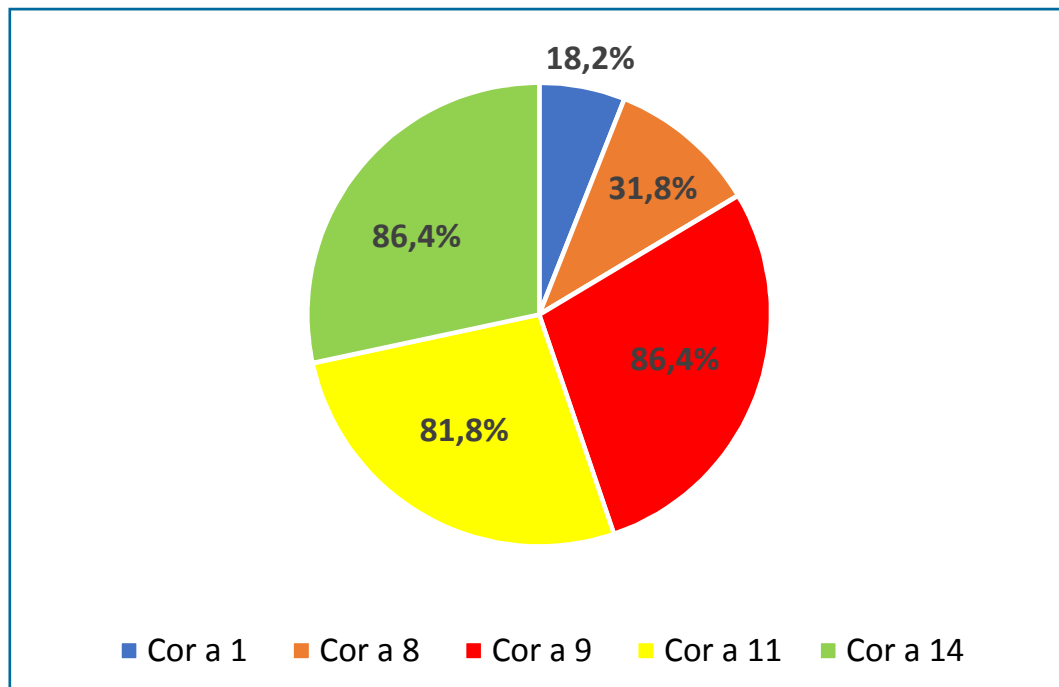
COMPONENTES MOLECULARES	TOTAL (N=22) N* (%)	ACTIVO (N=12) N* (%)	PLACEBO (N=10) N* (%)	P-VALOR
Cor a 1	4 (18,2)	3 (25,0)	1 (10,0)	0,594

Cor a 8	7 (31,8)	4 (33,3)	3 (30,0)	1,000
Cor a 9	19 (86,4)	11 (91,7)	8 (80,0)	0,571
Cor a 11	18 (81,8)	10 (83,3)	8 (80,0)	0,406
Cor a 14	19 (86,4)	11 (91,7)	8 (80,0)	0,571

*N: número de pacientes. *: cada paciente puede mostrar más de una positividad. %: porcentaje de pacientes. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo.*

Tanto en la muestra global, en el grupo activo como en el placebo, las proteínas Cor a 9, Cor a 11 y Cor a 14 fueron las más reconocidas. En ambos grupos del estudio al menos el 80% de los pacientes reconocían cada una de estas proteínas. Cor a 8 fue positiva en un tercio de los pacientes de ambos grupos. La proteína menos reconocida fue Cor a 1. En la figura 20 se representa el perfil de sensibilización a las distintas proteínas de avellana en la muestra general.

Figura 20.
Perfil de sensibilización a avellana en la muestra global.



Porcentaje de pacientes de la población a estudio que presentan positividad a cada uno de los componentes moleculares de la avellana

7.2. PATRONES DE RECONOCIMIENTO

Al clasificar las sensibilizaciones por grupos de proteínas, las de almacenamiento o reserva (Cor a 9, Cor a 11, Cor a 14) fueron las más reconocidas por los pacientes tanto en el grupo activo (100%), como en el grupo placebo (90%). La proteína de defensa LTP de la avellana (Cor a 8) fue positiva en el 33,3% de los pacientes del grupo activo y en el 30% del placebo. La que se encontró con menor frecuencia fue la proteína de defensa PR-10 (Cor a 1), sólo reconocida en un 25% del grupo activo y 10% del grupo placebo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las positividades objetivadas entre ambos grupos. Datos reflejados en la tabla 64. En la figura 21 se representa el perfil de sensibilización a los distintos grupos de proteínas en la muestra general.

Tabla 64.
Pacientes con resultados positivos en el perfil de sensibilización por grupos de proteínas utilizando los 3 métodos *in vitro*.

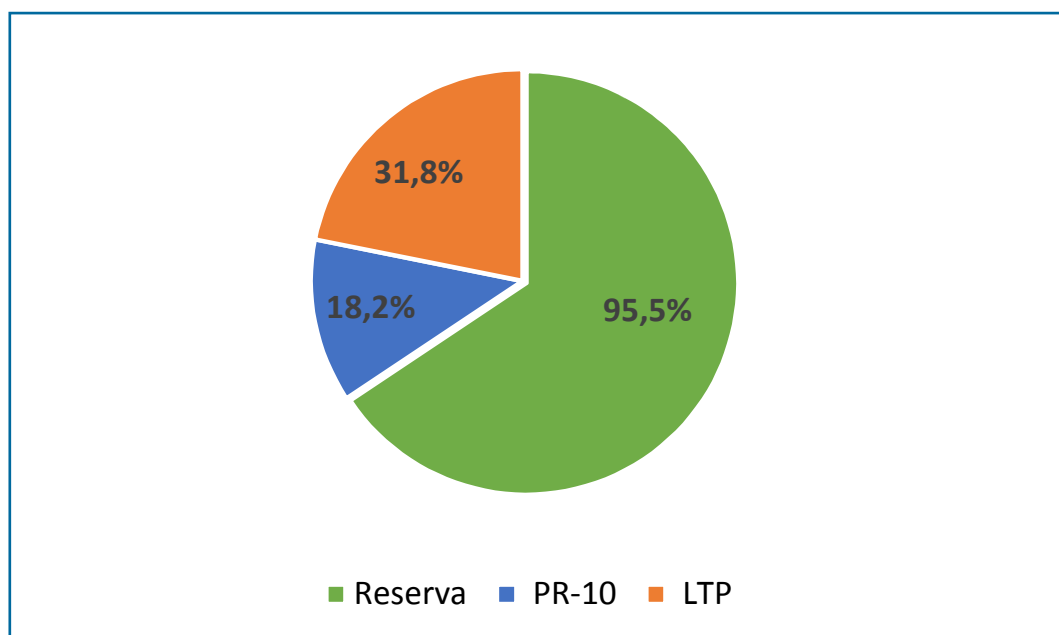
GRUPOS DE PROTEÍNAS	TOTAL (N=22) N* (%)	ACTIVO (N=12) N* (%)	PLACEBO (N=10) N* (%)	P-VALOR
Proteínas de reserva (Cor a 9, Cor a 11, Cor a 14)	21 (95,5)	12 (100,0)	9 (90,0)	0,455
Proteínas de defensa PR-10 (Cor a 1)	4 (18,2)	3 (25,0)	1 (10,0)	0,301
Proteínas de defensa LTP (Cor a 8)	7 (31,8)	4 (33,3)	3 (30,0)	0,348

*N: número de pacientes. *: cada paciente puede mostrar más de una positividad. %: porcentaje de pacientes. PR-10: proteína relacionada con la patogénesis grupo 10. LTP: proteína transportadora de lípidos. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo.*

Al analizar las asociaciones de positividades entre grupos proteicos, el patrón más frecuentemente encontrado en la muestra general fue el de reconocimiento exclusivo a proteínas de reserva seguido a gran distancia del patrón de reconocimiento conjunto de proteínas de reserva y LTP. (Figura 22). Esta frecuencia de reconocimiento de patrones se mantenía tanto en el grupo activo como en el placebo. Sólo un pa-

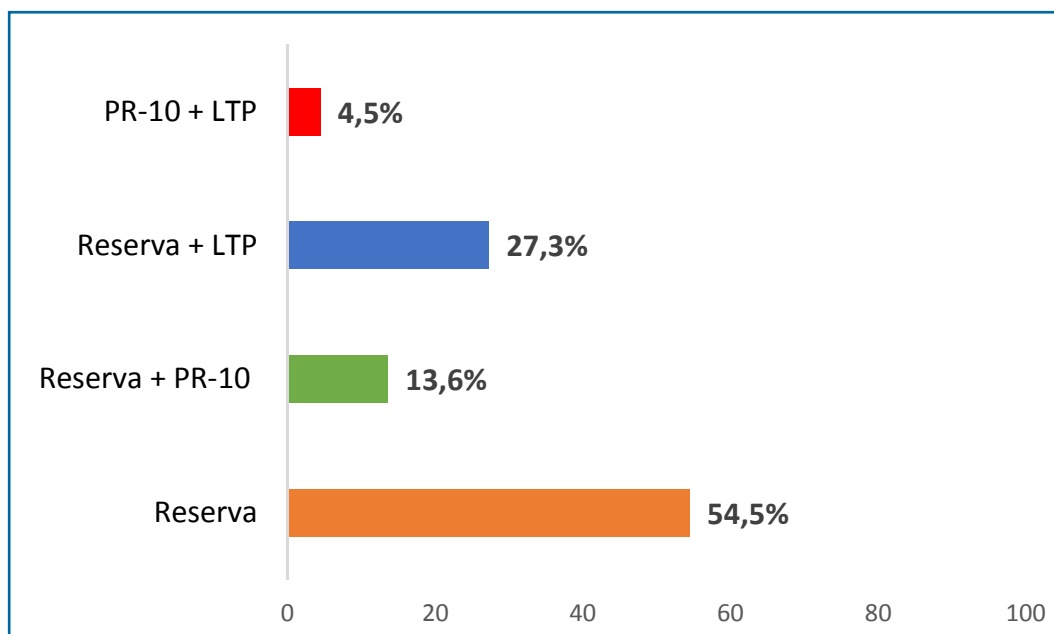
ciente del grupo placebo, no tenía sensibilización a ninguna proteína de reserva, la sensibilización de ese paciente era a Cor a 1 (PR-10) y Cor a 8 (LTP). No se encontró ningún paciente con patrones de reconocimiento exclusivo ni para PR-10 ni para LTP. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los patrones reconocidos por el grupo activo y placebo. (Tabla 65)

Figura 21.
Perfil de sensibilización a grupos de proteínas de avellana en la muestra global.



%; porcentaje de pacientes de la población a estudio que presentan positividad a cada uno de los principales grupos proteicos de la avellana. PR-10: proteína relacionada con la patogénesis, grupo 10. LTP: proteína transportadora de lípidos.

Figura 22.
Patrones de reconocimiento de avellana en la muestra global.



%. porcentaje de pacientes de la población a estudio clasificados por cada uno de los patrones de reconocimiento. PR-10: proteína relacionada con la patogénesis, grupo 10. LTP: proteína transportadora de lípidos.

Tabla 65.
Pacientes con positividad a los patrones de reconocimiento a la avellana utilizando los 3 métodos *in vitro*.

PATRONES DE RECONOCIMIENTO	TOTAL (N=22) N (%)	ACTIVO (N=12) N (%)	PLACEBO (N=10) N (%)	P-VALOR
Sólo proteínas de reserva	12 (54,5)	5 (41,7)	7 (70,0)	0,231
Proteínas de reserva + PR-10	3 (13,6)	3 (25,0)	0	0,221
Proteínas de reserva + LTP	6 (27,3)	4 (33,3)	2 (20,0)	0,646
PR-10 + LTP	1 (4,5)	0	1 (10,0)	0,455

N: número de pacientes. %: porcentaje de pacientes. PR-10: proteína relacionada con la patogénesis grupo 10. LTP: proteína transportadora de lípidos. P-valor muestra diferencias entre activo y placebo.

VI. Discusión

Este trabajo se ha planteado como un estudio piloto experimental prospectivo, aleatorizado, simple ciego controlado con placebo con el que se pueda establecer una alternativa de tratamiento eficaz y seguro para pacientes pediátricos alérgicos a la avellana.

Al ser un estudio piloto, la población a estudio era pequeña y de los 35 pacientes a los que se le propuso participar sólo se pudo incluir a 22 pacientes. Tras la aleatorización en los dos grupos de tratamiento, 12 pacientes formaron parte del grupo activo y diez del grupo placebo.

Todas las características de los pacientes en cuanto a sexo, edad, antecedentes familiares y personales de atopia, sensibilización a aeroalérgenos, panalérgenos y frutos secos, así como las variables inmunológicas al inicio del tratamiento de pruebas cutáneas e *in vitro* y los resultados de la dosis desencadenante de síntomas en la prueba de exposición oral controlada inicial eran similares tras la aleatorización en ambos grupos de tratamiento.

La única intervención que hicimos y no se dejó al azar en la aleatorización, fue distribuir de forma uniforme en ambos grupos a los pacientes que habían presentado una anafilaxia en la prueba de exposición oral inicial. Dado el número reducido de la muestra, el que hubieran coincidido todos o un mayor número de pacientes con las reacciones más graves en uno de los dos grupos de tratamiento podría haber influido a la hora de analizar el efecto del tratamiento.

1. EFICACIA CLÍNICA DEL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

Al ser la inmunoterapia epicutánea con alimentos un nuevo tratamiento en investigación, existen muy pocos artículos publicados al respecto. La mayoría de los trabajos realizados con la EPIT se han llevado a cabo con cacahuete y no hemos encontrado ninguno con avellana. A pesar de la gran diferencia que supone usar alérgenos alimentarios distintos, hemos comparado nuestros resultados de eficacia con los obtenidos con este tipo de inmunoterapia epicutánea con otro alimento vegetal similar como es el cacahuete.

Además, debido a que utilizamos en nuestro tratamiento la avellana y como no suele ser un alérgeno habitualmente empleado en la ITA, decidimos comparar también nuestros resultados de eficacia con los escasos trabajos encontrados en la literatura en relación con la inmunoterapia con avellana. De esta manera, y pese a que la vía de administración es totalmente distinta, podríamos tener una orientación en cuanto al comportamiento de la avellana en las inmunoterapias.

La variable principal de eficacia de nuestro estudio, superar la prueba de exposición oral final de hasta una dosis acumulada de proteína de avellana de 549,9 mg sin reacciones o aumentar en diez veces la dosis desencadenante de síntomas respecto a la dosis de la prueba de exposición oral inicial, no mostró diferencias entre los pacientes del grupo activo y del placebo.

Sorprendentemente las tasas de respondedores en ambos grupos de tratamiento fueron muy elevadas. En el análisis por intención de tratar, se consideraron respondedores el 50% de los pacientes del grupo activo y el 40% del grupo placebo y al hacer el análisis por protocolo, el 60% del activo y el 40% del placebo.

En los estudios publicados de EPIT, se ha confirmado la eficacia del parche con cacahuete comparada con el placebo en niños menores de 11 años y con el tratamiento de 250 mg de cacahuete (260–262). La diferencia más evidente de los

resultados de estos estudios con el nuestro es el porcentaje tan alto que obtuvimos de respondedores en ambos grupos de tratamiento, pero sobre todo en el grupo placebo.

Sampson y colaboradores en el estudio VIPES observaron una eficacia del tratamiento con el parche de cacahuete de 250 µg en los pacientes de 6 a 11 años de edad, del 53,6% en comparación con el 19,4% del grupo placebo (261). Resultados similares obtuvieron Jones y colaboradores en el rango de pacientes menores de 11 años, con el 61,1% de respuesta del grupo con parche de 250 µg de cacahuete frente al 5,6% del placebo (262). En el único estudio fase 3 hasta la fecha de EPIT cacahuete, se obtuvo una tasa de respuesta del 35,3% para el grupo activo y del 13,6% para el grupo placebo (260).

Una de las razones por la que podemos haber encontrado estas diferencias en los resultados podría ser la elección del criterio de eficacia del tratamiento, que difiere entre nuestro estudio y los publicados.

La elección de incluir el criterio del aumento en diez veces de la dosis desencadenante de síntomas respecto a la basal es común con dos de los estudios publicados (261,262) y sólo el estudio PEPITES no lo incluye (260). Pero nos diferenciamos sobre todo en la otra premisa del criterio de eficacia, que es la dosis de proteína en la prueba de exposición oral inicial que hay que superar para ser respondedor.

Para decidir esa cantidad de proteína en la exposición controlada inicial, se debe tener en cuenta qué dosis de proteína en la prueba de exposición inicial se ha establecido como tope máximo por encima de la cual, si se tolera, los pacientes no pueden participar en el estudio. Aunque los alimentos no son los mismos, la dosis de proteína de la exposición oral inicial que debe desencadenar síntomas en los pacientes para formar parte de los estudios es bastante similar entre nuestro trabajo y los de EPIT cacahuete. En los trabajos referidos, esa dosis de proteína de cacahuete acumulada desencadenante de síntomas en la prueba de exposición inicial era de 444 mg o menos en dos trabajos (260,261), y de 1044 mg o menos en otro (262). En nuestro

estudio se exigía tener síntomas con una dosis acumulada de proteína de avellana menor o igual a 549,9 mg.

Debido a que el tiempo de tratamiento de nuestro trabajo era tan solo de seis meses decidimos no aumentar la dosis de proteína de avellana a administrar en la PESCCP oral, que seguía siendo de 549,9 mg, por lo que para ser respondedor debían de tolerar esa cantidad. En el resto de estudios, con tratamientos del doble de duración respecto al nuestro, aumentaron de forma importante la dosis acumulada a tolerar respecto a la exposición controlada inicial, alcanzando valores de 1444 mg o 5044 mg (261,262) y sólo en un subgrupo pequeño de pacientes con umbrales iniciales muy bajos del estudio PEPITES, debían llegar a una dosis acumulada de 444 mg de proteína (260).

El no aumentar las dosis de proteína de la exposición oral oral y no tener que subir tanto el umbral de tolerancia ha podido suponer que, en una muestra tan reducida como la nuestra, con pequeñas variaciones de algún paciente se consiga el objetivo sin que sea siempre debido al tratamiento.

Además, el otro criterio que define ser respondedor, aumentar en diez veces el umbral de dosis desencadenante de síntomas respecto a la exposición oral inicial, puede que no sea un criterio lo suficientemente exigente en una muestra tan pequeña. De hecho, a pesar de que la población a estudio era mucho mayor, en el estudio de Sampson y colaboradores obtuvieron tasas de respuesta en el total del grupo del placebo de hasta el 25% y atribuían la posibilidad de esta respuesta a la metodología de la exposición oral controlada y a este criterio concreto de respuesta preestablecido (261). El aumento en diez veces en las dosis más bajas de las pruebas de exposición puede tener una variabilidad de respuesta que nunca se ha evaluado. En nuestro grupo del placebo, de los cuatro pacientes que respondieron al tratamiento, en tres (75%) fue debido a cumplir el criterio de aumento en diez veces respecto a la dosis de la prueba de exposición oral inicial y de esos tres pacientes, todos habían reaccionado en la provocación inicial a dosis muy bajas, en la segunda o tercera dosis. En el grupo activo, de los seis pacientes respondedores al tratamiento el 50% fue debido al

aumento en diez veces la dosis de la provocación inicial y de los tres pacientes en los que se cumplió este último criterio en dos de ellos se había producido en las dosis más bajas de la provocación. Por lo que esas pequeñas variaciones en dosis tan bajas, junto con el tamaño reducido de nuestra muestra, podría haber hecho que se obtuviera un porcentaje mayor de respondedores de lo que se hubiera esperado solo por el efecto del tratamiento.

Respecto al porcentaje de pacientes respondedores al tratamiento con inmunoterapias que hayan utilizado avellana, encontramos dos artículos publicados en la literatura, uno con ITSL y otro con ITO.

En 2005 Enrique y colaboradores analizaron una población adulta de 23 pacientes con alergia a avellana y aleatorizados a grupo de ITSL avellana o placebo. Tras dos o tres meses de tratamiento el 45% de los pacientes del grupo activo lograron una desensibilización a 20 g de avellana mientras que en el grupo placebo sólo la alcanzaron el 9% (246). Llama la atención la elevada respuesta en el grupo activo a pesar de un tiempo realmente corto de tratamiento y de ser una población adulta, teniendo en cuenta que en la ITA la eficacia se ha logrado en los pacientes más jóvenes (223,262).

Moraly y colaboradores publicaron un estudio de ITO con avellana realizado en población pediátrica, en el que, a pesar de varias limitaciones evidentes, como ser un estudio retrospectivo y sin grupo placebo o control de comparación, se observó una desensibilización, definida como tolerancia de 1635 mg de proteína de avellana, en el 34% de los pacientes tras seis meses de tratamiento (226).

Por lo que, a la vista de estos dos artículos, con la inmunoterapia con avellana se pueden obtener resultados positivos de desensibilización.

Sin embargo, dadas las características de nuestro estudio, el cual difiere de los previamente comentados de EPIT en cuanto al tamaño de la población, la duración del tratamiento, el uso de un dispositivo diferente, junto con que en nuestro trabajo

se está probando un alimento distinto por primera vez, para medir la eficacia del tratamiento se tuvieron en cuenta otras variables. Así, analizamos el aumento en la dosis de proteína desencadenante de síntomas antes y después del tratamiento.

Al analizar las dosis de proteína de avellana desencadenante de síntomas (DUDS y DADS) entre ambos grupos de tratamiento tras los seis meses de inmunoterapia epicutánea con avellana no se encontraron diferencias significativas, a pesar de que las medianas de ambas dosis eran claramente superiores en los pacientes del grupo activo (112,5 mg), sobre todo en el estudio por protocolo, frente a los del grupo placebo (15 mg). Pero al estudiar estos mismos valores dentro de cada grupo de tratamiento y observar la evolución del inicio al final de la EPIT sí que observamos claras diferencias. En el grupo activo la mediana de la DUDS y la DADS aumentaba claramente al finalizar los seis meses de tratamiento y no ocurría lo mismo en el grupo placebo.

Observando los resultados obtenidos dentro de cada grupo de tratamiento, probablemente el que no hayamos encontrado diferencias significativas entre ellos sea por el reducido tamaño de nuestra muestra que es la principal limitación de nuestro estudio.

El aumento de la dosis desencadenante de síntomas en el grupo activo y no en el placebo coinciden con los resultados de los estudios de EPIT con cacahuete, aunque varían en la cantidad de proteína que finalmente alcanzan. En nuestro trabajo el aumento es mucho más modesto que en el resto de ensayos clínicos donde llegan a alcanzar una mediana de dosis de hasta 1211,9 mg de proteína. Estas diferencias no nos sorprenden teniendo en cuenta que nuestro tratamiento sólo se aplicó durante seis meses y en el resto de estudios lo mantuvieron hasta 12 meses.

Otro factor que puede haber influido en haber alcanzado un menor aumento en la cantidad de proteína desencadenante de síntomas podría ser el número de horas que tuvieron nuestros pacientes aplicado el parche. En el estudio de EPIT cacahuete en el que evalúan la eficacia en relación con el tiempo de aplicación del parche, encuentran una correlación positiva entre alcanzar al final del tratamiento una mayor

dosis desencadenante de síntomas y la mayor duración media diaria de aplicación del parche (267). Lo que supone que a mayor tiempo de aplicación del parche más eficacia y por lo tanto hay que tenerlo en cuenta en nuestros resultados dado que los pacientes del grupo activo, comparados con el placebo, tuvieron menos horas al día aplicado el parche.

Este aumento del umbral de reacción secundario al efecto de la inmunoterapia que se produce tanto en nuestro trabajo como en el resto de los comentados, hasta ahora no implicaba una clara relevancia clínica en la vida real. Recientemente se ha demostrado el nivel de protección que proporciona la inmunoterapia oral con cacahuete frente a las reacciones alérgicas a los productos alimentarios que contienen trazas de cacahuetes, con el resultado de que el aumentar el umbral de reacción por encima de una cantidad concreta (300 mg de proteína) reduciría hasta en un 95% el riesgo de presentar una reacción (213). En estudio similar realizado en relación con la EPIT con cacahuete, determinaron una reducción de entre el 73,2% al 78,4% del riesgo relativo de presentar reacciones por ingestas accidentales entre la población del estudio PEPITES que fue tratada con el parche de cacahuete sin observarse ningún cambio significativo en el grupo placebo (302).

Por lo que a la vista de todos estos datos el aumento del umbral de tolerancia puede suponer una clara relevancia clínica en la vida de los pacientes alérgicos a los alimentos.

En la literatura se ha demostrado que la EPIT es un tratamiento con una eficacia menor respecto a la ITO y que precisa más tiempo de administración para conseguirla (271,303). Por lo que llama la atención en nuestra investigación que a pesar de que el tratamiento sólo duró seis meses, se consiguieron diferencias significativas en el grupo activo en el aumento de la DUDS y DADS. Una posibilidad de haber conseguido estos resultados puede haber sido el hecho del uso de una dosis de proteína en el parche mayor que las habitualmente utilizadas. Debido al menor diámetro de nuestro pocillo (8 mm) comparado con el del Viaskin® (18 mm) y que eso supone una disminución del área de contacto del alérgeno con la piel del paciente, junto con que

nuestro parche no tenía una cámara de condensación que podía facilitar la absorción del alérgeno por la piel, decidimos aumentar la cantidad de proteína de la avellana hasta los 500 g, lo que puede haber influido positivamente en ese aumento de valores de DUDS y DADS.

Nuestros resultados de aumento de la dosis desencadenante de síntomas en el grupo de tratamiento activo coinciden con los publicados en la literatura con inmunoterapia con avellana. En el estudio de ITO con avellana comentado previamente de Moraly y colaboradores se evidenció que los pacientes aumentaban la mediana de la DUDS de proteína de avellana de 106 mg a 523 mg (226). Otro estudio publicado recientemente de ITO con avellana en pacientes pediátricos, también retrospectivo y sin grupo control o placebo como el previo comentado, tras seis meses de tratamiento la mediana de la DADS de proteína de avellana aumentó de 12,8 mg a 43,9 mg, de forma significativa (227).

En el estudio de ITSL con avellana no sólo se produjo un aumento significativo de la media de la dosis desencadenante de síntomas de avellana completa en el grupo activo del inicio al final del tratamiento (pasando de 2,29 g a 11,56 g) sino que se observaron diferencias entre activo y placebo en la mediana de la dosis desencadenante de síntomas en la prueba de exposición oral final (246).

Aunque en el estudio de Enrique y colaboradores las dosis las dan en cantidad total de avellana y no en proteína, teniendo en cuenta la cantidad media de proteína que tiene una avellana, parece que nuestros resultados son lo que menos dosis de proteína alcanzan tras el tratamiento, salvo en el estudio de Saboroud y colaboradores que la DADS alcanzada es menor. Sin embargo, dadas las grandes diferencias metodológicas entre los estudios además de que, por supuesto el tipo de inmunoterapia es distinta, no podemos más que sugerir que las inmunoterapias con avellana parecen aumentar el umbral de tolerancia. Este aumento parece más confirmado en la ITSL con avellana, aunque debido al escaso número de pacientes de ese estudio habría que confirmarlo en estudios con una población mayor.

Para ver otros posibles efectos de la inmunoterapia epicutánea, quisimos

estudiar las variaciones en la clínica de las pruebas de exposición oralinales respecto a las iniciales.

No encontramos diferencias entre el grupo activo y el placebo al comparar la mediana de número de grupos de síntomas (orofaríngeos, cutáneos, respiratorios, digestivos) afectos por paciente en la PESCCP inal. Tras analizar en cuánto se había reducido la mediana del número de grupos de síntomas del inicio al inal entre ambos grupos de tratamiento sí había una mayor reducción en el grupo activo, lo que podría sugerir una mejora clínica en los pacientes que habían recibido el parche con avellana.

Al comparar el porcentaje de pacientes cuya gravedad de la reacción en la PESCCP había mejorado del inicio al inal tampoco encontramos diferencias entre ambos grupos de tratamiento, puesto que tanto en el activo como en el placebo mejoraron un porcentaje elevado de pacientes. Esa mejora en la gravedad de la clínica en la prueba de exposición oral inal en ambos grupos de tratamiento ha podido ser debida a la disminución en el número de anafilaxias producidas, que disminuyeron tanto en el grupo activo como en el placebo.

En la bibliografía médica encontramos pocas referencias a la clínica presentada en las pruebas de exposición oralinales tras la EPIT con cacahuete, puesto que no suele ser una variable de estudio. En el estudio VIPES se analizó la mejora de la gravedad en la clínica de la exposición oral inal respecto a la inicial, tras 12 meses de tratamiento con la EPIT con cacahuete, objetivando que tanto en el grupo activo como en el placebo, mejoraron un porcentaje similar de pacientes (261). Aunque es difícil de comparar con los resultados de nuestro estudio por la distinta forma de clasificar la gravedad, también obtuvimos porcentajes similares entre activo y placebo en cuanto a mejora de la gravedad de la clínica.

2. SEGURIDAD DEL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

Además de la eficacia, la seguridad es uno de los factores importantes a considerar a la hora de decidir qué tipo de tratamiento es más conveniente para el paciente. Sobre todo, teniendo en cuenta que la inmunoterapia con alimentos debe administrarse a diario durante un largo periodo de tiempo.

Al igual que en los estudios publicados de EPIT, para evaluar la seguridad registramos los efectos adversos locales y sistémicos presentados por los pacientes. Pero a diferencia de esos estudios, en los que utilizan un diario específico de registro de reacciones y pudieron calcular el número de efectos adversos por paciente y por número de dosis, en nuestra muestra registramos el número de pacientes que habían presentado algún efecto adverso, local o sistémico, a lo largo del tratamiento epicutáneo.

En nuestro trabajo los efectos adversos locales fueron los más frecuentemente presentados por todos los pacientes, sobre todo en el grupo de pacientes del activo, aunque de forma global no presentó diferencias con el grupo placebo. Al estudiarlo por tipo de efecto adverso local (prurito, eritema, eccema y habones), aunque todos fueron frecuentes en ambos grupos de tratamiento, claramente ocurrían más en los pacientes con el parche con avellana, sobre todo las reacciones de eccema y habones.

El encontrar una mayoría de efectos adversos locales era lo esperado, al igual que fueran más frecuentes en el grupo activo, teniendo en cuenta lo publicado en la literatura en los estudios con EPIT (261–263,267). Además, la mayoría de las reacciones locales que presentaron nuestros pacientes fueron leves, igual que en los estudios previamente referidos, y ninguna se clasificó como grave. Un aspecto que puede confirmar la levedad de las reacciones locales presentadas en nuestro trabajo es que menos de la mitad de los pacientes que presentaron estos efectos adversos precisaron tratamiento para controlarlos.

Todos los efectos adversos locales ocurridos durante todo el tratamiento se consideraron relacionados con la EPIT, tanto en el grupo activo como en el placebo.

El haber aumentado la cantidad de proteína de 250 g a 500 g y el uso de un dispositivo cutáneo distinto al Viaskin®, eran los dos factores de nuestro trabajo que más nos diferenciaban de los publicados de EPIT con cacahuete, además de usar un alimento distinto, y que podían influir en los efectos adversos presentados por nuestros pacientes.

A pesar de que previamente ya se habían utilizado dosis de 500 g de proteína en un estudio de seguridad fase 1 en alérgicos a cacahuete (263) y se había tolerado, hay que tener en cuenta que sólo se había probado en adolescentes y adultos y que al tratarse de alimentos distintos la relación entre la cantidad proteica de cada uno y su actividad alérgica no son totalmente comparables, por lo podríamos encontrar resultados distintos en cuanto a seguridad.

Por otro lado, el hecho de que el parche que utilizamos en nuestra investigación no estuviera diseñado como herramienta terapéutica sino diagnóstica y no estuviera pensado para usar a diario durante meses, nos planteaba la duda de que podría aumentar la irritabilidad de la zona de la piel donde se aplicaba de forma repetida. A diferencia de nuestro parche, las propiedades adhesivas del dispositivo Viaskin® estaban diseñadas para ser lo suficientemente fuertes como para proporcionar un nivel aceptable de fijación, pero también para minimizar el dolor y evitar daños al retirarlo de la piel sensible y atópica de los pacientes alérgicos (267).

Pese a estas características distintas de los parches, al comparar los resultados de seguridad de otros estudios de EPIT con el nuestro, no observamos grandes diferencias. Aunque en esos trabajos se puede encontrar gran variabilidad en cuanto al porcentaje de pacientes que presenta efectos adversos locales, los resultados son similares a los nuestros. En alguno de ellos los efectos adversos locales tanto en el activo como en el grupo placebo son muy parecidos a los encontrados en nuestro trabajo y en otros incluso el porcentaje es mayor, como en el publicado por Jones y

colaboradores en el que el 100% y el 88% de los pacientes del grupo activo y placebo respectivamente los presentaron (262,263). El ensayo clínico PEPITES es en el que menor número de reacciones locales se observaron de todos los publicados de EPIT, con sólo un 57,6% de los pacientes del grupo activo y el 27,1% del grupo placebo (260). En todos estos trabajos el dispositivo utilizado y la dosis de proteína es la misma por lo que no parecen la causa de esta variabilidad. En lo que coinciden todos, y nuestros resultados también, es en la mayor frecuencia de efectos adversos locales, sobre todo en el grupo activo. Por lo que no parece que el uso de un parche distinto o de una mayor cantidad de proteína haya producido en nuestro trabajo una mayor cantidad de efectos adversos locales.

Respecto a los efectos adversos sistémicos, en nuestro estudio, de los 15 pacientes (68,2%) que los presentaron, ninguno sufrió una reacción ana láctica ni ninguna reacción considerada grave y no encontramos diferencias entre los efectos adversos sistémicos ocurridos entre ambos grupos de tratamiento. Sí hay que resaltar que, al clasificar por tipo de efecto adverso sistémico, todas las reacciones cutáneas que se produjeron fueron en pacientes del grupo activo, aunque ninguna considerada grave, y esa fue la única diferencia encontrada entre ambos grupos de tratamiento. Coincidiendo con los trabajos publicados de EPIT, no se produjo ningún caso de esofagitis eosinofílica (260–262).

Llama la atención el porcentaje de pacientes de nuestra muestra (45,5%) que presentaron efectos adversos sistémicos de rinitis y/o conjuntivitis comparados con los referidos en el estudio PEPITES que no llega al 2% (260). En nuestro caso no nos resultó extraño ya que la mayoría de esos síntomas fueron debidos a los antecedentes de rinoconjuntivitis alérgica que presentaban los pacientes. En el estudio PEPITES más del 50% de la población tenía antecedentes de rinitis alérgica y no se registró casi ningún efecto adverso de rinoconjuntivitis durante el año que duró el tratamiento.

Todos los pacientes que presentaron efectos adversos sistémicos cutáneos e infecciosos precisaron tratamiento para controlar estos síntomas, al igual que un alto

porcentaje de pacientes con efectos adversos respiratorios, pero ningún paciente precisó la administración de adrenalina a lo largo de todo el tiempo de inmunoterapia. En los trabajos de EPIT el uso de adrenalina es muy bajo, dato que coincide con nuestra investigación y que sugiere una menor gravedad de los efectos adversos sistémicos presentados (260–262).

Al igual que hicimos en el apartado de discusión de eficacia, también quisimos comparar nuestros resultados de seguridad con los publicados con inmunoterapia con avellana, por ver si se asociaban más efectos adversos a este tipo de fruto seco.

De los tres trabajos comentados previamente de inmunoterapia con avellana, al ser dos de ellos retrospectivos fue muy difícil comparar los datos de seguridad por el sesgo de recuerdo. En estos dos estudios presentaron un bajo porcentaje de pacientes con efectos adversos, del 30 al 50% de los pacientes, y sólo en uno de estos trabajos reportaron la aparición de reacciones graves (2,9%) (226,227). El porcentaje de síntomas digestivos en los pacientes que presentaron efectos adversos fue aproximadamente del 20% en ambos estudios, mayor que en el nuestro, aunque un porcentaje habitual en pacientes en tratamiento con inmunoterapia oral (203). En el estudio de ITSL las reacciones se registraron por dosis, por lo que no podemos compararlas con nuestra investigación, pero se produjeron en un porcentaje bajo y fueron sobre todo locales, con sólo tres reacciones sistémicas en todo el seguimiento (246). Por lo que viendo estos resultados no parece que la avellana en sí produzca mayor número de efectos adversos que otros alimentos (203).

Puede ser complicado establecer la relación de las reacciones sistémicas con un parche que se lleva puesto durante 24 horas al día los siete días de la semana, pero al analizar los efectos adversos presentados en nuestra muestra se consideró que sólo en el 50% de los pacientes con reacciones cutáneas y el 8,3% de los pacientes con reacciones respiratorias presentadas podían estar asociadas con el tratamiento epicutáneo (posible, probable o relacionado).

Todas las asociadas con el tratamiento ocurrieron en el grupo activo. De las

tres reacciones cutáneas asociadas con el parche en dos pacientes se produjeron por urticarias de contacto al desprenderse el parche. Las reacciones sistémicas secundarias al contacto con el alérgeno del parche ya se habían descrito en uno de los trabajos de EPIT con cacahuete, en el cual dos pacientes presentaron clínica sistémica tras manipular el parche en el momento de la aplicación en la piel y posterior contacto con las mucosas oral, nasal y ocular (263). A pesar de que en nuestro estudio el parche se desprendió en siete pacientes del grupo activo, sólo dos pacientes presentaron síntomas por ello. Coincide que esos dos pacientes eran de los que más frecuentemente se les desprendían los parches por sudor y de los mayores del grupo activo (11 y 12 años cada uno). En las investigaciones con EPIT la colocación habitual del parche es en la espalda en niños y en la parte superior del brazo en adolescentes y adultos (261,263). De hecho, en el paciente de 11 años que se le desprendía el parche, su madre decidió por su cuenta cambiárselo a la parte superior del brazo y no volvió a despegarse más. Por lo que en estos niños mayores en los que tienen más problemas de sudoración y se les despegan el parche, podría ser una alternativa aplicárselo en el brazo.

De las reacciones respiratorias sólo en un paciente se relacionó con el parche, en el resto de pacientes que las sufrieron se asociaron en su mayoría a sus patologías alérgicas de base, sobre todo rinoconjuntivitis polínica.

Lo que supone que del total de pacientes que tuvieron reacciones sistémicas sólo en tres pacientes (20%) se relacionó con el tratamiento y ninguna de ellas fue considerada grave.

En los artículos publicados sobre EPIT también las reacciones adversas sistémicas relacionadas con el tratamiento son poco frecuentes, la mayoría de carácter leve, moderado y sin grandes diferencias entre activo y placebo (260–262). El número de anafilaxias que se producen con este tipo de inmunoterapia es muy bajo, en nuestro estudio no se produjo ninguna y en el resto de trabajos publicados son excepcionales. En el ensayo clínico PEPITES es donde más anafilaxias se han registrado, de un total de 356 pacientes, en ocho se produjeron diez anafilaxias relacionadas con el parche de cacahuete (260).

Otro aspecto relacionado con la seguridad del tratamiento es el porcentaje de pacientes que tienen que suspender su administración debido a los efectos adversos. Del total de nuestros 22 pacientes sólo uno (4,5%), del grupo activo, tuvo que suspender definitivamente el tratamiento por los efectos locales repetidos. El bajo porcentaje de abandonos debidos al tratamiento coincide con los publicados en la literatura en relación con la EPIT, variando del 1,7% al 3% (260,262,263).

3. CUMPLIMIENTO DEL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

En este tipo de inmunoterapias en las que para alcanzar y mantener la desensibilización se necesita la administración diaria del tratamiento, el cumplimiento es un factor muy importante.

En nuestro trabajo un alto porcentaje de pacientes cumplieron el tratamiento, exactamente el 90,9%.

Este porcentaje es muy similar a los referidos en la literatura relacionados con la inmunoterapia epicutánea, superando en todos ellos el 90% de cumplimiento (260–262). En todos estos estudios el cumplimiento se midió por el número de dosis administradas, puesto que siguieron un registro de las dosis suministradas al paciente y las que devolvían. En nuestro caso, al no tener esa posibilidad, comprobamos el cumplimiento con las respuestas de las encuestas en las revisiones clínicas y sobre todo en las visitas al hospital que hacían los padres cada dos semanas para recoger las dosis. En esas citas quincenales aprovechábamos para animarles a seguir con el tratamiento y recordarles la importancia de su aplicación a diario, así como de mantenerlo el mayor número de horas posibles. Por lo que probablemente este recordatorio continuo a lo largo de los seis meses haya sido muy importante en conseguir el alto cumplimiento.

En nuestra investigación sólo dos pacientes del grupo activo no pudieron cumplirlo, uno debido a efectos adversos locales y otro por olvidos continuados. De los estudios publicados de EPIT cacahuete, en el que más se discontinuó el tratamiento fue en el ensayo clínico PEPITES en el que lo hicieron hasta en el 10,5% del grupo activo y el 9,3% del placebo, aunque el motivo más frecuente fue la retirada del consentimiento informado y no los efectos adversos (260).

Puesto que la recomendación que hacíamos en cuanto al tiempo de aplicación del parche era ponerlo 24 horas diarias, quisimos comprobar cuántos pacientes lograron mantenerlo aplicado esas horas a lo largo del tratamiento.

En la muestra total, aproximadamente la mitad de los pacientes (54,5%) se lo consiguieron poner durante todo el día, pero al ver las diferencias entre ambos grupos de tratamiento pudimos observar que en el grupo activo sólo un bajo porcentaje de pacientes (25%) se lo habían aplicado las 24 horas mientras que en el grupo placebo fue la mayoría de pacientes (80%) los que lo mantuvieron todo el día. Llama la atención que durante los tres primeros meses de tratamiento el porcentaje en ambos grupos era similar y fue en la segunda mitad del tratamiento cuando se produjeron más diferencias. La mayoría de las incidencias que llevaron a disminuir el tiempo de aplicación del parche ocurrieron en los pacientes del grupo activo, pero a pesar del elevado número de pacientes que presentaron reacciones locales sobre todo en el grupo con el tratamiento con avellana, los efectos adversos no fueron la causa más frecuente por la que se disminuyó ese tiempo de aplicación. Los motivos más frecuentes fueron los desprendimientos del parche y sorprendentemente las vacaciones de verano. Los padres de cinco pacientes del grupo activo y uno del placebo solicitaron aplicar el parche durante menos tiempo por la incomodidad que les suponía a los pacientes llevarlo en la playa con la arena y el mar. Al ser una muestra tan pequeña, el que algún factor externo no relacionado con el tratamiento se de en algún grupo por azar puede influir en los resultados, pero es una limitación del estudio conocida.

El tiempo de aplicación del parche puede influir en la cantidad de proteína del alimento que se traspasa a la piel. En esta línea se llevó a cabo un trabajo, a partir del estudio PEPITES, en el que quisieron medir la cantidad de proteína residual de cacahuete que quedaba en el parche Viaskin® a lo largo de las horas de aplicación en la piel (273). Objetivaron que, de la segunda a la duodécima hora, se evidenciaba una bajada importante de la cantidad de proteína de cacahuete que quedaba en los parches y a partir de las 12 horas la cantidad de proteína que quedaba en el parche estaba por debajo de los límites de medición. Por lo que se supone que es en las primeras 12 horas donde más se produce el traspaso de proteínas del parche a la piel del paciente. Teniendo en cuenta estos resultados, se podría sugerir que, a pesar de que la mayoría de nuestros pacientes del grupo activo se aplicaron el parche durante 12

horas a lo largo del estudio, sería suficiente para que la mayor parte de la proteína de avellana fuera depositada en la piel del paciente. Sin embargo, en nuestro parche la forma de liberar el alérgeno es totalmente distinta al parche del artículo comentado. En el parche Viaskin® el alérgeno en seco está pegado electrostáticamente a la membrana central del parche, posteriormente se produce una condensación dentro de la cámara con la consiguiente solubilización del alérgeno que pasa a la piel del paciente (266). En nuestro parche el alérgeno está mezclado de forma homogénea con una crema base y esa crema está en contacto directo con la piel en todo momento. No sabemos el porcentaje de absorción de las proteínas de avellana a través de la piel a lo largo de las horas, pero podría ser continuo durante las 24 horas y a partir de las 12 horas de aplicación seguir absorbiendo cantidades importantes de proteína, en ese caso sí que podría influir en el resultado el hecho de que los pacientes llevaran menos horas el parche.

Ya que nuestro parche tenía unas características distintas al habitualmente usado en los estudios de EPIT cacahuete, quisimos evaluar en cuántos pacientes se había presentado algún episodio de desprendimiento del parche, ya que podría ser un factor relacionado con el cumplimiento del tratamiento. Aunque a los pacientes no se les había proporcionado un diario donde apuntar estos acontecimientos, como cada dos semanas sus padres tenían que venir al hospital a recoger más parches y jeringuillas se les preguntaba específicamente por estos posibles problemas. En el 68,2% de los pacientes del estudio se les desprendió el parche en alguna ocasión, sin diferencias entre ambos grupos de tratamiento. En la mayoría de los pacientes lo referían de forma excepcional, pero en seis de ellos se despegó más frecuentemente, al menos en cuatro ocasiones. En principio el parche que utilizamos, aunque con objetivo diagnóstico, estaba diseñado para llevarlo puesto dos o tres días seguidos, con alta resistencia al agua y al sudor y por lo tanto tenía una gran capacidad adhesiva. Sin embargo, para que fuera más fácil el manejo y la aplicación para el paciente decidimos reducir la longitud del parche. El recortar la superficie del parche de diez pociños a sólo uno o dos supuso una superficie menor para adherir a la espalda y aunque más cómodo para el paciente, pudo empeorar la adhesividad. Además, la mitad

del tratamiento incluía meses de verano, y con el calor y el sudor algunos pacientes empezaron a comentarnos que se les despegaba alguna de las esquinas del parche, aunque sin llegar a desprenderse. De hecho, el calor y el sudor, fue la causa más frecuente referida en los seis pacientes en los que más se les despegaba el parche. Por lo que esta razón junto con haber modificado el parche original parecía influir en que se desprendiera. El que se pueda despegar el parche incluso ocurre con el parche Viaskin®, que está diseñado específicamente para este tipo de tratamiento. En la bibliografía médica hay un trabajo en el que se ha analizado cómo puede influir el retirar el parche antes del tiempo recomendado en la respuesta al tratamiento (267). De los resultados que aportan se evidencia que en al menos el 89% de los pacientes se retira el parche antes de las horas aconsejadas. Aunque una de las razones por las que se puede retirar el parche se especifica que es el desprendimiento involuntario del parche, no enumeran el porcentaje de pacientes a los que les ocurre, por lo que no podemos compararlo con nuestro estudio y ver si existen diferencias que podrían deberse a la diferente capacidad de adhesividad de los parches.

Otro aspecto importante en el cumplimiento del tratamiento es la continuidad en la aplicación. En el ensayo clínico PEPITES se monitorizaba a los pacientes para conseguir que se administraran el parche al menos el 80% de los días (260). Coincidiendo este resultado con el nuestro, en el que de todos los pacientes que cumplieron el tratamiento se administraron el parche al menos el 83,3% de los días. Uno de los motivos para no administrarse el parche en nuestra muestra fueron los olvidos, pero en más del 80% de los pacientes realizaron el tratamiento a diario o como mucho con olvidos de una o dos veces al mes, sin diferencias entre ambos grupos de tratamiento, lo que supone una alta adhesión a la inmunoterapia.

La preparación del parche ha sido otro factor en nuestro trabajo que ha influido en la continuidad de la administración y que no se ha dado en los trabajos publicados puesto que el parche Viaskin® ya está preparado para su uso. En nuestro caso los padres de los pacientes debían preparar cada día el parche, administrando la dosis correcta de la crema con o sin extracto de avellana en el pocillo. Para lo cual se les había enseñado previamente a todos ellos cómo hacerlo. El problema surgía

cuando los pacientes se iban de viaje unos días sin sus padres y no había ningún adulto entrenado para hacerlo. Esto supuso un cese temporal de la administración del parche en algunos pacientes que, aunque en ningún momento superó las dos semanas, nunca se hubiera producido en el caso del uso del parche Viaskin® el cual, como ya hemos comentado, estaba preparado para su uso y cualquier adulto podría aplicárselo al paciente.

4. PERCEPCIÓN Y SATISFACCIÓN DEL TRATAMIENTO POR PARTE DE PACIENTES Y FAMILIARES

Al utilizar una forma de inmunoterapia con alimentos tan novedosa, con una vía de administración tan distinta a las previamente utilizadas y de la que había tan poca experiencia reseñada en la literatura, nos pareció fundamental el conocer la opinión de los pacientes y de sus padres sobre ella, ya que en definitiva los pacientes son el centro de todo nuestro trabajo.

Para conseguir datos sobre la satisfacción con el tratamiento utilizamos la versión española del cuestionario modificado sobre la satisfacción con el medicamento, por lo que las preguntas no estaban realmente pensadas para un tipo de tratamiento como la inmunoterapia epicutánea con alimentos. A pesar de ello nos permitió obtener datos aproximados de la opinión de los pacientes y sus padres.

La mayoría de los padres no creían que sus hijos tuvieran problemas con el parche, pero al preguntar a los pacientes, los del grupo placebo eran de la misma opinión que sus padres, pero casi todos los del grupo activo que contestaron la pregunta sí refirieron problemas.

De las respuestas de padres y pacientes sobre si llevar el parche puesto todo el día afectaba a las actividades diarias habituales de deporte y atención en clase, pudimos percibir que no les afectaba y que ningún paciente tuvo que interrumpir sus actividades deportivas por llevar el parche. Por lo que el llevar el parche era lo suficientemente cómodo para seguir con su rutina habitual.

Casi todos los padres y pacientes pensaban que el uso del parche y la organización para llevarlo puesto era fácil, y los dos pacientes a los que les pareció más complejo fueron el paciente del grupo activo que presentó efectos adversos locales repetidos y al final hubo que suspenderle el tratamiento, y un paciente del grupo placebo que tenía muchos problemas diarios al despegarle el parche de la espalda.

La mayoría de padres y pacientes creían que este tratamiento era bueno para su alergia y estaban contentos con él. Sólo un paciente manifestó estar disgustadísimo con el parche, el mismo del grupo placebo que reñó problemas y que el uso del parche le pareció difícil por los problemas al despegarlo.

Al analizar el tratamiento la mayoría de las opiniones de de los padres como la de los pacientes eran muy buenas, puesto que referían estar contentos o muy contentos con el parche. De nuevo el paciente del grupo placebo que había tenido problemas al despegar el parche respondió de forma distinta al resto, reñó estar disgustadísimo, pero aún así cumplió el tratamiento en todo momento y no quiso suspenderlo.

Otro aspecto que nos pareció muy importante fue comprobar cómo afectaba a los pacientes la opinión de los demás al verles con el parche. Aunque se lo aplicaban en la espalda y estaba cubierto todo el día con la ropa, había muchas situaciones en las que el parche quedaba a la vista como en las clases de natación, actividades deportivas en las que había que cambiarse de ropa previamente, campamentos de verano y vacaciones en la playa. De los 22 pacientes sólo a dos (9,1%) les afectó lo que decían sus compañeros y en uno de ellos hasta se tuvo que variar el tiempo de aplicación del parche para evitar que coincidiera el llevarlo puesto cuando hacía actividades deportivas con sus compañeros. Aunque es un porcentaje muy bajo de pacientes afectados, es muy importante preguntarles a los niños cómo se sienten, puesto que tienen que aplicarse el parche a diario y hay que intentar que en todo momento se encuentren cómodos para favorecer la continuidad de la terapia.

En la literatura hay un artículo de 2021 sobre la mejora de la calidad de vida tras el tratamiento epicutáneo con cacahuete en el que se evidencia que mejora (274), pero no hemos encontrado nada publicado con EPIT respecto a la satisfacción con el tratamiento.

Buscando algo parecido encontramos un artículo de ITO con avellana, que hemos comentado previamente en los apartados de eficacia y seguridad, en el que

se les realizó una encuesta no validada sobre la aceptación y satisfacción con el tratamiento a los padres y pacientes. Aunque algunas preguntas diferían de las nuestras porque se centraban en la ingesta de la avellana a diario, dos de las cuestiones eran sobre la satisfacción con la ITO y si pensaban que era efectiva para su alergia. A ambas preguntas respondieron positivamente con altas puntuaciones, resultados similares a los nuestros (227).

La última parte del cuestionario que rellenaron los padres fue sobre la facilidad en la preparación y el manejo del parche. Aunque inicialmente se intentó suministrar a los padres todas las dosis preparadas, las dudas sobre la viabilidad del producto en crema en el pocillo durante dos semanas, la posibilidad de que se perdiera parte de la dosis durante ese tiempo o que hubiera reacciones accidentales por la manipulación al tener tantas dosis preparadas en domicilio nos hizo desechar esa idea. Finalmente se decidió enseñar a los padres a preparar todos los días el parche y fueron entrenados para ello.

A pesar de la dificultad inicial que podría suponer, a la inmensa mayoría de los padres les pareció fácil o muy fácil. La fase de la preparación que les parecía más compleja era despegar el film del parche para pegarlo posteriormente a la piel. Sin embargo, no hubo ningún problema a lo largo del tratamiento en relación con la preparación y manejo del parche y todos los padres acudieron cada dos semanas a recoger las dosis correspondientes. Por lo que, aunque la técnica de preparación de nuestro parche es mucho más compleja para los padres que la del Viaskin® no supuso una dificultad para su administración y el cumplimiento del tratamiento, como se ha visto en el apartado anterior específico, es similar en nuestro estudio que en los publicados en la literatura (260–262).

5. CAMBIOS INMUNOLÓGICOS PRODUCIDOS TRAS EL TRATAMIENTO EPICUTÁNEO

De los artículos publicados en relación con la EPIT con alimentos, los principales objetivos han sido la eficacia y seguridad y salvo en el estudio de Jones y colaboradores de 2017 (262), donde se hizo una evaluación exhaustiva de los cambios inmunológicos relacionados con el tratamiento, en el resto de estudios la atención en los cambios inmunológicos se ha centrada en menos variables (260,261).

A pesar del tamaño de nuestra muestra, teniendo en cuenta que la EPIT es un tratamiento novedoso del que queda mucho por conocer, quisimos profundizar en algunos de los posibles cambios inmunológicos que se pueden dar con el uso de esta inmunoterapia. Para ello llevamos a cabo en todos los pacientes, además de los procedimientos habituales de pruebas cutáneas, IgE específica e IgG4 específica, el test de activación de basófilos.

Nuestras mediciones de SPT y SPPT tanto dentro de cada grupo a lo largo del tratamiento como entre ellos al finalizar los seis meses de inmunoterapia no mostraron ninguna diferencia relevante. Aunque en los artículos publicados de EPIT no realizaron un análisis estadístico de la variable de prueba cutánea en *prick*, sí que evidenciaron que a lo largo del tratamiento el diámetro de la pápula del *prick* disminuía en el grupo activo y no ocurría en el grupo placebo (260–262). En nuestro caso no se produjo ese descenso. La medición del SPT refleja la actividad de los mastocitos cutáneos, y como células efectoras en la alergia a alimentos es esperable que, tras un proceso de inmunoterapia, disminuyan su reactividad y por lo tanto el diámetro de la prueba cutánea se reduzca. Sin embargo, hay que tener varios aspectos en cuenta. En general, los estudios sobre la inmunoterapia con alimentos, tanto oral como sublingual, indican que la desensibilización clínica progresa más rápido que los cambios en la reactividad de los mastocitos de la piel, como demuestran consiguiendo umbrales de tolerancia mayores antes que la disminución en el tamaño del *prick* (220,232,304). Además, los mastocitos de la piel pueden vivir durante meses y pueden tardar sema-

nas en cambiar la capacidad de respuesta a los antígenos reconocidos por la IgE unida a la célula, en comparación con los basó los que sólo viven unos días y los cambios pueden realizarse antes (305,306). Estas consideraciones sugieren que la pérdida de respuesta cutánea, secundaria a los mastocitos de la piel, se pueda producir de forma más tardía que el desarrollo de la respuesta de aumento en el umbral de dosis desencadenante de síntomas, que puede ser más reflejo de los cambios en los basó los. El hecho de que nuestra inmunoterapia sea epicutánea, con menor dosis de proteína administrada comparada con la ITO o ITSL, y que se realizara durante un periodo de tiempo más reducido que los publicados con EPIT puede haber influido también en no haber alcanzado una clara disminución en las pruebas cutáneas. Además, según los resultados comentados en apartados previos respecto al tiempo de aplicación del parche de los pacientes, en los últimos tres meses de tratamiento los pacientes del grupo activo disminuyeron el tiempo de aplicación diario del parche y la mayoría sólo se lo aplicaban 12 horas al día. Esta disminución del tiempo en el que el extracto de avellana estaba en contacto con la piel también puede haber influido en alargar el tiempo en el que se consigue desensibilizar al mastocito cutáneo y así reducir los valores de las pruebas cutáneas.

Respecto a los parámetros medidos *in vitro*, no encontramos diferencias significativas en las mediciones de la IgE específica a avellana a lo largo del tratamiento. En los trabajos de inmunoterapia con alimentos se observa un aumento de los valores de IgE específica en los primeros meses de tratamiento y posteriormente un descenso progresivo, aunque el aumento inicial suele ser más marcado en aquellas inmunoterapias en las que la dosis de alérgeno administrada es mayor, como la ITO (286,307). En nuestro estudio, al igual que en los publicados de EPIT (260–262), se evidencia un aumento de la IgE específica en el grupo activo, aunque en nuestro caso es un muy leve aumento que podría estar condicionado tanto por la corta duración de la inmunoterapia como por la circunstancia comentada previamente sobre la disminución en el tiempo de aplicación del parche en la segunda mitad del tratamiento.

Como respuesta a la inmunoterapia los valores de la IgG4 específica suelen aumentar, situación que quisimos analizar en nuestra investigación. A lo largo del

tratamiento epicutáneo se con rmaron valores más altos en el grupo activo respecto al placebo. Siendo evidente el aumento a lo largo de los seis meses de tratamiento en el grupo del parche con avellana al tener valores más altos al final respecto al inicio de la inmunoterapia. Curiosamente observamos que, en este grupo, tras un aumento importante de los valores en los tres primeros meses de tratamiento, en la medición final disminuyeron, aunque los valores seguían siendo superiores a los del inicio. La interrupción de esa tendencia de aumento podría ser debida a la disminución en el tiempo de aplicación del parche, pasando de 24 horas a 12 horas en la mayoría de los pacientes del grupo activo. El tener menos tiempo el estímulo constante del extracto de avellana en la piel del paciente podría haber detenido ese ascenso progresivo de la IgG4.

En los trabajos de EPIT cacahuete se apreció el mismo aumento de la IgG4 en el grupo activo a lo largo del tratamiento, y en alguno de esos estudios incluso se evidenciaron diferencias significativas entre activo y placebo, con valores mucho mayores al final del tratamiento en el grupo de parche de cacahuete comparado con el grupo placebo, sugiriendo que la inmunoterapia epicutánea está produciendo cambios inmunológicos (262).

El que nosotros no obtuviéramos diferencias significativas entre ambos grupos de tratamiento podría deberse a la corta duración de la inmunoterapia. En los estudios de inmunoterapia con alimentos, incluido en el comentado de Jones y colaboradores, se objetiva que los niveles de IgG4 siguen aumentando en el grupo activo durante todo el tratamiento. Por lo que en el caso de que hubiéramos continuado la EPIT hasta los 12 meses, podría haber proseguido el aumento de la IgG4 y los resultados podrían haber variado, pero habría que con rmarlo en un estudio con una duración mayor de la inmunoterapia.

En el único estudio de EPIT cacahuete que hemos encontrado en el que se analice la ratio IgG4/IgE específica, demuestran que en el grupo activo la relación entre ambas inmunoglobulinas está claramente aumentada en el grupo activo de tratamiento comparada con la del grupo placebo, indicando, como con el aumento de

IgG4, que es otro efecto de los cambios inmunológicos producidos por la EPIT (262). En nuestro trabajo no obtuvimos el mismo resultado, probablemente por el mismo motivo por el que no encontramos diferencias entre activo y placebo en los valores de la IgG4 específica, la corta duración de nuestro tratamiento, que no hizo posible conseguir un mayor aumento de los valores de IgG4 y por lo tanto la ratio tampoco aumentó.

EL TAB es una herramienta diagnóstica que en los últimos años se está utilizando para monitorizar la respuesta a la inmunoterapia a alimentos. Sin embargo, al ser una prueba compleja y que requiere una serie de medios y personal formado para llevarla a cabo no se usa en la práctica clínica habitual. En nuestra investigación incluimos esta prueba *in vitro* puesto que, dada la corta duración de nuestro estudio, nos pareció la más adecuada para medir posibles cambios inmunológicos que suelen aparecer en las fases más iniciales de la inmunoterapia como son la disminución de la actividad de las células efectoras, entre las que se encuentran los basófilos.

En la literatura hemos encontrado un trabajo de EPIT con alimentos en el que utilizaron esta prueba para monitorizar el tratamiento (262). En el cual solo se observaron diferencias significativas a lo largo del tiempo con una de las dosis más bajas de estimulación de cacahuete al evaluar el efecto global del tratamiento con los parches con proteína de cacahuete, pero no entre grupo activo y placebo. Aún así, concluyen que los resultados observados en la disminución de la respuesta de la activación de los basófilos sugieren que la EPIT con cacahuete a través de la piel intacta podría modular la reactividad de los basófilos.

En nuestro trabajo, sólo utilizamos una concentración de avellana para valorar la reactividad de los basófilos y comparamos la diferencia entre porcentaje de basófilos activados a lo largo del tratamiento tanto dentro de cada grupo como al analizar los seis meses de EPIT entre activo y placebo. Encontrando diferencias estadísticamente significativas en ambos análisis. En el grupo activo observamos una clara disminución del porcentaje de basófilos activados al analizar el tratamiento, resultado que no se evidenció en el grupo placebo.

Además, pudimos comprobar que, al analizar el tratamiento, en el grupo activo la activación de los basó-filos era mucho menor que en el grupo placebo y aunque al hacer el análisis por intención de tratar sólo se observaba una tendencia, al hacerlo por protocolo y descartar a los dos pacientes que no realizaron el tratamiento hasta el final, la diferencia se hizo significativa. A pesar de la limitación del número de pacientes incluidos en nuestro estudio, estos resultados parecen sugerir una reducción en la actividad de los basó-filos como resultado del efecto del tratamiento epicutáneo.

El que nosotros hayamos observado diferencias entre los grupos de tratamiento activo y placebo y en el estudio de Jones y colaboradores no, a pesar de haber realizado un tratamiento más largo, puede deberse a diversos factores tanto de la prueba en sí como del estudio. El alimento utilizado en ambos estudios es distinto, avellana y cacahuete, aunque se ha comprobado en otros estudios de inmunoterapia con alimentos distintos como cacahuete, leche y huevo que se produce una disminución de la reactividad de los basó-filos al analizar el tratamiento (69,70,308). Otra diferencia es que, en nuestra prueba de activación de basó-filos solo probamos una concentración de proteína de avellana para medir la reactividad de los basó-filos, mientras que en su estudio utilizaron varias concentraciones seriadas. Dado que el TAB no se usa de forma rutinaria, tanto los procedimientos de laboratorio como las concentraciones de alérgenos usadas deberían estandarizarse para poder reforzar su uso como herramienta diagnóstica y de monitorización de inmunoterapias con alimentos y poder hacer comparaciones más fáciles entre estudios. Probablemente estas diferencias metodológicas que encontramos entre nuestros trabajos influyen en los resultados obtenidos.

Pero también hay que tener en cuenta otra diferencia entre ambos estudios que es la cantidad de proteína utilizada en los parches. Aunque ya hemos comentado previamente que no se puede comparar exactamente por ser alimentos distintos, nuestro tratamiento se realizó con 500 µg de proteína de avellana y en el de Jones y colaboradores se hicieron dos grupos de tratamiento activo con un máximo de 250 µg de proteína de cacahuete. La cantidad de proteína administrada a diario es muy importante a la hora de obtener resultados tanto clínicos como de cambios inmunoló-

gicos. Estas diferencias se hacen evidentes entre las distintas formas de inmunoterapia con alimentos, aquellas que administran cantidades más altas de proteína al paciente, como la ITO, son las que mayor eficacia obtienen (243). Por lo que el hecho de haber duplicado la dosis de proteína en nuestro parche y exponer al paciente a una dosis mayor a diario podría ser una de las causas de haber conseguido cambios significativos en la reactividad de los basófilos.

6. PERFIL DE RECONOCIMIENTO A LAS DISTINTAS PROTEÍNAS DE LA AVELLANA

En la alergia a la avellana se han descrito diferentes perfiles de sensibilización dependiendo de la región geográfica y de la edad del paciente.

En las zonas con alta exposición al polen de abedul, norte y centro de Europa, la alergia a la avellana se correlaciona principalmente con la sensibilización a Cor a 1, homólogo de Bet v 1, que suele causar síntomas leves, principalmente síndrome de alergia oral, mientras que en las regiones mediterráneas la sensibilización dominante es la LTP de la avellana, Cor a 8, asociándose a síntomas más graves (115,309).

Teniendo en cuenta estos perfiles descritos, lo esperado sería encontrar una sensibilización predominante a Cor a 8 en nuestra muestra de alérgicos a la avellana, sin embargo, sólo un 31,8% de los pacientes presentaban esta positividad. Los alérgenos más relevantes fueron Cor a 9 y Cor a 14 con un 86,4% de positividades cada uno de ellos, seguidos de Cor a 11 con un 81,8%. El alérgeno que produjo menos sensibilizaciones fue Cor a 1, reconocido sólo por el 18,2% de los pacientes.

En España, la LTP es el alérgeno más implicado en la alergia a alimentos de origen vegetal y, concretamente, en la alergia a frutas de la familia *Rosaceae*, Pru p 3 (la LTP del melocotón) es el principal sensibilizador (310). Tanto los estudios de Hartz y colaboradores como los de Schulten y colaboradores, han concluido que Pru p 3 es el sensibilizante primario de otras LTP de una gran amplitud de alimentos derivados de plantas no relacionadas botánicamente, incluyendo la avellana. Por lo que la sensibilización a Cor a 8 ocurriría de forma secundaria a una sensibilización a Pru p 3, la cual suele encontrarse en pacientes alérgicos a melocotón en el área mediterránea (108,311). En nuestra población a estudio, siete pacientes (31,8%) eran también alérgicos a frutas, de los cuales todos menos uno, tenían un *prick* positivo a LTP (Pru p 3). Lo que supone que un 27,3% de nuestra muestra tenía alergia a frutas con una sensibilización a Pru p 3, y esta podría ser el sensibilizante primario de las Cor a 8 encontradas.

Otro aspecto que nos hace pensar que en nuestra población la LTP de la avellana puede que no sea tan relevante es que no encontramos ningún paciente monosensibilizado a Cor a 8, todos los que presentaban positividad a Cor a 8, salvo un paciente que estaba cosensibilizado a Cor a 1, tenían cosensibilización a alguna proteína de reserva. De hecho, el 95,5% de los pacientes de nuestra muestra presentaban sensibilización a alguna de las proteínas de reserva y hasta en 54,5% de los pacientes estaban monosensibilizados a proteínas de almacenamiento.

Sin embargo, hay otro factor importante a tener en cuenta que puede influir en los perfiles de sensibilización encontrados en los pacientes alérgicos a avellana y es la edad de los pacientes.

En los trabajos realizados en áreas de alta exposición al polen de abedul, se han observado diferencias en los perfiles de sensibilización en función de la edad del paciente. En un estudio belga de De Knop y colaboradores el 65% de los preescolares y el 50% de los escolares con reacciones sistémicas a avellana tenían Cor a 9 positivo comparado con el 17% de los adultos con reacciones sistémicas (116). En el artículo publicado por Masthoff y colaboradores, realizado en Holanda, comparaba el perfil de sensibilización entre niños y adultos alérgicos a avellana que habían presentado síntomas objetivos y evidenciaron que el 83% y 70% de los niños y el 36% y 39% de los adultos estaban sensibilizados a Cor a 9 y Cor a 14 respectivamente. Demostrando una mayor sensibilización a proteínas de reserva en niños comparada con adultos (312). El porcentaje de sensibilización a Cor a 9 de este estudio es muy similar al encontrado en nuestra población, y aunque un poco menor el de Cor a 14, los resultados concuerdan con los nuestros.

Respecto al factor edad y la sensibilización a Cor a 8, la mayoría de estudios en los que se confirma el papel relevante de ese alérgeno en el área mediterránea están realizados en adultos (56,120,121,133). Mientras que, en trabajos realizados en niños de países del sur de Europa, el perfil de sensibilización encontrado es distinto. Buyuktirykaki y colaboradores analizaron el perfil de sensibilización mediante ImmunoCAP® en 56 niños con sospecha de alergia a avellana, de los cuales 32 se confir-

ron como alérgicos a la avellana. En el grupo de alérgicos se observó un predominio de sensibilización a las proteínas de reserva, datos que concuerdan con los nuestros, con porcentajes para Cor a 9 del 73,1% y para Cor a 14 del 96,2%. Cor a 1 fue también el alérgeno menos relevante con un 13,8% de positivos y Cor a 8 fue positivo en el 42,9% (117). Otra investigación en la que confirman el importante papel de las proteínas de reserva en la alergia a avellana como en la nuestra, es la realizada en Italia por Carraro y colaboradores, en la que destacan la importancia de Cor a 9 y Cor a 14, pero no Cor a 1 o Cor a 8, en el grupo de niños alérgicos (118).

En España se ha publicado recientemente un estudio multicéntrico realizado en niños alérgicos a frutos secos en el que se ha analizado el debut de la alergia a los frutos secos y el perfil de sensibilización (8). Dentro del grupo de alérgicos a avellana (22 pacientes) encontraron casi un 40% de positividades a Cor a 9, casi un 40% de positividades a Cor a 8 y un 9% a Cor a 1. Llama la atención que a pesar de ser una muestra española como la nuestra, los datos varíen tanto en cuanto a la positividad a las proteínas de reserva. Sin embargo, hay que tener en cuenta que en su trabajo sólo utilizaron el ISAC® 112 como método de diagnóstico *in vitro*, en el que no estaba incluido Cor a 14 ni Cor a 11. En nuestro estudio, el porcentaje de positivos a Cor a 9 aumentó al usar la técnica de ImmunoCAP®, pasando de un 18,2% de positivos por ISAC® al 81,8%. Curiosamente, con la técnica ISAC® encuentran un porcentaje de positividades a Cor a 9 mayor que en nuestra muestra, pero puede deberse al punto de corte elegido para considerar positivo el resultado, en nuestro caso se determinó el punto de corte positivo a partir de 0,30 ISU y en el suyo a partir de 0,10 ISU. Otra diferencia que puede influir en los distintos resultados obtenidos es el método diagnóstico utilizado para confirmar la alergia a avellana, todos los pacientes de nuestra población habían sido diagnosticados por medio de una prueba de exposición oral controlada, mientras que en su trabajo se hacía por historia clínica compatible y sensibilización positiva, y sólo en un porcentaje muy pequeño del total de pacientes (3,8%) el diagnóstico se confirmó tras la prueba de exposición oral. Por lo que se podría haber incluido algún paciente que realmente no era alérgico y por tanto produciendo variaciones en el perfil de sensibilización encontrado.

Un aspecto a resaltar de nuestra investigación es el análisis de la vicilina 7S, Cor a 11. La sensibilización a Cor a 11 fue comunicada por primera vez por Lauer y colaboradores (111), que describieron su sensibilización en aproximadamente el 50% de un grupo de 65 pacientes adultos con alergia a avellana de Alemania y Suiza, aunque no se pudieron confirmar estos datos en otro trabajo posterior multicéntrico europeo, en el que sólo se encontró un 2% de sensibilización (309). En 2012 Vierweij y colaboradores hicieron un estudio con 40 pacientes alérgicos a avellana, 22 niños en edad preescolar, 10 escolares y ocho adultos, que habían presentado reacciones sistémicas y estaban sensibilizados a Cor a 11 en un 36%, 40% y 12,5% respectivamente (125). Estos porcentajes están muy por debajo del 81,8% encontrado en nuestra muestra. En un estudio de Blanc y colaboradores (120) realizado en varias ciudades europeas, Estrasburgo, Atenas, Madrid y Zurich, se describe como un alérgeno menor reconocido sólo por los pacientes de los países mediterráneos. Teniendo en cuenta que en nuestra investigación se observa una amplia sensibilización a esta vicilina 7S, deberían realizarse más estudios para averiguar su papel en los pacientes alérgicos a la avellana.

Por lo tanto, nuestros resultados concuerdan con la mayoría de los artículos publicados en la bibliografía médica, con predominio de sensibilización a proteínas de reserva en población pediátrica independientemente de la región geográfica.

VII. Limitaciones y fortalezas

1. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Las principales limitaciones de este estudio fueron las siguientes:

- Tamaño reducido de la muestra
- Escasa duración de la inmunoterapia epicutánea
- Realización del tratamiento en simple ciego controlado con placebo

Las tres limitaciones fueron debidas principalmente a los medios reducidos de los que disponíamos para llevar a cabo el proyecto, tanto económicos como de recursos humanos, así como a la complejidad del método de la inmunoterapia epicutánea.

El incluir un número tan reducido de pacientes en la investigación fue debido a que la inmunoterapia epicutánea utilizada resultó una técnica muy compleja. Todos los artículos publicados con este tipo de tratamiento para la alergia a los alimentos se han realizado con un dispositivo patentado no comercializado al que no teníamos acceso. Por lo que, para llevar a cabo nuestro trabajo se tuvo que idear un nuevo dispositivo el cual se elaboró de forma manual e individualizada para cada paciente.

La razón fundamental de la duración de solo seis meses del tratamiento ha sido la escasez de recursos económicos para ejecutar el proyecto debido a la complejidad del procedimiento. Se ha de recordar que para poder llevar a cabo el trabajo con pacientes pediátricos se precisó, a instancias del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Paz, una póliza de responsabilidad civil. Dicha póliza tenía un periodo de caducidad anual, que se puede consultar en el apartado de anexos, por lo que en ese espacio de tiempo debían realizarse tanto el tratamiento con los parches como las pruebas de exposición oral controladas iniciales y finales.

2. FORTALEZAS DEL ESTUDIO

Las principales fortalezas de este estudio fueron las siguientes:

- Ha sido el primer estudio de inmunoterapia epicutánea con alimentos efectuado en población pediátrica española y el primero llevado a cabo con avellana
- No se produjeron pérdidas de pacientes a lo largo de la investigación, pudiéndose recoger todas las variables planteadas
- El cumplimiento del tratamiento fue muy elevado
- Se llevó a cabo un estudio inmunológico que incluía el test de activación de basófilos, que por su compleja metodología no se suele llevar a cabo de forma habitual en los estudios de inmunoterapia con alimentos
- Se ha diseñado un nuevo dispositivo de parche que abre las puertas a una posible patente

Gracias a las fortalezas del estudio, y a pesar de las limitaciones, se ha conseguido información valiosa sobre una nueva forma de tratamiento para la alergia a alimentos en una población española, tanto a nivel clínico como inmunológico.

VIII. Conclusiones

A partir de los objetivos de este estudio y los resultados obtenidos podemos concluir que:

1. El tratamiento epicutáneo con 500 µg de proteína de avellana en nuestra muestra de pacientes pediátricos alérgicos a este fruto seco, ha conseguido aumentar de forma significativa el umbral de tolerancia a la avellana. Aunque no se han observado diferencias significativas entre ambos grupos de tratamiento (activo y placebo) los resultados obtenidos en el grupo activo sugieren que esta inmunoterapia puede ser una forma eficaz de tratamiento
2. La inmunoterapia epicutánea con 500 µg de proteína de avellana en nuestra muestra de pacientes pediátricos alérgicos a este fruto seco, ha demostrado ser un tratamiento seguro puesto que la mayoría de los efectos adversos presentados han sido sólo locales, ninguna de las reacciones presentadas (ni locales ni sistémicas) han sido graves y no se ha producido ninguna reacción anafiláctica. Además, no se han evidenciado diferencias significativas entre los efectos adversos presentados en el grupo de tratamiento activo y placebo y sólo un paciente ha tenido que suspender el tratamiento por reacciones locales repetidas.
3. El tratamiento epicutáneo llevado a cabo en nuestro estudio lo ha realizado correctamente el 90,9% de nuestra muestra, lo que supone un muy alto nivel de cumplimiento.
4. En nuestro trabajo el uso del parche no ha supuesto una interferencia en las actividades habituales de los pacientes, no han presentado grandes molestias a pesar de los problemas que les haya podido causar en un subgrupo pequeño de pacientes y les ha parecido fácil tanto el uso como la organización necesaria para llevarlo. Además, a la mayoría de los padres les ha parecido fácil el manejo de los parches. Lo que de forma global ha supuesto que estén contentos con este tratamiento.
5. Al analizar la inmunoterapia epicutánea con 500 µg de proteína de avellana, en nuestra muestra de pacientes pediátricos alérgicos a este fruto seco, hemos

podido demostrar cambios inmunológicos *in vitro* con un claro aumento de IgG4 específica a avellana en el grupo activo. Asimismo, hemos objetivado una evidente disminución en la activación de los basófilos en el grupo activo respecto al placebo tras los 6 meses de tratamiento. Estos resultados sugieren que la inmunoterapia epicutánea produce cambios inmunológicos que podrían estar asociados con el desarrollo de la tolerancia clínica a la avellana.

6. El análisis del perfil de reconocimiento proteico de la avellana en nuestra muestra de pacientes pediátricos alérgicos a este fruto seco, nos ha permitido comprobar que el patrón molecular predominante es la sensibilización a proteínas de reserva (Cor a 9, Cor a 11, Cor a 14), con un 95,5% de nuestra población sensibilizada a alguna de estas proteínas.

IX. Perspectivas de futuro

Tras los resultados obtenidos en este trabajo, nos planteamos un estudio con más centros implicados en el que se puedan incluir un mayor número de pacientes y aumentar la duración del tratamiento. Para ello sería necesario diseñar un estudio multicéntrico, prospectivo, doble ciego controlado con placebo y conseguir financiación para poder mejorar el dispositivo del parche y realizar los estudios inmunológicos.

Al haber comprobado en nuestra investigación el alto cumplimiento de esta inmunoterapia y la seguridad obtenida, en caso de confirmar la eficacia en un estudio más amplio, se podría proponer su uso como inmunoterapia alternativa en pacientes con alergia persistente a los alimentos o en aquellos que han presentado reacciones con la inmunoterapia oral y la han tenido que suspender.

X. Bibliografía

1. Geiselhart S, Hoffmann-Sommergruber K, Bublin M. Tree nut allergens. *Mol Immunol*. agosto de 2018;100:71-81.
2. Guidelines for the Diagnosis and Management of Food Allergy in the United States: Report of the NIAID-Sponsored Expert Panel. *J Allergy Clin Immunol*. diciembre de 2010;126(6):S1-58.
3. Burks AW, Tang M, Sicherer S, Muraro A, Eigenmann PA, Ebisawa M, et al. ICON: Food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. abril de 2012;129(4):906-20.
4. Prescott S, Allen KJ. Food allergy: Riding the second wave of the allergy epidemic: The food allergy epidemic. *Pediatr Allergy Immunol*. marzo de 2011;22(2):155-60.
5. Mills ENC, Mackie AR, Burney P, Beyer K, Frewer L, Madsen C, et al. The prevalence, cost and basis of food allergy across Europe: EuroPrevall. *Allergy*. 15 de junio de 2007;62(7):717-22.
6. Ojeda P, Ibáñez M, Olaguibel J, Sastre J, Chivato T. Alergológica 2015: A National Survey on Allergic Diseases in the Spanish Pediatric Population. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 22 de octubre de 2018;28(5):321-9.
7. McWilliam V, Koplin J, Lodge C, Tang M, Dharmage S, Allen K. The Prevalence of Tree Nut Allergy: A Systematic Review. *Curr Allergy Asthma Rep*. septiembre de 2015;15(9):54.
8. AFRUSEN task force, Pediatric Allergy Committee, Spanish Society of Allergy and Clinical Immunology (SEAIC), Ibáñez-Sandín M, Rodríguez del Río P, Alvarado M, García B, Garriga-Baraut T, et al. Onset of nut allergy in a pediatric cohort: clinical and molecular patterns. AFRUSEN study. *J Investig Allergy Clin Immunol* [Internet]. 22 de abril de 2021 [citado 26 de diciembre de 2021];32(4). Disponible en: <http://www.jiaci.org/ahead-of-print/onset-of-nut-allergy-in-a-pediatric-cohort--clinical-and-molecular-patterns--afrusen-study>
9. Brough HA, Caubet J-C, Mazon A, Haddad D, Bergmann MM, Wassenberg J, et al. De ning challenge-proven coexistent nut and sesame seed allergy: A prospective multicenter European study. *J Allergy Clin Immunol*. 16 de diciembre de 2019;

10. Liu AH, Jaramillo R, Sicherer SH, Wood RA, Bock SA, Burks AW, et al. National prevalence and risk factors for food allergy and relationship to asthma: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006. *J Allergy Clin Immunol.* octubre de 2010;126(4):798-806.e14.
11. 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.* 31 de agosto de 1996;313(7056):518-21.
12. Brown SJ, Asai Y, Cordell HJ, Campbell LE, Zhao Y, Liao H, et al. Loss-of-function variants in the laggrin gene are a significant risk factor for peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* marzo de 2011;127(3):661-7.
13. Martin PE, Eckert JK, Koplin JJ, Lowe AJ, Gurrin LC, Dharmage SC, et al. Which infants with eczema are at risk of food allergy? Results from a population-based cohort. *Clin Exp Allergy.* enero de 2015;45(1):255-64.
14. Anvari S, Miller J, Yeh C-Y, Davis CM. IgE-Mediated Food Allergy. *Clin Rev Allergy Immunol.* octubre de 2019;57(2):244-60.
15. Tordesillas L, Berin MC, Sampson HA. Immunology of Food Allergy. *Immunity.* julio de 2017;47(1):32-50.
16. Chinthrajah RS, Hernandez JD, Boyd SD, Galli SJ, Nadeau KC. Molecular and cellular mechanisms of food allergy and food tolerance. *J Allergy Clin Immunol.* abril de 2016;137(4):984-97.
17. Gironés MA, Balaguer CMA, Carballo IC, Núñez IG. Clasificación y etiopatogenia de la alergia a alimentos. In: Dávila González I, Jauregui Presa I, Olagüibel Rivera JM, Zubeldia Ortuño JM. *Tratado de Alergología 2a edición.* Vol. 3. Madrid: Ergon; 2015. 941-958 p.
18. Fernández-Rivas M. Fruit and Vegetable Allergy. En: Ebisawa M, Ballmer-Weber BK, Vieths S, Wood RA, editores. *Chemical Immunology and Allergy* [Internet]. S. Karger AG; 2015 [citado 29 de enero de 2022]. p. 162-70. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/375469>
19. Breiteneder H, Ebner C. Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens. *J Allergy Clin Immunol.* julio de 2000;106(1):27-36.

20. Sampson HA, O'Mahony L, Burks AW, Plaut M, Lack G, Akdis CA. Mechanisms of food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* enero de 2018;141(1):11-9.
21. Lack G. Update on risk factors for food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* mayo de 2012;129(5):1187-97.
22. Tsakok T, Marrs T, Mohsin M, Baron S, du Toit G, Till S, et al. Does atopic dermatitis cause food allergy? A systematic review. *J Allergy Clin Immunol.* abril de 2016;137(4):1071-8.
23. Brough HA, Liu AH, Sicherer S, Makinson K, Douiri A, Brown SJ, et al. Atopic dermatitis increases the effect of exposure to peanut antigen in dust on peanut sensitization and likely peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* enero de 2015;135(1):164-170.e4.
24. Brough HA, Santos AF, Makinson K, Penagos M, Stephens AC, Douiri A, et al. Peanut protein in household dust is related to household peanut consumption and is biologically active. *J Allergy Clin Immunol.* septiembre de 2013;132(3):630-8.
25. Dunkin D, Berin MC, Mayer L. Allergic sensitization can be induced via multiple physiologic routes in an adjuvant-dependent manner. *J Allergy Clin Immunol.* diciembre de 2011;128(6):1251-1258.e2.
26. Oyoshi MK, Larson RP, Ziegler SF, Geha RS. Mechanical injury polarizes skin dendritic cells to elicit a TH2 response by inducing cutaneous thymic stromal lymphopoietin expression. *J Allergy Clin Immunol.* noviembre de 2010;126(5):976-984.e5.
27. Tordesillas L, Goswami R, Benedé S, Grishina G, Dunkin D, Järvinen KM, et al. Skin exposure promotes a Th2-dependent sensitization to peanut allergens. *J Clin Invest.* 3 de noviembre de 2014;124(11):4965-75.
28. Shreffler WG, Castro RR, Kucuk ZY, Charlop-Powers Z, Grishina G, Yoo S, et al. The Major Glycoprotein Allergen from *Arachis hypogaea*, Ara h 1, Is a Ligand of Dendritic Cell-Specific ICAM-Grabbing Nonintegrin and Acts as a Th2 Adjuvant In Vitro. *J Immunol.* 15 de septiembre de 2006;177(6):3677-85.
29. Shimura S, Takai T, Iida H, Maruyama N, Ochi H, Kamijo S, et al. Epicutaneous Allergic Sensitization by Cooperation between Allergen Protease Acti-

- vity and Mechanical Skin Barrier Damage in Mice. *J Invest Dermatol.* julio de 2016;136(7):1408-17.
30. Du Toit G, Roberts G, Sayre PH, Bahnson HT, Radulovic S, Santos AF, et al. Randomized Trial of Peanut Consumption in Infants at Risk for Peanut Allergy. *N Engl J Med.* 26 de febrero de 2015;372(9):803-13.
31. Tomás JB, López JS, Cano RM, Martín AMP. Manifestaciones clínicas de la alergia a los alimentos mediada por IgE. In: Dávila González I, Jauregui Presa I, Olaguibel Rivera JM, Zubeldia Ortuño JM. *Tratado de Alergología* 2a edición. Vol. 3. Madrid: Ergon; 991-1002 p.
32. Sharma HP, Bansil S, Uygungil B. Signs and Symptoms of Food Allergy and Food-Induced Anaphylaxis. *Pediatr Clin North Am.* diciembre de 2015;62(6):1377-92.
33. Price A, Ramachandran S, Smith GP, Stevenson ML, Pomeranz MK, Cohen DE. Oral Allergy Syndrome (Pollen-Food Allergy Syndrome). *Dermatitis.* marzo de 2015;26(2):78-88.
34. Guía de actuación en ANAFILAXIA: GALAXIA 2016 [Internet]. ESMON PUBLICIDAD, S.A.; 2016 [citado 29 de enero de 2022]. Disponible en: <http://www.seaic.org/profesionales/galaxia>
35. Midun E, Radulovic S, Brough H, Caubet J-C. Recent advances in the management of nut allergy. *World Allergy Organ J.* enero de 2021;14(1):100491.
36. Turner PJ, Jerschow E, Umasunthar T, Lin R, Campbell DE, Boyle RJ. Fatal Anaphylaxis: Mortality Rate and Risk Factors. *J Allergy Clin Immunol Pract.* septiembre de 2017;5(5):1169-78.
37. Bock SA, Muñoz-Furlong A, Sampson HA. Fatalities due to anaphylactic reactions to foods. *J Allergy Clin Immunol.* enero de 2001;107(1):191-3.
38. Moore LE, Stewart PH, deShazo RD. Food Allergy: What We Know Now. *Am J Med Sci.* abril de 2017;353(4):353-66.
39. Soares-Weiser K, Takwoingi Y, Panesar SS, Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, et al. The diagnosis of food allergy: a systematic review and meta-analysis. *Allergy.* enero de 2014;69(1):76-86.

40. Gupta M, Cox A, Nowak-Wegrzyn A, Wang J. Diagnosis of Food Allergy. *Immunol Allergy Clin North Am.* febrero de 2018;38(1):39-52.
41. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Beyer K, Bindslev-Jensen C, et al. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy.* agosto de 2014;69(8):1008-25.
42. Ansotegui IJ, Melioli G, Canonica GW, Caraballo L, Villa E, Ebisawa M, et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. *World Allergy Organ J.* febrero de 2020;13(2):100080.
43. Elizur A, Goldberg MR. Pro: Skin prick testing with fresh foods. *Ann Allergy Asthma Immunol.* mayo de 2020;124(5):441-2.
44. Jappe U, Schwager C. Relevance of Lipophilic Allergens in Food Allergy Diagnosis. *Curr Allergy Asthma Rep.* septiembre de 2017;17(9):61.
45. Maloney JM, Rudengren M, Ahlstedt S, Bock SA, Sampson HA. The use of serum-specific IgE measurements for the diagnosis of peanut, tree nut, and seed allergy. *J Allergy Clin Immunol.* julio de 2008;122(1):145-51.
46. Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* mayo de 2001;107(5):891-6.
47. Valenta, Lidholm, Niederberger, Hayek, Kraft, Grönlund. The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CRD and CRIT): CRD and CRIT. *Clin Exp Allergy.* julio de 1999;29(7):896-904.
48. Radauer C, Nandy A, Ferreira F, Goodman RE, Larsen JN, Lidholm J, et al. Update of the WHO / IUIS Allergen Nomenclature Database based on analysis of allergen sequences. *Allergy.* abril de 2014;69(4):413-9.
49. Ansotegui IJ, Melioli G, Canonica GW, Gómez RM, Jensen-Jarolim E, Ebisawa M, et al. A WAO — ARIA — GA2LEN consensus document on molecular-based allergy diagnosis (PAMD@): Update 2020. *World Allergy Organ J.* febrero de 2020;13(2):100091.
50. Hefner E, Puggioni F, Peveri S, Montagni M, Canonica GW, Melioli G. Extended IgE profile based on an allergen macroarray: a novel tool for precision medicine in allergy diagnosis. *World Allergy Organ J.* 2018;11:7.

51. Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R, Hilger C, Hofmaier S, et al. EAACI Molecular Allergy User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol*. mayo de 2016;27:1-250.
52. Garófalo CD. Capítulo 3 - Diagnóstico in vitro de la alergia a alimentos. In: González Muñoz M, Subiza JL. Diagnóstico, monitorización y tratamiento de las enfermedades alérgicas. Elsevier; 2018. 33-50 p.
53. Kattan JD, Sicherer SH, Sampson HA. Clinical reactivity to hazelnut may be better identified by component testing than traditional testing methods. *J Allergy Clin Immunol Pract*. septiembre de 2014;2(5):633-634.e1.
54. Brettig T, Dang T, McWilliam V, Peters RL, Koplin JJ, Perrett KP. The Accuracy of Diagnostic Testing in Determining Tree Nut Allergy: A Systematic Review. *J Allergy Clin Immunol Pract*. mayo de 2021;9(5):2028-2049.e2.
55. Akarsu A, Ocak M, Sahiner UM, Soyer O, Sekerel BE. Multiplex component-based allergen macroarray test is useful to predict clinical reactivity to tree nuts in children. *Allergol Int*. octubre de 2021;S1323893021001271.
56. Mj G, v D, R M-A, P G, Be G, F G, et al. Is Microarray Analysis Really Useful and Sufficient to Diagnose Nut Allergy in the Mediterranean Area? *J Investig Allergol Clin Immunol*. 1 de febrero de 2016;26(1):31-9.
57. Sainte-Laudy J, Vallon C, Guérin JC. [Analysis of membrane expression of the CD63 human basophil activation marker. Applications to allergologic diagnosis]. *Allerg Immunol (Leipz)*. junio de 1994;26(6):211-4.
58. Knol EF, Mul FPJ, Jansen H, Calafat J, Roos D. Monitoring human basophil activation via CD63 monoclonal antibody 435. *J Allergy Clin Immunol*. septiembre de 1991;88(3):328-38.
59. Hoffmann HJ, Santos AF, Mayorga C, Nopp A, Eberlein B, Ferrer M, et al. The clinical utility of basophil activation testing in diagnosis and monitoring of allergic disease. *Allergy*. noviembre de 2015;70(11):1393-405.
60. Santos AF, Douiri A, Bécares N, Wu S-Y, Stephens A, Radulovic S, et al. Basophil activation test discriminates between allergy and tolerance in peanut-sensitized children. *J Allergy Clin Immunol*. septiembre de 2014;134(3):645-52.

61. Duan L, Celik A, Hoang JA, Schmidthaler K, So D, Yin X, et al. Basophil activation test shows high accuracy in the diagnosis of peanut and tree nut allergy: The Markers of Nut Allergy Study. *Allergy*. junio de 2021;76(6):1800-12.
62. Ocmant A, Mulier S, Hanssens L, Goldman M, Casimir G, Mascart F, et al. Basophil activation tests for the diagnosis of food allergy in children. *Clin Exp Allergy*. agosto de 2009;39(8):1234-45.
63. Rubio A, Vivinus-Nébot M, Bourrier T, Saggio B, Albertini M, Bernard A. Benefit of the basophil activation test in deciding when to reintroduce cow's milk in allergic children: Basophil activation test in cow's milk allergy. *Allergy*. enero de 2011;66(1):92-100.
64. Pm G, E G-L, C G, A G, Rm M-A, L SM. Is the Quantification of Antigen-Specific Basophil Activation a Useful Tool for Monitoring Oral Tolerance Induction in Children With Egg Allergy? *J Investig Allergol Clin Immunol*. 1 de febrero de 2016;26(1):25-30.
65. Kim EH, Yang L, Ye P, Guo R, Li Q, Kulis MD, et al. Long-term sublingual immunotherapy for peanut allergy in children: Clinical and immunologic evidence of desensitization. *J Allergy Clin Immunol*. noviembre de 2019;144(5):1320-1326.e1.
66. Frischmeyer-Guerrero PA, Masilamani M, Gu W, Brittain E, Wood R, Kim J, et al. Mechanistic correlates of clinical responses to omalizumab in the setting of oral immunotherapy for milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. octubre de 2017;140(4):1043-1053.e8.
67. Giavi S, Vissers YM, Muraro A, Lauener R, Konstantinopoulos AP, Mercenier A, et al. Oral immunotherapy with low allergenic hydrolysed egg in egg allergic children. *Allergy*. noviembre de 2016;71(11):1575-84.
68. Burks AW, Wood RA, Jones SM, Sicherer SH, Fleischer DM, Scurlock AM, et al. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: Long-term follow-up of a randomized multicenter trial. *J Allergy Clin Immunol*. mayo de 2015;135(5):1240-1248.e3.
69. Gorelik M, Narisety SD, Guerrero AL, Chichester KL, Keet CA, Bieneman AP, et al. Suppression of the immunologic response to peanut during immunotherapy is often transient. *J Allergy Clin Immunol*. mayo de 2015;135(5):1283-92.

70. Keet CA, Frischmeyer-Guerrero PA, Thyagarajan A, Schroeder JT, Hamilton RG, Boden S, et al. The safety and efficacy of sublingual and oral immunotherapy for milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. febrero de 2012;129(2):448-455. e5.
71. Sampson HA, Gerth van Wijk R, Bindslev-Jensen C, Sicherer S, Teuber SS, Burks AW, et al. Standardizing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology–European Academy of Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol*. diciembre de 2012;130(6):1260-74.
72. Nowak-Węgrzyn A, Assa'ad AH, Bahna SL, Bock SA, Sicherer SH, Teuber SS. Work Group report: Oral food challenge testing. *J Allergy Clin Immunol*. junio de 2009;123(6):S365-83.
73. Grabenhenrich LB, Reich A, Bellach J, Trendelenburg V, Sprickelman AB, Roberts G, et al. A new framework for the documentation and interpretation of oral food challenges in population-based and clinical research. *Allergy*. marzo de 2017;72(3):453-61.
74. González-Mancebo E, Alonso Díaz de Durana M, García Estringana Y, Meléndez Baltanás A, Rodríguez-Alvarez M, de la Hoz Caballer B, et al. Validation of Recipes for Double-Blind Placebo-Controlled Challenges With Milk, Egg White, and Hazelnut. *J Investig Allergol Clin Immunol*. febrero de 2017;27(1):40-5.
75. Blasco-Valero C, Claver-Monzón Á, Molini-Menchón N, Martorell-Aragonés A, García-Magán C, Pereiro-Fernández S, et al. Practical protocol of the food allergy committee of the SEICAP on open oral food challenges to nuts. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. 1 de noviembre de 2021 [citado 27 de diciembre de 2021];49(6). Disponible en: <https://all-imm.com/index.php/aei/article/view/56-59>
76. Mills ENC, Jenkins J, Marigheto N, Belton PS, Gunning AP, Morris VJ. Allergens of the cupin superfamily. *Biochem Soc Trans*. 1 de noviembre de 2002;30(6):925-9.
77. Maleki SJ, Chung S-Y, Champagne ET, Raufman J-P. The effects of roasting on

- the allergenic properties of peanut proteins. *J Allergy Clin Immunol.* octubre de 2000;106(4):763-8.
78. Apostolovic D, Stanic-Vucinic D, de Jongh HHJ, de Jong GAH, Mihailovic J, Radosavljevic J, et al. Conformational stability of digestion-resistant peptides of peanut conglutins reveals the molecular basis of their allergenicity. *Sci Rep.* julio de 2016;6(1):29249.
 79. Datema MR, van Ree R, Asero R, Barreales L, Belohlavkova S, de Blay F, et al. Component-resolved diagnosis and beyond: Multivariable regression models to predict severity of hazelnut allergy. *Allergy.* marzo de 2018;73(3):549-59.
 80. Dreskin SC, Koppelman SJ, Andorf S, Nadeau KC, Kalra A, Braun W, et al. The importance of the 2S albumins for allergenicity and cross-reactivity of peanuts, tree nuts, and sesame seeds. *J Allergy Clin Immunol.* abril de 2021;147(4):1154-63.
 81. Scala E, Villalta D, Meneguzzi G, Giani M, Asero R. Storage molecules from tree nuts, seeds and legumes: relationships and amino acid identity among homologue molecules. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* febrero de 2018;50(04):148.
 82. Sinha M, Singh RP, Kushwaha GS, Iqbal N, Singh A, Kaushik S, et al. Current Overview of Allergens of Plant Pathogenesis Related Protein Families. *Sci World J.* 2014;2014:1-19.
 83. Kleine-Tebbe J, Wangorsch A, Vogel L, Crowell DN, Hausteiner U-F, Vieths S. Severe oral allergy syndrome and anaphylactic reactions caused by a Bet v 1-related PR-10 protein in soybean, SAM22. *J Allergy Clin Immunol.* noviembre de 2002;110(5):797-804.
 84. Carlson G, Coop C. Pollen food allergy syndrome (PFAS): A review of current available literature. *Ann Allergy Asthma Immunol.* octubre de 2019;123(4):359-65.
 85. De Lucca AJ, Cleveland TE, Wedge DE. Plant-derived antifungal proteins and peptides. *Can J Microbiol.* 1 de diciembre de 2005;51(12):1001-14.
 86. Kader J-C. LIPID-TRANSFER PROTEINS IN PLANTS. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* junio de 1996;47(1):627-54.

87. Pascal M, Muñoz-Cano R, Reina Z, Palacín A, Vilella R, Picado C, et al. Lipid transfer protein syndrome: clinical pattern, cofactor effect and profile of molecular sensitization to plant-foods and pollens. *Clin Exp Allergy*. octubre de 2012;42(10):1529-39.
88. Carnes J, Fernandez-Caldas E, Gallego MT, Ferrer A, Cuesta-Herranz J. Pru p 3 (LTP) content in peach extracts. *Allergy*. noviembre de 2002;57(11):1071-5.
89. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S. Relationship between peach lipid transfer protein specific IgE levels and hypersensitivity to non-Rosaceae vegetable foods in patients allergic to lipid transfer protein. *Ann Allergy Asthma Immunol*. febrero de 2004;92(2):268-72.
90. Fernández-Rivas M, Bolhaar S, González-Mancebo E, Asero R, van Leeuwen A, Bohle B, et al. Apple allergy across Europe: How allergen sensitization profiles determine the clinical expression of allergies to plant foods. *J Allergy Clin Immunol*. agosto de 2006;118(2):481-8.
91. Palacín A, Rivas LA, Gómez-Casado C, Aguirre J, Tordesillas L, Bartra J, et al. The involvement of thaumatin-like proteins in plant food cross-reactivity: a multi-center study using a specific protein microarray. *PLoS One*. 2012;7(9):e44088.
92. Hsieh LS, Moos M, Lin Y. Characterization of apple 18 and 31 kd allergens by microsequencing and evaluation of their content during storage and ripening. *J Allergy Clin Immunol*. diciembre de 1995;96(6 Pt 1):960-70.
93. Costa J, Mafra I, Carrapatoso I, Oliveira MBPP. Almond allergens: molecular characterization, detection, and clinical relevance. *J Agric Food Chem*. 15 de febrero de 2012;60(6):1337-49.
94. Chen L, Zhang S, Illa E, Song L, Wu S, Howad W, et al. Genomic characterization of putative allergen genes in peach/almond and their synteny with apple. *BMC Genomics*. 17 de noviembre de 2008;9:543.
95. Fedorov AA, Ball T, Mahoney NM, Valenta R, Almo SC. The molecular basis for allergen cross-reactivity: crystal structure and IgE-epitope mapping of birch pollen protein. *Structure*. enero de 1997;5(1):33-45.
96. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S, Zanoni D, Barocci F, et al. Detec-

- tion of clinical markers of sensitization to pro lin in patients allergic to plant-derived foods. *J Allergy Clin Immunol.* agosto de 2003;112(2):427-32.
97. Alvarado MI, Jimeno L, De La Torre F, Boissy P, Rivas B, Lázaro MJ, et al. Pro - lin as a severe food allergen in allergic patients overexposed to grass pollen. *Allergy.* diciembre de 2014;69(12):1610-6.
 98. Frandsen GI, Mundy J, Tzen JTC. Oil bodies and their associated proteins, oleosin and caleosin. *Physiol Plant.* julio de 2001;112(3):301-7.
 99. Parthibane V, Rajakumari S, Venkateshwari V, Iyappan R, Rajasekharan R. Oleosin Is Bifunctional Enzyme That Has Both Monoacylglycerol Acyltransferase and Phospholipase Activities. *J Biol Chem.* enero de 2012;287(3):1946-54.
 100. Zuidmeer-Jongejan L, Fernández-Rivas M, Winter MG, Akkerdaas JH, Summers C, Lebens A, et al. Oil body-associated hazelnut allergens including oleosins are underrepresented in diagnostic extracts but associated with severe symptoms. *Clin Transl Allergy.* diciembre de 2014;4(1):4.
 101. Schwager C, Kull S, Behrends J, Röckendorf N, Schocker F, Frey A, et al. Peanut oleosins associated with severe peanut allergy—importance of lipophilic allergens for comprehensive allergy diagnostics. *J Allergy Clin Immunol.* noviembre de 2017;140(5):1331-1338.e8.
 102. Costa J, Mafra I, Carrapatoso I, Oliveira MBPP. Hazelnut Allergens: Molecular Characterization, Detection, and Clinical Relevance. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 17 de noviembre de 2016;56(15):2579-605.
 103. Blanco Mejia S, Kendall CWC, Vigüiliouk E, Augustin LS, Ha V, Cozma AI, et al. Effect of tree nuts on metabolic syndrome criteria: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ Open.* 29 de julio de 2014;4(7):e004660.
 104. Del Gobbo LC, Falk MC, Feldman R, Lewis K, Mozaffarian D. Effects of tree nuts on blood lipids, apolipoproteins, and blood pressure: systematic review, meta-analysis, and dose-response of 61 controlled intervention trials. *Am J Clin Nutr.* diciembre de 2015;102(6):1347-56.
 105. Hansen KS, Ballmer-Weber BK, Luttkopf D, Skov PS, Wuthrich B, Bindslev-Jen-

- sen C, et al. Roasted hazelnuts - allergenic activity evaluated by double-blind, placebo-controlled food challenge. *Allergy*. febrero de 2003;58(2):132-8.
106. Egger M, Mutschlechner S, Wopfner N, Gadermaier G, Briza P, Ferreira F. Pollen-food syndromes associated with weed pollinosis: an update from the molecular point of view. *Allergy*. abril de 2006;61(4):461-76.
107. Salcedo G, Sánchez-Monge R, Barber D, Díaz-Perales A. Plant non-specific lipid transfer proteins: an interface between plant defence and human allergy. *Biochim Biophys Acta*. junio de 2007;1771(6):781-91.
108. Schulten V, Nagl B, Scala E, Bernardi ML, Mari A, Ciardiello MA, et al. Pru p 3, the nonspecific lipid transfer protein from peach, dominates the immune response to its homolog in hazelnut: Pru p 3 dominates the allergic response to Cor a 8. *Allergy*. agosto de 2011;66(8):1005-13.
109. Andrews T, Banks JR. Sensitization to Cor a 9 and Cor a 14 Is Highly Specific for a Hazelnut Allergy With Objective Symptoms in Dutch Children and Adults. *PEDIATRICS*. 1 de noviembre de 2014;134(Supplement):S152-S152.
110. Nilsson C, Berthold M, Mascialino B, Orme M, Sjölander S, Hamilton R. Allergen components in diagnosing childhood hazelnut allergy: Systematic literature review and meta-analysis. Santos A, editor. *Pediatr Allergy Immunol*. febrero de 2020;31(2):186-96.
111. Lauer I, Foetisch K, Kolarich D, Ballmer-Weber BK, Conti A, Altmann F, et al. Hazelnut (*Corylus avellana*) vicilin Cor a 11: molecular characterization of a glycoprotein and its allergenic activity. *Biochem J*. 15 de octubre de 2004;383(Pt 2):327-34.
112. Akkerdaas JH, Schocker F, Vieths S, Versteeg S, Zuidmeer L, Hefle SL, et al. Cloning of oleosin, a putative new hazelnut allergen, using a hazelnut cDNA library. *Mol Nutr Food Res*. enero de 2006;50(1):18-23.
113. Nebbia S, Lamberti C, Cirrincione S, Acquadro A, Abbà S, Ciuffo M, et al. Oleosin Cor a 15 is a novel allergen for Italian hazelnut allergic children. Santos A, editor. *Pediatr Allergy Immunol*. noviembre de 2021;32(8):1743-55.
114. Smeekens JM, Bagley K, Kulis M. Tree nut allergies: Allergen homology, cross-

- reactivity, and implications for therapy. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* julio de 2018;48(7):762-72.
115. Datema MR, Zuidmeer-Jongejan L, Asero R, Barreales L, Belohlavkova S, de Blay F, et al. Hazelnut allergy across Europe dissected molecularly: A EuroPrevall outpatient clinic survey. *J Allergy Clin Immunol.* agosto de 2015;136(2):382-91.
116. De Knop KJ, Verweij MM, Grimmelikhuijsen M, Philipse E, Hagendorens MM, Bridts CH, et al. Age-related sensitization profiles for hazelnut (*Corylus avellana*) in a birch-endemic region: Hazelnut allergy: sensitization profiles. *Pediatr Allergy Immunol.* febrero de 2011;22(1pt2):e139-49.
117. Buyuktiryaki B, Cavkaytar O, Sahiner UM, Yilmaz EA, Yavuz ST, Soyer O, et al. Cor a 14, Hazelnut-Specific IgE, and SPT as a Reliable Tool in Hazelnut Allergy Diagnosis in Eastern Mediterranean Children. *J Allergy Clin Immunol Pract.* marzo de 2016;4(2):265-272.e3.
118. Carraro S, Berardi M, Bozzetto S, Baraldi E, Zanconato S. COR a 14-specific IgE predicts symptomatic hazelnut allergy in children. *Pediatr Allergy Immunol.* mayo de 2016;27(3):322-4.
119. Giovannini M, Comberiati P, Piazza M, Chiesa E, Piacentini GL, Boner A, et al. Retrospective definition of reaction risk in Italian children with peanut, hazelnut and walnut allergy through component-resolved diagnosis. *Allergol Immunopathol (Madr).* enero de 2019;47(1):73-8.
120. Blanc F, Bernard H, Ah-Leung S, Przybylski-Nicaise L, Skov PS, Purohit A, et al. Further studies on the biological activity of hazelnut allergens. *Clin Transl Allergy.* diciembre de 2015;5(1):26.
121. Haroun-Díaz E, Azofra J, González-Mancebo E, de las Heras M, Pastor-Vargas C, Esteban V, et al. Nut Allergy in Two Different Areas of Spain: Differences in Clinical and Molecular Pattern. *Nutrients.* 21 de agosto de 2017;9(8):909.
122. Faber MA, De Graag M, Van Der Heijden C, Sabato V, Hagendorens MM, Bridts CH, et al. Cor a 14: Missing Link in the Molecular Diagnosis of Hazelnut Allergy? *Int Arch Allergy Immunol.* 2014;164(3):200-6.

123. Masthoff LJ, van Hoffen E, de Reus A, Boonacker CW, Bruijnzeel-Koomen CA, Pasmans SG, et al. Hazelnut allergy differs between children and adults in frequency of severity, aetiology and relevance of diagnostic parameters. *Clin Exp Allergy*. diciembre de 2014;44(12):1539-45.
124. Ebo DG, Verweij MM, Sabato V, Hagendorens MM, Bridts CH, De Clerck LS. Hazelnut allergy: a multi-faced condition with demographic and geographic characteristics. *Acta Clin Belg*. octubre de 2012;67(5):317-21.
125. Verweij M, Hagendorens M, Trashin S, Cucu T, Meulenaer BD, Devreese B, et al. Age-Dependent Sensitization to the 7S-Vicilin-Like Protein Cor a 11 From Hazelnut (*Corylus avellana*) in a Birch- Endemic Region. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22:7.
126. Beyer K, Morrow E, Li XM, Bardina L, Bannon GA, Burks AW, et al. Effects of cooking methods on peanut allergenicity. *J Allergy Clin Immunol*. junio de 2001;107(6):1077-81.
127. de Jong EC, Van Zijverden M, Spanhaak S, Koppelman SJ, Pellegrom H, Pen-ninks AH. Identifi cation and partial characterization of multiple major allergens in peanut proteins. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. junio de 1998;28(6):743-51.
128. Nicolaou N, Poorafshar M, Murray C, Simpson A, Winell H, Kerry G, et al. Allergy or tolerance in children sensitized to peanut: prevalence and differentiation using component-resolved diagnostics. *J Allergy Clin Immunol*. enero de 2010;125(1):191-197.e1-13.
129. Beyer K, Grabenhenrich L, Härtl M, Beder A, Kalb B, Ziegert M, et al. Predictive values of component-speci c IgE for the outcome of peanut and hazelnut food challenges in children. *Allergy*. enero de 2015;70(1):90-8.
130. Dang TD, Tang M, Choo S, Licciardi PV, Koplin JJ, Martin PE, et al. Increasing the accuracy of peanut allergy diagnosis by using Ara h 2. *J Allergy Clin Immunol*. abril de 2012;129(4):1056-63.
131. Kukkonen AK, Pelkonen AS, Mäkinen-Kiljunen S, Voutilainen H, Mäkelä MJ. Ara h 2 and Ara 6 are the best predictors of severe peanut allergy: a double-blind placebo-controlled study. *Allergy*. octubre de 2015;70(10):1239-45.

132. Mittag D, Akkerdaas J, Ballmer-Weber BK, Vogel L, Wensing M, Becker W-M, et al. Ara h 8, a Bet v 1-homologous allergen from peanut, is a major allergen in patients with combined birch pollen and peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* diciembre de 2004;114(6):1410-7.
133. Javaloyes G, Goikoetxea MJ, García Nuñez I, Aranda A, Sanz ML, Blanca M, et al. Pru p 3 acts as a strong sensitizer for peanut allergy in Spain. *J Allergy Clin Immunol.* diciembre de 2012;130(6):1432-1434.e3.
134. Krause S, Reese G, Randow S, Zennaro D, Quarantino D, Palazzo P, et al. Lipid transfer protein (Ara h 9) as a new peanut allergen relevant for a Mediterranean allergic population. *J Allergy Clin Immunol.* octubre de 2009;124(4):771-778.e5.
135. Barre A, Borges J-P, Culierrier R, Rougé P. Homology modelling of the major peanut allergen Ara h 2 and surface mapping of IgE-binding epitopes. *Immunol Lett.* 15 de septiembre de 2005;100(2):153-8.
136. de Leon MP, Drew AC, Glaspole IN, Suphioglu C, O'Hehir RE, Rolland JM. IgE cross-reactivity between the major peanut allergen Ara h 2 and tree nut allergens. *Mol Immunol.* enero de 2007;44(4):463-71.
137. Beyer K, Grishina G, Bardina L, Grishin A, Sampson HA. Identification of an 11S globulin as a major hazelnut food allergen in hazelnut-induced systemic reactions. *J Allergy Clin Immunol.* septiembre de 2002;110(3):517-23.
138. Vereda A, van Hage M, Ahlstedt S, Ibañez MD, Cuesta-Herranz J, van Odiijk J, et al. Peanut allergy: Clinical and immunologic differences among patients from 3 different geographic regions. *J Allergy Clin Immunol.* marzo de 2011;127(3):603-7.
139. Ballmer-Weber BK, Lidholm J, Fernández-Rivas M, Seneviratne S, Hanschmann KM, Vogel L, et al. IgE recognition patterns in peanut allergy are age dependent: perspectives of the EuroPrevall study. *Allergy.* abril de 2015;70(4):391-407.
140. Pedrosa M, Boyano-Martínez T, García-Ara MC, Caballero T, Quirce S. Peanut seed storage proteins are responsible for clinical reactivity in Spanish peanut-allergic children: Peanut seed storage proteins in Spanish allergic children. *Pediatr Allergy Immunol.* noviembre de 2012;23(7):654-9.

141. Zambrano Ibarra G, Fuentes Aparicio V, Infante Herrero S, Blanca M, Zapatero Remon L. Peanut Allergy in Spanish Children: Comparative Profile of Peanut Allergy versus Tolerance. *Int Arch Allergy Immunol*. 2019;178(4):370-6.
142. Calamelli E, Caffarelli C, Ricci G. Peanut Sensitization Profiles in Italian Children and Adolescents with Specific IgE to Peanuts. *BioMed Res Int*. 2013;2013:1-5.
143. Garcia-Blanca A, Aranda A, Blanca-Lopez N, Perez D, Gomez F, Mayorga C, et al. Influence of age on IgE response in peanut-allergic children and adolescents from the Mediterranean area. *Pediatr Allergy Immunol*. septiembre de 2015;26(6):497-502.
144. Sicherer SH, Muñoz-Furlong A, Godbold JH, Sampson HA. US prevalence of self-reported peanut, tree nut, and sesame allergy: 11-year follow-up. *J Allergy Clin Immunol*. junio de 2010;125(6):1322-6.
145. Teuber SS, Dandekar AM, Peterson WR, Sellers CL. Cloning and sequencing of a gene encoding a 2S albumin seed storage protein precursor from English walnut (*Juglans regia*), a major food allergen. *J Allergy Clin Immunol*. junio de 1998;101(6 Pt 1):807-14.
146. Wallowitz M, Peterson WR, Uratsu S, Comstock SS, Dandekar AM, Teuber SS. Jug r 4, a legumin group food allergen from walnut (*Juglans regia* Cv. Chandler). *J Agric Food Chem*. 18 de octubre de 2006;54(21):8369-75.
147. Teuber SS, Jarvis KC, Dandekar AM, Peterson WR, Ansari AA. Identification and cloning of a complementary DNA encoding a vicilin-like proprotein, jug r 2, from english walnut kernel (*Juglans regia*), a major food allergen. *J Allergy Clin Immunol*. diciembre de 1999;104(6):1311-20.
148. Sato S, Yamamoto M, Yanagida N, Ito K, Ohya Y, Imai T, et al. Jug r 1 sensitization is important in walnut-allergic children and youth. *J Allergy Clin Immunol Pract*. noviembre de 2017;5(6):1784-1786.e1.
149. Component resolved diagnosis of walnut allergy in young children: Jug r 1 as a major walnut allergen. *Asian Pac J Allergy Immunol [Internet]*. 2021 [citado 9 de febrero de 2022]; Disponible en: https://apjai-journal.org/wp-content/uploads/2021/09/10_AP-161118-0443-No-Supplement.pdf

150. Elizur A, Appel MY, Nachshon L, Levy MB, Epstein-Rigbi N, Pontoppidan B, et al. Clinical and Molecular Characterization of Walnut and Pecan Allergy (NUT CRACKER Study). *J Allergy Clin Immunol Pract.* enero de 2020;8(1):157-165.e2.
151. Robotham JM, Wang F, Seamon V, Teuber SS, Sathe SK, Sampson HA, et al. Ana o 3, an important cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) allergen of the 2S albumin family. *J Allergy Clin Immunol.* junio de 2005;115(6):1284-90.
152. Poltronieri P, Cappello MS, Dohmae N, Conti A, Fortunato D, Pastorello EA, et al. Identification and characterisation of the IgE-binding proteins 2S albumin and conglutin gamma in almond (*Prunus dulcis*) seeds. *Int Arch Allergy Immunol.* junio de 2002;128(2):97-104.
153. Villalta D, Scala E, Mistrello G, Amato S, Asero R. Evidence of Cross-Reactivity between Different Seed Storage Proteins from Hazelnut (*Corylus avellana*) and Walnut (*Juglans regia*) Using Recombinant Allergen Proteins. *Int Arch Allergy Immunol.* 2019;178(1):89-92.
154. Lyons SA, Datema MR, Le T-M, Asero R, Barreales L, Belohlavkova S, et al. Walnut Allergy Across Europe: Distribution of Allergen Sensitization Patterns and Prediction of Severity. *J Allergy Clin Immunol Pract.* enero de 2021;9(1):225-235.e10.
155. Ballmer-Weber BK, Lidholm J, Lange L, Pascal M, Lang C, Gernert S, et al. Allergen Recognition Patterns in Walnut Allergy Are Age Dependent and Correlate with the Severity of Allergic Reactions. *J Allergy Clin Immunol Pract.* mayo de 2019;7(5):1560-1567.e6.
156. Costa J, Silva I, Vicente AA, Oliveira MBPP, Mafra I. Pistachio nut allergy: An updated overview. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 21 de febrero de 2019;59(4):546-62.
157. Ando K, Watanabe D, Tamada Y, Matsumoto Y. Oral allergy syndrome with severe anaphylaxis induced by pistachio. *Int J Dermatol.* mayo de 2011;50(5):632-3.
158. Mendes C, Costa J, Vicente AA, Oliveira MBPP, Mafra I. Cashew Nut Allergy: Clinical Relevance and Allergen Characterisation. *Clin Rev Allergy Immunol.* agosto de 2019;57(1):1-22.

159. van der Valk JPM, J. Dubois AE, Gerth van Wijk R, Wichers HJ, de Jong NW. Systematic review on cashew nut allergy. *Allergy*. junio de 2014;69(6):692-8.
160. Davoren M, Peake J. Cashew nut allergy is associated with a high risk of anaphylaxis. *Arch Dis Child*. octubre de 2005;90(10):1084-5.
161. Savvatanos S, Konstantinopoulos AP, Borgå Å, Stavroulakis G, Lidholm J, Borrres MP, et al. Sensitization to cashew nut 2S albumin, Ana o 3, is highly predictive of cashew and pistachio allergy in Greek children. *J Allergy Clin Immunol*. julio de 2015;136(1):192-4.
162. Sathe SK, Wolf WJ, Roux KH, Teuber SS, Venkatachalam M, Sze-Tao KWC. Biochemical characterization of amandin, the major storage protein in almond (*Prunus dulcis* L.). *J Agric Food Chem*. 17 de julio de 2002;50(15):4333-41.
163. Roux KH, Teuber SS, Robotham JM, Sathe SK. Detection and stability of the major almond allergen in foods. *J Agric Food Chem*. mayo de 2001;49(5):2131-6.
164. Venkatachalam M, Teuber SS, Roux KH, Sathe SK. Effects of roasting, blanching, autoclaving, and microwave heating on antigenicity of almond (*Prunus dulcis* L.) proteins. *J Agric Food Chem*. 5 de junio de 2002;50(12):3544-8.
165. Kabasser S, Hafner C, Chinthrajah S, Sindher SB, Kumar D, Kost LE, et al. Identification of Pru du 6 as a potential marker allergen for almond allergy. *Allergy*. mayo de 2021;76(5):1463-72.
166. de Leon MP, Glaspole IN, Drew AC, Rolland JM, O'Hehir RE, Suphioglu C. Immunological analysis of allergenic cross-reactivity between peanut and tree nuts. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. septiembre de 2003;33(9):1273-80.
167. Añó MA, Maselli JP, Sanz M a L, Fernández-Benítez M. Allergy to pine nut. *Allergol Immunopathol (Madr)*. enero de 2002;30(2):104-8.
168. Rodríguez J, Crespo JF, Lopez-Rubio A, de la Cruz-Bertolo J, Ferrando-Vivas P, Vives R, et al. Clinical cross-reactivity among foods of the Rosaceae family. *J Allergy Clin Immunol*. julio de 2000;106(1):183-9.
169. Yagami A. Anaphylaxis to lipid transfer protein from sunflower seeds: Allergy-Net. *Allergy*. octubre de 2010;65(10):1340-1.

170. Barbarroja-Escudero J, Sánchez-González M, Pineda F, Rodríguez-Rodríguez M, Antolín-Amérigo D, Castillo M, et al. Identification of Lipoproteins From Sunflower Seeds in 2 Monosensitized Anaphylaxis Patients. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 22 de octubre de 2018;28(5):334-6.
171. Ukleja-Sokołowska N, Gawrońska-Ukleja E, Bikowska-Gotz M, Bartuzi Z, Sokołowski J. Sunflower seed allergy. *Int J Immunopathol Pharmacol*. :6.
172. Gruber P, Gadermaier G, Bauer R, Weiss R, Wagner S, Leonard R, et al. Role of the polypeptide backbone and post-translational modifications in cross-reactivity of Art v 1, the major mugwort pollen allergen. *Biol Chem*. junio de 2009;390(5-6):445-51.
173. Patel A, Bahna SL. Hypersensitivities to sesame and other common edible seeds. *Allergy*. octubre de 2016;71(10):1405-13.
174. González-Bravo L, Laiseca-García J, Pineda F, Rosado A. Anaphylaxis to Sunflower Seed with Tolerance to Other Nuts. The Role of Lipophilic Allergens. *J Investig Allergol Clin Immunol* [Internet]. 27 de mayo de 2021 [citado 12 de julio de 2021];32(1). Disponible en: <http://www.jiaci.org/ahead-of-print/anaphylaxis-to-sunflower-seed-with-tolerance-to-other-nuts--the-role-of-lipophilic-allergens>
175. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S. Allergenic similarities of 2S albumins. *Allergy*. enero de 2002;57(1):61-2.
176. Kortt AA, Caldwell JB, Lilley GG, Higgins TJ. Amino acid and cDNA sequences of a methionine-rich 2S protein from sunflower seed (*Helianthus annuus* L.). *Eur J Biochem*. 30 de enero de 1991;195(2):329-34.
177. Lavine E, Ben-Shoshan M. Allergy to sunflower seed and sunflower butter as proposed vehicle for sensitization. *Allergy Asthma Clin Immunol*. diciembre de 2015;11(1):2.
178. Blanco C, Carrillo T, Castillo R, Quiralte J, Cuevas M. Latex allergy: clinical features and cross-reactivity with fruits. *Ann Allergy*. octubre de 1994;73(4):309-14.
179. Sanchezmonge R, Blanco C, Lopeztorrejon G, Cumplido J, Recas M, Figueroa J, et al. Differential allergen sensitization patterns in chestnut allergy with or

- without associated latex-fruit syndrome. *J Allergy Clin Immunol.* septiembre de 2006;118(3):705-10.
180. Cabanillas B, Cheng H, Grimm CC, Hurlburt BK, Rodríguez J, Crespo JF, et al. Pine nut allergy: Clinical features and major allergens characterization. *Mol Nutr Food Res.* diciembre de 2012;56(12):1884-93.
181. Cabanillas B, Novak N. Allergic Reactions to Pine Nut: A Review. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2015;25(5):329-33.
182. Cabanillas B, Crespo JF, Maleki SJ, Rodriguez J, Novak N. Pin p 1 is a major allergen in pine nut and the first food allergen described in the plant group of gymnosperms. *Food Chem.* 1 de noviembre de 2016;210:70-7.
183. Asero R, Bresciani M, Cervone M, Minale P, Murzilli F, Quercia O, et al. Analysis of the IgE response to pine nut allergens in Italian allergic patients. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2014;24(3):204-6.
184. García-Menaya JM, Gonzalo-Garijo MA, Moneo I, Fernández B, García-González F, Moreno F. A 17-kDa allergen detected in pine nuts. *Allergy.* marzo de 2000;55(3):291-3.
185. Bonds RS, Midoro-Horiuti T, Goldblum R. A structural basis for food allergy: the role of cross-reactivity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* febrero de 2008;8(1):82-6.
186. Cox AL, Eigenmann PA, Sicherer SH. Clinical Relevance of Cross-Reactivity in Food Allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract.* enero de 2021;9(1):82-99.
187. Aalberse RC. Structural biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol.* agosto de 2000;106(2):228-38.
188. Fleischer DM, Conover-Walker MK, Matsui EC, Wood RA. The natural history of tree nut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* noviembre de 2005;116(5):1087-93.
189. Sicherer SH, Burks AW, Sampson HA. Clinical features of acute allergic reactions to peanut and tree nuts in children. *Pediatrics.* julio de 1998;102(1):e6.
190. Cousin M, Verdun S, Seynave M, Vilain A-C, Lansiaux A, Decoster A, et al. Phenotypical characterization of peanut allergic children with differences in

- cross-allergy to tree nuts and other legumes. *Pediatr Allergy Immunol Off Publ Eur Soc Pediatr Allergy Immunol*. mayo de 2017;28(3):245-50.
191. Ball H, Luyt D, Bravin K, Kirk K. Single nut or total nut avoidance in nut allergic children: outcome of nut challenges to guide exclusion diets. *Pediatr Allergy Immunol Off Publ Eur Soc Pediatr Allergy Immunol*. diciembre de 2011;22(8):808-12.
192. McWilliam V, Peters R, Tang MLK, Dharmage S, Ponsonby A-L, Gurrin L, et al. Patterns of tree nut sensitization and allergy in the first 6 years of life in a population-based cohort. *J Allergy Clin Immunol*. febrero de 2019;143(2):644-650.e5.
193. Elizur A, Appel MY, Nachshon L, Levy MB, Epstein-Rigbi N, Golobov K, et al. NUT Co Reactivity - ACquiring Knowledge for Elimination Recommendations (NUT CRACKER) study. *Allergy*. marzo de 2018;73(3):593-601.
194. Clark AT, Ewan PW. The development and progression of allergy to multiple nuts at different ages. *Pediatr Allergy Immunol*. septiembre de 2005;16(6):507-11.
195. Skolnick HS, Conover-Walker MK, Koerner CB, Sampson HA, Burks W, Wood RA. The natural history of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol*. febrero de 2001;107(2):367-74.
196. Reglamento (UE) no 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 25 de octubre de 2011, sobre la información alimentaria facilitada al consumidor y por el que se modifican los Reglamentos (CE) no 1924/2006 y (CE) no 1925/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, y por el que se derogan la Directiva 87/250/CEE de la Comisión, la Directiva 90/496/CEE del Consejo, la Directiva 1999/10/CE de la Comisión, la Directiva 2000/13/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, las Directivas 2002/67/CE, y 2008/5/CE de la Comisión, y el Reglamento (CE) no 608/2004 de la Comisión. Texto pertinente a efectos del EEE. :46.
197. Schroer B, Bjelac J. Moving Past "Avoid All Nuts". *Immunol Allergy Clin North Am*. noviembre de 2019;39(4):495-506.
198. Campbell RL, Luke A, Weaver AL, St Sauver JL, Bergstralh EJ, Li JT, et al. Pres-

- criptions for self-injectable epinephrine and follow-up referral in emergency department patients presenting with anaphylaxis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* diciembre de 2008;101(6):631-6.
199. Muraro A, Roberts G, Worm M, Bilò MB, Brockow K, Fernández Rivas M, et al. Anaphylaxis: guidelines from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy.* agosto de 2014;69(8):1026-45.
200. Portnoy J, Wade RL, Kessler C. Patient Carrying Time, Confidence, and Training with Epinephrine Autoinjectors: The RACE Survey. *J Allergy Clin Immunol Pract.* septiembre de 2019;7(7):2252-61.
201. Maa T, Scherzer DJ, Harwayne-Gidansky I, Capua T, Kessler DO, Trainor JL, et al. Prevalence of Errors in Anaphylaxis in Kids (PEAK): A Multicenter Simulation-Based Study. *J Allergy Clin Immunol Pract.* abril de 2020;8(4):1239-1246. e3.
202. Pajno GB, Fernandez-Rivas M, Arasi S, Roberts G, Akdis CA, Alvaro-Lozano M, et al. EAACI Guidelines on allergen immunotherapy: IgE-mediated food allergy. *Allergy.* abril de 2018;73(4):799-815.
203. Feuille E, Nowak-Wegrzyn A. Allergen-Specific Immunotherapies for Food Allergy. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2018;10(3):189.
204. Albuhairei S, Rachid R. Novel Therapies for Treatment of Food Allergy. *Immunol Allergy Clin North Am.* febrero de 2020;40(1):175-86.
205. Brough HA, Gourgey R, Radulovic S, Caubet JC, Lack G, Anagnostou A. Latest Developments in the Management of Nut Allergies. *Curr Treat Options Allergy.* junio de 2021;8(2):97-110.
206. Patriarca G, Schiavino D, Nucera E, Schinco G, Milani A, Gasbarrini GB. Food allergy in children: results of a standardized protocol for oral desensitization. *Hepatology.* febrero de 1998;45(19):52-8.
207. 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.* febrero de 2003;17(3):459-65.
208. 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*. septiembre de 2004;59(9):980-7.
209. Martorell A, Alonso E, Echeverría L, Escudero C, García-Rodríguez R, Blasco C, et al. Oral Immunotherapy for Food Allergy: A Spanish Guideline. Egg and Milk Immunotherapy Spanish Guide (ITEMS GUIDE). Part II: Maintenance Phase of Cow Milk (CM) and Egg Oral Immunotherapy (OIT), Special Treatment Dosing Schedules. Models of Dosing Schedules of OIT With CM and Egg. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 20 de octubre de 2017;27(5):279-90.
210. Martorell A, Alonso E, Echeverría L, Escudero C, García-Rodríguez R, Blasco C, et al. Oral Immunotherapy for Food Allergy: A Spanish Guideline. Immunotherapy Egg and Milk Spanish Guide (ITEMS Guide). Part I: Cow Milk and Egg Oral Immunotherapy: Introduction, Methodology, Rationale, Current State, Indications, Contraindications, and Oral Immunotherapy Build-up Phase. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 21 de julio de 2017;27(4):225-37.
211. Bégin P, Chan ES, Kim H, Wagner M, Cellier MS, Favron-Godbout C, et al. CSACI guidelines for the ethical, evidence-based and patient-oriented clinical practice of oral immunotherapy in IgE-mediated food allergy. *Allergy Asthma Clin Immunol Off J Can Soc Allergy Clin Immunol*. 2020;16:20.
212. Burks AW, Sampson HA, Plaut M, Lack G, Akdis CA. Treatment for food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. enero de 2018;141(1):1-9.
213. Baumert JL, Taylor SL, Koppelman SJ. Quantitative Assessment of the Safety Benefits Associated with Increasing Clinical Peanut Thresholds Through Immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol Pract*. marzo de 2018;6(2):457-465.e4.
214. Remington BC, Krone T, Kim EH, Bird JA, Green TD, Lack G, et al. Estimated risk reduction to packaged food reactions by epicutaneous immunotherapy (EPIT) for peanut allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. noviembre de 2019;123(5):488-493.e2.
215. Nelson H, Lahr J, Rule R, Bock A, Leung D. Treatment of anaphylactic sensitivity to peanuts by immunotherapy with injections of aqueous peanut extract. *J Allergy Clin Immunol*. junio de 1997;99(6):744-51.
216. Oppenheimer J, Nelson H, Bock S, Christensen F, Leung D. Treatment of pea-

- nut allergy with rush immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* agosto de 1992;90(2):256-62.
217. Gernez Y, Nowak-Wegrzyn A. Immunotherapy for Food Allergy: Are We There Yet? *J Allergy Clin Immunol Pract.* marzo de 2017;5(2):250-72.
218. Nurmatov U, Dhimi S, Arasi S, Pajno GB, Fernandez-Rivas M, Muraro A, et al. Allergen immunotherapy for IgE-mediated food allergy: a systematic review and meta-analysis. *Allergy.* agosto de 2017;72(8):1133-47.
219. Chu DK, Wood RA, French S, Fiocchi A, Jordana M, Wasserman S, et al. Oral immunotherapy for peanut allergy (PACE): a systematic review and meta-analysis of efficacy and safety. *The Lancet.* junio de 2019;393(10187):2222-32.
220. Syed A, Garcia MA, Lyu S-C, Bucayu R, Kohli A, Ishida S, et al. Peanut oral immunotherapy results in increased antigen-induced regulatory T-cell function and hypomethylation of forkhead box protein 3 (FOXP3). *J Allergy Clin Immunol.* febrero de 2014;133(2):500-510.e11.
221. Vickery BP, Scurlock AM, Kulis M, Steele PH, Kamilaris J, Berglund JP, et al. Sustained unresponsiveness to peanut in subjects who have completed peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* febrero de 2014;133(2):468-475.e6.
222. Virkud YV, Burks AW, Steele PH, Edwards LJ, Berglund JP, Jones SM, et al. Novel baseline predictors of adverse events during oral immunotherapy in children with peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* marzo de 2017;139(3):882-888.e5.
223. The PALISADE Group of Clinical Investigators. AR101 Oral Immunotherapy for Peanut Allergy. *N Engl J Med.* 22 de noviembre de 2018;379(21):1991-2001.
224. Lucendo AJ, Arias Á, Tenias JM. Relation between eosinophilic esophagitis and oral immunotherapy for food allergy: a systematic review with meta-analysis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* diciembre de 2014;113(6):624-9.
225. Varshney P, Steele PH, Vickery BP, Bird JA, Thyagarajan A, Scurlock AM, et al. Adverse reactions during peanut oral immunotherapy home dosing. *J Allergy Clin Immunol.* diciembre de 2009;124(6):1351-2.

226. Moraly T, Pelletier de Chambure D, Verdun S, Preda C, Seynave M, Vilain AC, et al. Oral Immunotherapy for Hazelnut Allergy: A Single-Center Retrospective Study on 100 Patients. *J Allergy Clin Immunol Pract.* febrero de 2020;8(2):704-709.e4.
227. Sabouraud M, Biermé P, André-Gomez S-A, Villard-Truc F, Payot F, Corréard A-K, et al. Real-life experience with hazelnut oral immunotherapy. *Ann Allergy Asthma Immunol.* enero de 2022;S1081120622000035.
228. Elizur A, Appel MY, Nachshon L, Levy MB, Epstein-Rigbi N, Pontoppidan B, et al. Walnut oral immunotherapy for desensitisation of walnut and additional tree nut allergies (Nut CRACKER): a single-centre, prospective cohort study. *Lancet Child Adolesc Health.* mayo de 2019;3(5):312-21.
229. Elizur A, Appel MY, Nachshon L, Levy MB, Epstein-Rigbi N, Koren Y, et al. Cashew oral immunotherapy for desensitizing cashew-pistachio allergy (NUT CRACKER study). *Allergy.* 9 de enero de 2022;
230. Eapen AA, Lavery WJ, Siddiqui JS, Lierl MB. Oral immunotherapy for multiple foods in a pediatric allergy clinic setting. *Ann Allergy Asthma Immunol.* diciembre de 2019;123(6):573-581.e3.
231. Andorf S, Purington N, Block WM, Long AJ, Tupa D, Brittain E, et al. Anti-IgE treatment with oral immunotherapy in multifeed allergic participants: a double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* febrero de 2018;3(2):85-94.
232. Jones SM, Pons L, Roberts JL, Scurlock AM, Perry TT, Kulis M, et al. Clinical efficacy and immune regulation with peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* agosto de 2009;124(2):292-300.e97.
233. Varshney P, Jones SM, Scurlock AM, Perry TT, Kemper A, Steele P, et al. A randomized controlled study of peanut oral immunotherapy: Clinical desensitization and modulation of the allergic response. *J Allergy Clin Immunol.* marzo de 2011;127(3):654-60.
234. Anagnostou K, Islam S, King Y, Foley L, Pasea L, Bond S, et al. Assessing the efficacy of oral immunotherapy for the desensitisation of peanut allergy in children (STOP II): a phase 2 randomised controlled trial. *The Lancet.* abril de 2014;383(9925):1297-304.

235. Bird JA, Spergel JM, Jones SM, Rachid R, Assa'ad AH, Wang J, et al. Efficacy and Safety of AR101 in Oral Immunotherapy for Peanut Allergy: Results of ARC001, a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 2 Clinical Trial. *J Allergy Clin Immunol Pract.* marzo de 2018;6(2):476-485.e3.
236. O'B Hourihane J, Beyer K, Abbas A, Fernández-Rivas M, Turner PJ, Blumchen K, et al. Efficacy and safety of oral immunotherapy with AR101 in European children with a peanut allergy (ARTEMIS): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Child Adolesc Health.* octubre de 2020;4(10):728-39.
237. Chinthrajah RS, Purington N, Andorf S, Long A, O'Laughlin KL, Lyu SC, et al. Sustained outcomes in oral immunotherapy for peanut allergy (POISED study): a large, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 study. *The Lancet.* octubre de 2019;394(10207):1437-49.
238. Vickery BP, Vereda A, Nilsson C, du Toit G, Shreffler WG, Burks AW, et al. Continuous and Daily Oral Immunotherapy for Peanut Allergy: Results from a 2-Year Open-Label Follow-On Study. *J Allergy Clin Immunol Pract.* mayo de 2021;9(5):1879-1889.e13.
239. Schneider LC, Rachid R, LeBovidge J, Blood E, Mittal M, Umetsu DT. A pilot study of omalizumab to facilitate rapid oral desensitization in high-risk peanut-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol.* diciembre de 2013;132(6):1368-74.
240. MacGinnitie AJ, Rachid R, Gragg H, Little SV, Lakin P, Cianferoni A, et al. Omalizumab facilitates rapid oral desensitization for peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* marzo de 2017;139(3):873-881.e8.
241. Vickery BP, Berglund JP, Burk CM, Fine JP, Kim EH, Kim JI, et al. Early oral immunotherapy in peanut-allergic preschool children is safe and highly effective. *J Allergy Clin Immunol.* enero de 2017;139(1):173-181.e8.
242. Jones SM, Kim EH, Nadeau KC, Nowak-Wegrzyn A, Wood RA, Sampson HA, et al. Efficacy and safety of oral immunotherapy in children aged 1–3 years with peanut allergy (the Immune Tolerance Network IMPACT trial): a randomised placebo-controlled study. *The Lancet.* enero de 2022;399(10322):359-71.

243. Narisety SD, Frischmeyer-Guerrero PA, Keet CA, Gorelik M, Schroeder J, Hamilton RG, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of sublingual versus oral immunotherapy for the treatment of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* mayo de 2015;135(5):1275-1282.e6.
244. Fleischer DM, Burks AW, Vickery BP, Scurlock AM, Wood RA, Jones SM, et al. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial. *J Allergy Clin Immunol.* enero de 2013;131(1):119-127.e7.
245. Egan M, Atkins D. What Is the Relationship Between Eosinophilic Esophagitis (EoE) and Aeroallergens? Implications for Allergen Immunotherapy. *Curr Allergy Asthma Rep.* 16 de junio de 2018;18(8):43.
246. Enrique E, Pineda F, Malek T, Bartra J, Basagaña M, Tella R, et al. Sublingual immunotherapy for hazelnut food allergy: A randomized, double-blind, placebo-controlled study with a standardized hazelnut extract. *J Allergy Clin Immunol.* noviembre de 2005;116(5):1073-9.
247. Enrique E, Malek T, Pineda F, Palacios R, Bartra J, Tella R, et al. SUBLINGUAL IMMUNOTHERAPY FOR HAZELNUT FOOD ALLERGY: A FOLLOW-UP STUDY. *Ann Allergy Asthma Immunol.* marzo de 2008;100(3):283-4.
248. Kim EH, Bird JA, Kulis M, Laubach S, Pons L, Shreffler W, et al. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: Clinical and immunologic evidence of desensitization. *J Allergy Clin Immunol.* marzo de 2011;127(3):640-646.e1.
249. Di Meglio P, Perera GK, Nestle FO. The multitasking organ: recent insights into skin immune function. *Immunity.* 23 de diciembre de 2011;35(6):857-69.
250. Egawa G, Kabashima K. Multifactorial skin barrier deficiency and atopic dermatitis: Essential topics to prevent the atopic march. *J Allergy Clin Immunol.* agosto de 2016;138(2):350-358.e1.
251. Nestle FO, Di Meglio P, Qin J-Z, Nickoloff BJ. Skin immune sentinels in health and disease. *Nat Rev Immunol.* octubre de 2009;9(10):679-91.
252. Metz M, Maurer M. Innate immunity and allergy in the skin. *Curr Opin Immunol.* diciembre de 2009;21(6):687-93.

253. Tordesillas L, Lozano-Ojalvo D, Dunkin D, Mondoulet L, Agudo J, Merad M, et al. PDL2+ CD11b+ dermal dendritic cells capture topical antigen through hair follicles to prime LAP+ Tregs. *Nat Commun.* 7 de diciembre de 2018;9(1):5238.
254. Bird JA, Sánchez-Borges M, Ansotegui IJ, Ebisawa M, Ortega Martell JA. Skin as an immune organ and clinical applications of skin-based immunotherapy. *World Allergy Organ J.* 2018;11:38.
255. Strid J, Hourihane J, Kimber I, Callard R, Strobel S. Disruption of the stratum corneum allows potent epicutaneous immunization with protein antigens resulting in a dominant systemic Th2 response. *Eur J Immunol.* agosto de 2004;34(8):2100-9.
256. Palomares O, Yaman G, Azkur AK, Akkoc T, Akdis M, Akdis CA. Role of Treg in immune regulation of allergic diseases. *Eur J Immunol.* mayo de 2010;40(5):1232-40.
257. Blamoutier P, Blamoutier J, Guibert L. [Treatment of pollinosis with pollen extracts by the method of cutaneous quadrille ruling]. *Presse Med.* 25 de diciembre de 1959;67:2299-301.
258. Senti G, Graf N, Haug S, Rüedi N, von Moos S, Sonderegger T, et al. Epicutaneous allergen administration as a novel method of allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* noviembre de 2009;124(5):997-1002.
259. Dupont C, Kalach N, Soulaïnes P, Legoué-Morillon S, Piloquet H, Benhamou P-H. Cow's milk epicutaneous immunotherapy in children: A pilot trial of safety, acceptability, and impact on allergic reactivity. *J Allergy Clin Immunol.* mayo de 2010;125(5):1165-7.
260. Fleischer DM, Greenhawt M, Sussman G, Bégin P, Nowak-Wegrzyn A, Petroni D, et al. Effect of Epicutaneous Immunotherapy vs Placebo on Reaction to Peanut Protein Ingestion Among Children With Peanut Allergy: The PEPITES Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 12 de marzo de 2019;321(10):946.
261. Sampson HA, Shreffler WG, Yang WH, Sussman GL, Brown-Whitehorn TF, Nadeau KC, et al. Effect of Varying Doses of Epicutaneous Immunotherapy vs Placebo on Reaction to Peanut Protein Exposure Among Patients With

- Peanut Sensitivity: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 14 de noviembre de 2017;318(18):1798.
262. Jones SM, Sicherer SH, Burks AW, Leung DYM, Lindblad RW, Dawson P, et al. Epicutaneous immunotherapy for the treatment of peanut allergy in children and young adults. *J Allergy Clin Immunol*. abril de 2017;139(4):1242-1252.e9.
263. Jones SM, Agbotounou WK, Fleischer DM, Burks AW, Pesek RD, Harris MW, et al. Safety of epicutaneous immunotherapy for the treatment of peanut allergy: A phase 1 study using the Viaskin patch. *J Allergy Clin Immunol*. abril de 2016;137(4):1258-1261.e10.
264. Mondoulet L, Dioszeghy V, Ligouis M, Dhelft V, Dupont C, Benhamou P-H. Epicutaneous immunotherapy on intact skin using a new delivery system in a murine model of allergy. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. abril de 2010;40(4):659-67.
265. Mondoulet L, Dioszeghy V, Vanoirbeek JAJ, Nemery B, Dupont C, Benhamou P-H. Epicutaneous immunotherapy using a new epicutaneous delivery system in mice sensitized to peanuts. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;154(4):299-309.
266. Langlois A, Graham F, Bégin P. Epicutaneous peanut patch device for the treatment of peanut allergy. *Expert Rev Clin Immunol*. 4 de mayo de 2019;15(5):449-60.
267. Fleischer DM, Chinthrajah S, Scurlock AM, Campbell DE, Green TD, Bee KJ, et al. An evaluation of factors in uencing response to epicutaneous immunotherapy for peanut allergy in the PEPITES trial. *Allergy Asthma Proc*. 1 de septiembre de 2020;41(5):326-35.
268. Lanser BJ, Leung DYM. The Current State of Epicutaneous Immunotherapy for Food Allergy: a Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol*. octubre de 2018;55(2):153-61.
269. Xiong L, Lin J, Luo Y, Chen W, Dai J. The Ef cacy and Safety of Epicutaneous Immunotherapy for Allergic Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int Arch Allergy Immunol*. 2020;181(3):170-82.

270. Sampson HA, Agbotounou W, Thébault C, Charles R, Martin L, Yang WH, et al. Epicutaneous Immunotherapy (EPIT) Is Effective and Safe to Treat Peanut Allergy: A Multi-National Double-Blind Placebo-Controlled Randomized Phase IIb Trial. *J Allergy Clin Immunol*. febrero de 2015;135(2):AB390.
271. Fleischer DM, Shreffler WG, Campbell DE, Green TD, Anvari S, Assaad A, et al. Long-term, open-label extension study of the efficacy and safety of epicutaneous immunotherapy for peanut allergy in children: PEOPLE 3-year results. *J Allergy Clin Immunol*. octubre de 2020;146(4):863-74.
272. Brown-Whitehorn TF, de Blay F, Spergel JM, Green TD, Peillon A, Sampson HA, et al. Sustained unresponsiveness to peanut after long-term peanut epicutaneous immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol Pract*. enero de 2021;9(1):524-6.
273. Fleischer DM, Spergel JM, Kim EH, Campbell DE, Green TD, Bee KJ, et al. Evaluation of daily patch application duration for epicutaneous immunotherapy for peanut allergy. *Allergy Asthma Proc*. 1 de julio de 2020;41(4):278-84.
274. DunnGalvin A, Fleischer DM, Campbell DE, O'B Hourihane J, Green TD, Sampson HA, et al. Improvements in Quality of Life in Children Following Epicutaneous Immunotherapy (EPIT) for Peanut Allergy in the PEPITES and PEOPLE Studies. *J Allergy Clin Immunol Pract*. enero de 2021;9(1):216-224.e1.
275. Pongracic JA, Gagnon R, Sussman G, Siri D, Oriel RC, Brown-Whitehorn TF, et al. Safety of Epicutaneous Immunotherapy in Peanut-Allergic Children: REALISE Randomized Clinical Trial Results. *J Allergy Clin Immunol Pract*. noviembre de 2021;S2213219821012952.
276. Berin MC, Sampson HA. Mucosal immunology of food allergy. *Curr Biol*. 6 de mayo de 2013;23(9):R389-400.
277. Vignali DAA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol*. julio de 2008;8(7):523-32.
278. Vickery BP, Scurlock AM, Jones SM, Burks AW. Mechanisms of immune tolerance relevant to food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. marzo de 2011;127(3):576-84; quiz 585-6.

279. Kucuksezer UC, Ozdemir C, Cevhertas L, Ogulur I, Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy and allergen tolerance. *Allergol Int.* octubre de 2020;69(4):549-60.
280. Gorelik L, Constant S, Flavell RA. Mechanism of transforming growth factor beta-induced inhibition of T helper type 1 differentiation. *J Exp Med.* 3 de junio de 2002;195(11):1499-505.
281. Gorelik L, Fields PE, Flavell RA. Cutting edge: TGF-beta inhibits Th type 2 development through inhibition of GATA-3 expression. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1 de noviembre de 2000;165(9):4773-7.
282. Mora JR, Iwata M, Eksteen B, Song S-Y, Junt T, Senman B, et al. Generation of gut-homing IgA-secreting B cells by intestinal dendritic cells. *Science.* 17 de noviembre de 2006;314(5802):1157-60.
283. Patil SU, Steinbrecher J, Calatroni A, Smith N, Ma A, Ruitter B, et al. Early decrease in basophil sensitivity to Ara h 2 precedes sustained unresponsiveness after peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* noviembre de 2019;144(5):1310-1319.e4.
284. Koppelman SJ, Peillon A, Agbotounou W, Sampson HA, Martin L. Epicutaneous immunotherapy for peanut allergy modifies IgG4 responses to major peanut allergens. *J Allergy Clin Immunol.* marzo de 2019;143(3):1218-1221.e4.
285. Orgel K, Burk C, Smeekens J, Suber J, Hardy L, Guo R, et al. Blocking antibodies induced by peanut oral and sublingual immunotherapy suppress basophil activation and are associated with sustained unresponsiveness. *Clin Exp Allergy.* abril de 2019;49(4):461-70.
286. Smeekens JM, Kulis MD. Evolution of Immune Responses in Food Immunotherapy. *Immunol Allergy Clin North Am.* febrero de 2020;40(1):87-95.
287. Nagai Y, Shiraishi D, Tanaka Y, Nagasawa Y, Ohwada S, Shimauchi H, et al. Transportation of sublingual antigens across sublingual ductal epithelial cells to the ductal antigen-presenting cells in mice. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* marzo de 2015;45(3):677-86.

288. Dioszeghy V, Mondoulet L, Dhelft V, Ligouis M, Puteaux E, Benhamou P-H, et al. Epicutaneous immunotherapy results in rapid allergen uptake by dendritic cells through intact skin and downregulates the allergen-specific response in sensitized mice. *J Immunol Baltim Md 1950*. 15 de mayo de 2011;186(10):5629-37.
289. Dioszeghy V, Mondoulet L, Puteaux E, Dhelft V, Ligouis M, Plaquet C, et al. Differences in phenotype, homing properties and suppressive activities of regulatory T cells induced by epicutaneous, oral or sublingual immunotherapy in mice sensitized to peanut. *Cell Mol Immunol*. septiembre de 2017;14(9):770-82.
290. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 7 de mayo de 1976;72:248-54.
291. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 15 de agosto de 1970;227(5259):680-5.
292. Johansen JD, Aalto-Korte K, Agner T, Andersen KE, Bircher A, Bruze M, et al. European Society of Contact Dermatitis guideline for diagnostic patch testing - recommendations on best practice: ESCD PATCH TEST GUIDELINE. *Contact Dermatitis*. octubre de 2015;73(4):195-221.
293. Neale H, Garza-Mayers AC, Tam I, Yu J. Pediatric allergic contact dermatitis. Part 2: Patch testing series, procedure, and unique scenarios. *J Am Acad Dermatol*. febrero de 2021;84(2):247-55.
294. Ballmer-Weber BK, Beyer K. Food challenges. *J Allergy Clin Immunol*. enero de 2018;141(1):69-71.e2.
295. Vlieg-Boerstra BJ, van der Heide S, Bijleveld CMA, Kukler J, Duiverman EJ, Dubois AEJ. Placebo reactions in double-blind, placebo-controlled food challenges in children. *Allergy*. agosto de 2007;62(8):905-12.
296. Atkinson MJ, Sinha A, Hass SL, Colman SS, Kumar RN, Brod M, et al. Validation of a general measure of treatment satisfaction, the Treatment Satisfaction Questionnaire for Medication (TSQM), using a national panel study of chronic disease. *Health Qual Life Outcomes*. 2004;13.

297. Li TM, Chuang T, Tse S, Hovanec-Burns D, El Shami AS. Development and validation of a third generation allergen-specific IgE assay on the continuous random access IMMULITE 2000 analyzer. *Ann Clin Lab Sci.* 2004;34(1):67-74.
298. Löttsch B, Dölle S, Vieths S, Worm M. Exploratory analysis of CD63 and CD203c expression in basophils from hazelnut sensitized and allergic individuals. *Clin Transl Allergy.* diciembre de 2016;6(1):45.
299. Worm M, Hompes S, Fiedler E-M, Illner A-K, Zuberbier T, Vieths S. Impact of native, heat-processed and encapsulated hazelnuts on the allergic response in hazelnut-allergic patients. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* enero de 2009;39(1):159-66.
300. Harwanegg C, Laffer S, Hiller R, Mueller MW, Kraft D, Spitzauer S, et al. Microarrayed recombinant allergens for diagnosis of allergy. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* enero de 2003;33(1):7-13.
301. Harwanegg C, Hiller R. Protein microarrays for the diagnosis of allergic diseases: state-of-the-art and future development. *Clin Chem Lab Med.* 2005;43(12):1321-6.
302. Remington BC, Krone T, Kim EH, Bird JA, Green TD, Lack G, et al. Estimated risk reduction to packaged food reactions by epicutaneous immunotherapy (EPIT) for peanut allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol.* noviembre de 2019;123(5):488-493.e2.
303. Tice JA, Guzauskas GF, Hansen RN, Herron-Smith S, Segel C, Walsh JME, et al. The Effectiveness and Value of Oral Immunotherapy and Viaskin Peanut for Peanut Allergy: A Summary from the Institute for Clinical and Economic Review's California Technology Assessment Forum. *J Manag Care Spec Pharm.* mayo de 2020;26(5):620-3.
304. Paranjape A, Tsai M, Mukai K, Hoh RA, Joshi SA, Chinthrajah RS, et al. Oral Immunotherapy and Basophil and Mast Cell Reactivity in Food Allergy. *Front Immunol.* 14 de diciembre de 2020;11:602660.
305. Karasuyama H, Miyake K, Yoshikawa S, Yamanishi Y. Multifaceted roles of basophils in health and disease. *J Allergy Clin Immunol.* agosto de 2018;142(2):370-80.

306. Schroeder JT, MacGlashan DW, Lichtenstein LM. Human basophils: mediator release and cytokine production. *Adv Immunol.* 2001;77:93-122.
307. Schoos A-MM, Bullens D, Chawes BL, Costa J, De Vlieger L, DunnGalvin A, et al. Immunological Outcomes of Allergen-Specific Immunotherapy in Food Allergy. *Front Immunol.* 3 de noviembre de 2020;11:568598.
308. Vila L, Moreno A, Gamboa PM, Martínez-Aranguren R, Sanz ML. Decrease in antigen-specific CD63 basophil expression is associated with the development of tolerance to egg by SOTI in children. *Pediatr Allergy Immunol Off Publ Eur Soc Pediatr Allergy Immunol.* agosto de 2013;24(5):463-8.
309. Hansen KS, Ballmer-Weber BK, Sastre J, Lidholm J, Andersson K, Oberhofer H, et al. Component-resolved in vitro diagnosis of hazelnut allergy in Europe. *J Allergy Clin Immunol.* mayo de 2009;123(5):1134-1141.e3.
310. Asero R, Piantanida M, Pinter E, Pravettoni V. The clinical relevance of lipid transfer protein. *Clin Exp Allergy.* enero de 2018;48(1):6-12.
311. Hartz C, Lauer I, del Mar San Miguel Moncin M, Cistero-Bahima A, Foetisch K, Lidholm J, et al. Comparison of IgE-binding capacity, cross-reactivity and biological potency of allergenic non-specific lipid transfer proteins from peach, cherry and hazelnut. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;153(4):335-46.
312. Masthoff LJN, Mattsson L, Zuidmeer-Jongejan L, Lidholm J, Andersson K, Akkerdaas JH, et al. Sensitization to Cor a 9 and Cor a 14 is highly specific for a hazelnut allergy with objective symptoms in Dutch children and adults. *J Allergy Clin Immunol.* agosto de 2013;132(2):393-9.

XI. Anexos

ANEXO I.

NORMAS DE APLICACIÓN DE PARCHES ESTUDIO EPICUTÁNEA AVELLANA

La jeringa que le hemos dado tiene una capacidad de 1ml, dividida en 10 partes de 0,1 ml cada una. Usted deberá administrar en cada parche 0,05 ml (marcado por líneas negras).

Tras ponerlo en el parche (en uno solo de los cacitos), péguelo en la espalda entre los omóplatos. Cada día cambiará el parche por uno nuevo que situará en una zona distinta al previo. Puede hacerlo siguiendo la dirección de las agujas del reloj para seguir un orden.

La jeringa debe guardarse en la nevera.

Posibles reacciones adversas:

- Locales:
 - Grado 1: Rojez:
 - Grado 2: Rojez y piel endurecida:
 - Grado 3: Rojez y aparición de bultos/ronchas dentro de la zona del parche:
 - Grado 4: Rojez y bultos/ronchas pegadas a la zona del parche:
 - Grado 5: Rojez y ampollas o vesículas:

- Generalizadas:
 - Picor generalizado:
 - Urticaria a distancia de la zona del parche:
 - Episodios de inflamación (labial, lingual, ocular...)
 - Moqueo y estornudos:
 - Picor y enrojecimiento ocular:
 - Dificultad para respirar:
 - Auto escucha de pitos al respirar:
 - Tos:
 - Dolor abdominal:
 - Diarrea:
 - Vómitos:
 - Mal estar general:
 - Otros:

ACTUACIÓN ANTE REACCIONES

Ante reacción local: (mayor a grado 3)

- Quitar el parche y lavar la zona
- Aplicación de Lexxema® en zona

Ante reacción generalizada:

- Quitar el parche, lavar la zona, tratar como una reacción accidental alérgica (según indicaciones dadas en consultas) y acudir a urgencias

Ante reacciones o dudas llamar al teléfono: 911914109, 911914112; 911914462; 911914200

ANEXO II.

PROVOCACIÓN SIMPLE CIEGO CONTROLADA CON PLACEBO

Nombre:

NH:

Fecha:

Activo **Placebo**

DOSIS 1: Hora:

• **Síntomas:**

- Orofaringeos:
- Cutáneos:
- Digestivos:
- Respiratorios:
- Anafilaxia:
- Otros:

• **Inicio de reacción tras la ingesta de la dosis:**

<1 min 1-5 min >5-10 min >10-15 min >15-20 min >20 min

otro intervalo (especificar):

- **Cantidad de dosis ingerida:** Total o parte (especificar):

DOSIS 2: Hora:

• **Síntomas:**

- Orofaringeos:
- Cutáneos:
- Digestivos:
- Respiratorios:
- Anafilaxia:
- Otros:

• **Inicio de reacción tras la ingesta de la dosis:**

<1 min 1-5 min >5-10 min >10-15 min >15-20 min >20 min

otro intervalo (especificar):

- **Cantidad de dosis ingerida:** Total o parte (especificar):

DOSIS 3: Hora:

• **Síntomas:**

- Orofaringeos:
- Cutáneos:
- Digestivos:
- Respiratorios:
- Anafilaxia:
- Otros:

• **Inicio de reacción tras la ingesta de la dosis:**

<1 min 1-5 min >5-10 min >10-15 min >15-20 min >20 min

otro intervalo (especificar):

- **Cantidad de dosis ingerida:** Total o parte (especificar):

DOSIS 4: Hora:• **Síntomas:**

- Orofaringeos:
- Cutáneos:
- Digestivos:
- Respiratorios:
- Anafilaxia:
- Otros:

• **Inicio de reacción tras la ingesta de la dosis:**

<1 min 1-5 min >5-10 min >10-15 min >15-20 min >20 min

otro intervalo (especificar):

• **Cantidad de dosis ingerida:** Total o parte (especificar):**DOSIS 5: Hora:**• **Síntomas:**

- Orofaringeos:
- Cutáneos:
- Digestivos:
- Respiratorios:
- Anafilaxia:
- Otros:

• **Inicio de reacción tras la ingesta de la dosis:**

<1 min 1-5 min >5-10 min >10-15 min >15-20 min >20 min

otro intervalo (especificar):

• **Cantidad de dosis ingerida:** Total o parte (especificar):**DOSIS 6: Hora:**• **Síntomas:**

- Orofaringeos:
- Cutáneos:
- Digestivos:
- Respiratorios:
- Anafilaxia:
- Otros:

• **Inicio de reacción tras la ingesta de la dosis:**

<1 min 1-5 min >5-10 min >10-15 min >15-20 min >20 min

otro intervalo (especificar):

• **Cantidad de dosis ingerida:** Total o parte (especificar):**DOSIS 7: Hora:**• **Síntomas:**

- Orofaringeos:
- Cutáneos:
- Digestivos:
- Respiratorios:
- Anafilaxia:

- Otros:

- **Inicio de reacción tras la ingesta de la dosis:**

<1 min 1-5 min >5-10 min >10-15 min >15-20 min >20 min

otro intervalo (especificar):

- **Cantidad de dosis ingerida:** Total o parte (especificar):

DOSIS 8: Hora:

- **Síntomas:**

- Orofaringeos:
- Cutáneos:
- Digestivos:
- Respiratorios:
- Anafilaxia:
- Otros:

- **Inicio de reacción tras la ingesta de la dosis:**

<1 min 1-5 min >5-10 min >10-15 min >15-20 min >20 min

otro intervalo (especificar):

- **Cantidad de dosis ingerida:** Total o parte (especificar):

TRATAMIENTO ADMINISTRADO EN CASO DE REACCIÓN

- Antihistamínico:
- Corticoide:
- B2 inhalado:
- Adrenalina:
- Otros:

ANEXO III.

CUESTIONARIO SOBRE EL PARCHES (PADRES)

Instrucciones:

Vamos a hacerle unas preguntas sobre el parche que ha utilizado su hijo/a estos meses. Las preguntas 1 a la 10 son en relación a cómo cree usted que su hijo/a ha estado estos meses con el parche. De la 11 a la 13 son preguntas técnicas en relación con el parche.

Responda a cada pregunta marcando la casilla correspondiente con una "x".

1. ¿Ha tenido problemas con el parche?

1 Sí 0 No (Si la respuesta es No, pasa a la pregunta 6)

2. ¿Cuánto le han molestado los problemas con el parche?

1 Muchísimo 2 Mucho 3 Algo 4 Poco 5 Nada

3. Por culpa del parche, ¿ha tenido que dejar de hacer ejercicio físico o sus actividades físicas habituales?

1 Siempre 2 Casi siempre 3 A veces 4 Casi nunca 5 Nunca

4. Por culpa del parche, ¿le ha costado mantenerse despierto o concentrarse en clase?

1 Muchísimo 2 Mucho 3 Algo 4 Muy poco 5 Nada

5. Por estos problemas con el parche, ¿le ha disgustado llevar el parche?

1 Muchísimo 2 Mucho 3 Algo 4 Muy poco 5 Nada

6. ¿Le ha resultado fácil o difícil usar el parche?

1 Sumamente difícil 2 Muy difícil 3 Difícil 4 Algo fácil 5 Fácil

6 Muy fácil 7 Sumamente fácil

7. ¿Ha sido fácil o difícil organizarse para llevar el parche puesto?

1 Sumamente difícil 2 Muy difícil 3 Difícil 4 Algo fácil 5 Fácil

6 Muy fácil 7 Sumamente fácil

8. ¿Cree que el parche es bueno para tratar su alergia?

1 No 2 Un poco 3 Puede 4 Creo que sí 5 Estoy seguro de que sí

9. ¿Cree que el parche es bueno para él/ella, aunque le haya dado problemas?

1 No 2 Un poco 3 Puede 4 Creo que sí 5 Estoy seguro de que sí

10. En general, ¿está contento o disgustado con el parche?

1 Disgustadísimo 2 Muy disgustado 3 Disgustado 4 Algo contento

5 Contento 6 Muy contento 7 Contentísimo

Preguntas en relación con aspectos técnicos del parche**11. ¿Ha sido difícil la administración del parche?**

1 Muy difícil 2 Difícil 3 Fácil 4 Muy fácil

12. Si ha sido difícil. ¿Qué parte ha sido peor? (Se puede marcar más de una opción)

1 Preparación del parche 2 Colocación del parche 3 Retirada del parche

13. ¿Se ha olvidado alguna vez de ponerle el parche?

1 Nunca 2 Una o dos veces al mes 3 Una vez a la semana

4 Más de una vez a la semana

Sugerencias sobre el parche:

ANEXO IV.

CUESTIONARIO SOBRE EL PARCHÉ (NIÑOS 8-16 AÑOS)

Instrucciones:

Vamos a hacerte preguntas sobre el parche que has utilizado estos meses. Es importante que las respuestas tú sólo. Puedes preguntar a tus padres, pero no te pueden decir qué respuesta tienes que poner. Responde a cada pregunta marcando la casilla correspondiente con una "x".

Cuestionario:

1. ¿Has tenido problemas con el parche?

1 Sí 0 No (Si la respuesta es No, pasa a la pregunta 6)

2. ¿Cuánto te han molestado los problemas con el parche?

1 Muchísimo 2 Mucho 3 Algo 4 Poco 5 Nada

3. Por culpa del parche, ¿has tenido que dejar de hacer ejercicio físico o tus actividades físicas habituales?

1 Siempre 2 Casi siempre 3 A veces 4 Casi nunca 5 Nunca

4. Por culpa del parche, ¿te ha costado mantenerte despierto o concentrarte en clase?

1 Muchísimo 2 Mucho 3 Algo 4 Muy poco 5 Nada

5. Por estos problemas con el parche, ¿te ha disgustado llevar el parche?

1 Muchísimo 2 Mucho 3 Algo 4 Muy poco 5 Nada

6. ¿Te ha resultado fácil o difícil usar el parche?

1 Sumamente difícil 2 Muy difícil 3 Difícil 4 Algo fácil 5 Fácil

6 Muy fácil 7 Sumamente fácil

7. ¿Ha sido fácil o difícil organizarte para llevar el parche puesto?

1 Sumamente difícil 2 Muy difícil 3 Difícil 4 Algo fácil 5 Fácil

6 Muy fácil 7 Sumamente fácil

8. ¿Crees que el parche es bueno para tratar tu alergia?

1 No 2 Un poco 3 Puede 4 Creo que sí 5 Estoy seguro de que sí

9. ¿Crees que el parche es bueno para ti, aunque te haya dado problemas?

1 No 2 Un poco 3 Puede 4 Creo que sí 5 Estoy seguro de que sí

10. En general, ¿estás contento o disgustado con el parche?

1 Disgustadísimo 2 Muy disgustado 3 Disgustado 4 Algo contento

5 Contento 6 Muy contento 7 Contentísimo

ANEXO VI.

HOJA DE INFORMACIÓN A PADRES/ TUTORES DEL PACIENTE

TÍTULO: Inmunoterapia epicutánea con extracto de avellana, un tratamiento nuevo en la alergia persistente a avellana.

Introducción

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar, que ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica.

Nuestra intención es tan sólo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no que su hijo/a participe en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

Participación voluntaria

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir que su hijo/a no participe o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno de los beneficios de atención sanitaria a los que su hijo/a tiene derecho.

Descripción general del estudio

Objetivos del estudio

Objetivo primario:

- Estudiar en pacientes con alergia demostrada a la avellana, la eficacia y la seguridad de la inmunoterapia epicutánea con avellana. La consecución de este objetivo permitiría la tolerancia clínica de mayores cantidades de avellana que antes de iniciar el estudio.

Objetivos secundarios:

- Analizar cambios a nivel inmunológico de la alergia a avellana con este tratamiento

Procedimientos del Estudio:

Este estudio es prospectivo, abierto, que incluirá alrededor de 20 pacientes con alergia a avellana, entre 3 y 16 años de edad, diagnosticados y tratados en el Servicio de Alergia del Hospital Universitario Infanta Sofía, San Sebastián de los Reyes.

En la consulta de Alergología, además de una exhaustiva historia clínica, se realizarán pruebas cutáneas y extracción de sangre para determinación de IgE específica y marcadores inmunológicos de alergia frente a las proteínas de la avellana.

Se realizará una prueba de exposición oral a avellana, para determinar el grado y severidad de la alergia a avellana.

Una vez realizada la exposición oral a avellana, se iniciará de forma aleatorizada y randomizada, la inmunoterapia epicutánea.

En un grupo se colocarán parches en la espalda con un extracto de avellana liofilizado (en polvo), mezclado con vaselina no perfumada, mientras que en el grupo control se utilizarán parches con vaselina no perfumada con polvo de glucosa como placebo.

La realización de pruebas cutáneas de la alergia, llamadas *prick test*, consiste en la inyección intraepidérmica de una pequeña cantidad del alérgeno de avellana que se va a estudiar, para

que reaccione con su piel. Se realiza con una lanceta de un solo uso, la enfermera pincha de forma superficial las distintas gotas de alérgenos, generalmente en la superficie volar de ambos antebrazos, y la lectura de las pruebas se realiza a los 15 minutos.

La realización del estudio en sangre, precisa la realización de una extracción sanguínea, que consiste en la extracción de una pequeña cantidad de sangre mediante punción intravenosa. Se realiza con una aguja intravenosa, se realiza en la cara anterior del antebrazo la extracción de una pequeña cantidad de sangre, entre 3-10 ml.

Las muestras de sangre extraídas serán conservadas a 4º C. y en ellas se estudiará el perfil de marcadores de alergia, comparándose esta respuesta, antes y después de la realización de la inmunoterapia y con los resultados del grupo control.

La prueba de exposición oral a avellana es la administración oral de forma progresiva y creciente de dosis de avellana, y sirve para confirmar el diagnóstico.

Esta prueba se realizará con el equipo técnico y personal sanitario especializado en las mismas, estando protegido continuamente por la asistencia médica sanitaria adecuada y con los tratamientos que precise.

Las pruebas epicutáneas consisten en la aplicación en una zona sana de piel, preferentemente la parte superior de la espalda el extracto de avellana mezclado con vaselina, por medio de unos apósitos estériles o parches que mantienen la avellana en contacto con la piel.

Riesgos y Beneficios:

En cuanto a los riesgos asociados a las pruebas cutáneas, durante la realización de las mismas, se puede producir una leve molestia, en ningún caso sangrado abundante. Cuando el *prick test* es positivo aparece un habón y el paciente siente moderado prurito. Es excepcional la aparición de síntomas graves o generalizados de alergia (asma, urticaria-angioedema, anafilaxia (reacción grave y generalizada)

En cuanto a los riesgos en la extracción sanguínea, durante la realización de la extracción de sangre puede sentir una pequeña molestia y tras la misma, la aparición de un hematoma leve en la zona de inyección.

En las pruebas epicutáneas se pueden producir reacciones locales adversas como picor, enrojecimiento, malestar local o eccema.

La participación en este estudio puede incrementar el nivel de tolerancia a la avellana, evitando asimismo las reacciones adversas por la ingesta accidental o por trasgresión con avellanas o alimentos que las contengan.

Dependiendo de los resultados del estudio, la participación de su hijo/a puede proporcionar información que ayudará en el futuro a otros pacientes y al personal sanitario en general, a mejorar el conocimiento de las herramientas de diagnóstico y manejo de la alergia a avellana, una de las alergias más persistentes dentro de las alergias alimentarias.

Alternativas Diagnósticas

Como se ha descrito anteriormente, su participación en este estudio no limita las opciones de diagnóstico que su médico le ofrecerá. De no querer participar en el estudio, igualmente se le harían a su hijo pruebas alérgicas cutáneas, determinación de IgE específica en sangre a avellana y provocaciones que el alergólogo crea convenientes.

El tratamiento alternativo en el momento actual para la alergia a avellana es la evitación de la misma y los alimentos que la contengan.

Abandono del estudio

La participación de su hijo/a en este estudio es voluntaria y usted tiene el derecho de abandonar en cualquier momento sin penalización de ningún tipo ni pérdida de los beneficios a los que por otro lado tiene derecho. Si usted rechaza participar o elige abandonar, en ningún momento afectará al resto de sus cuidados médicos.

Confidencialidad

Toda la información que obtengamos de las pruebas serán tratados de forma confidencial, se llevarán a cabo conforme a la Ley Orgánica 15/1999 del 13 de diciembre sobre la protección de los datos de carácter personal. De acuerdo con la ley mencionada, puede ejercer sus derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de los datos. Para ello, deberá dirigirse al médico del estudio.

Los datos derivados de la participación de su hijo/a en el estudio estarán identificados mediante un sistema alfanumérico de codificación interna, nunca con datos personales, solo su médico podrá relacionar estos datos con su historia clínica.

Seguro y responsabilidades

El promotor tiene suscrita una póliza de seguro de responsabilidad civil que cumple todos sus aspectos lo establecido en el RD1090/4 diciembre. Dicha póliza, número 08062724-14002 ha sido concertada con la entidad aseguradora HDI sucursal en España, cubre todos los perjuicios que pudieran derivarse de la participación de los sujetos en el ensayo objeto de este Contrato, y está vigente al estar el promotor al corriente del pago de las primas.

CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO

DE PADRES/ TUTORES

Título del estudio: **Inmunoterapia epicutánea con extracto de avellana, un tratamiento nuevo en la alergia persistente a avellana.**

Yo.....Con DNI/Pasaporte.....

(Nombre y apellidos)

en calidad de

(relación con el participante, padre madre o tutor)

de.....

(Nombre del participante)

- He leído la hoja de información que se me ha entregado
- He podido hacer preguntas sobre el estudio
- He recibido suficiente información sobre el estudio y la he comprendido
- He hablado con: (nombre del investigador) _____
- Comprendo que la participación de mi hijo/hija es voluntaria y que mi decisión de participación en este estudio no repercutirá en sus cuidados médicos
- En mi presencia se le ha dado a mi hijo/hija toda la información pertinente adaptada a su nivel de entendimiento. Está de acuerdo en participar y presto mi conformidad con que participe en el estudio

En _____, a ____ de _____ de _____

Fdo: _____

El Representante (Padre, Madre o Tutor)

Fdo:

El investigador

ANEXO VII.

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE (12-16 años)

TÍTULO: Inmunoterapia epicutánea con extracto de avellana, un tratamiento nuevo en la alergia persistente a avellana

Este formulario forma parte del proceso del consentimiento informado. Su función es que sepas por qué, para qué y cómo puedes participar en este estudio. Este texto puede contener palabras, que quizás no comprendas. Por favor, pide a tu médico o al personal del estudio que te explique la información que no entiendas claramente.

Objetivos del estudio:

Tu médico te ha explicado que eres alérgico a la avellana y que, por tanto, no puedes comer avellanas ni alimentos que tengan avellanas en su composición.

El objetivo principal de este estudio es administrar un tratamiento en la piel con polvo de avellana para disminuir la alergia a la avellana.

Procedimientos del Estudio:

Tu participación en este estudio consiste en la aplicación en tu espalda de parches, uno cada día, que contienen polvo de avellana o polvo de azúcar mezclados con vaselina, según el grupo que de forma aleatoria te corresponda, activo o placebo, de forma diaria, durante 6 meses.

Tras finalizar el tratamiento, realizaremos una prueba de exposición oral con avellana, para ver si tu tolerancia a la avellana ha aumentado.

Riesgos y Beneficios:

Los beneficios de este estudio es que puedes aumentar tu nivel de tolerancia a la avellana, disminuyéndose el riesgo de las reacciones adversas por la ingestión de la misma. Los riesgos consisten en picor o molestias en la zona de la piel donde pondremos el parche.

Abandono del estudio

Tu participación es voluntaria y puedes abandonar en cualquier momento sin ningún tipo de penalización o perjuicio. Por otra parte, si rechazas participar o eliges abandonar, en ningún momento esto afectará al resto de tus cuidados médicos.

Confidencialidad

Todos tus datos son confidenciales y están protegidos por la ley de protección de datos. (Ley Orgánica 15/1999 del 13 de diciembre). De acuerdo con esta ley puedes ejercer tu derecho de acceso, modificación, oposición y cancelación de los mismos.

Participación voluntaria

Tu participación en este estudio es voluntaria y puedes decidir no participar o cambiar tu decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con tu médico.

Seguro y responsabilidades

El promotor tiene suscrita una póliza de seguro de responsabilidad civil que cumple todos sus aspectos lo establecido en el RD1090/4 diciembre. Dicha póliza, número 08062724-14002 ha

sido concertada con la entidad aseguradora HDI sucursal en España, cubre todos los perjuicios que pudieran derivarse de la participación de los sujetos en el ensayo objeto de este Contrato, y está vigente al estar el promotor al corriente del pago de las primas.

CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO PARA EL PACIENTE (12-16 AÑOS)

Título del estudio: **Inmunoterapia epicutánea con extracto de avellana, un tratamiento nuevo en la alergia persistente a avellana.**

Yo, (nombre y apellidos) _____

- He leído la hoja de información que se me ha entregado
- He podido hacer preguntas sobre el estudio
- He recibido suficiente información sobre el estudio y la he comprendido
- He hablado con: (nombre del investigador) _____
- ❖ Comprendo que mi participación es voluntaria y que mi decisión de participación en este estudio no repercutirá en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio

En _____, a _____ de _____ de _____

Fdo: _____

El paciente

Fdo: _____

El investigador

ANEXO X. Artículo relacionado con la tesis doctoral



Article

Storage Proteins Are Driving Pediatric Hazelnut Allergy in a Lipid Transfer Protein-Rich Area

Teresa Valbuena ^{1,*}, Marta Reche ¹, Guadalupe Marco ¹, Inmaculada Toboso ², Anna Ringauf ³, Israel J. Thuissard-Vasallo ⁴, Daniel Lozano-Ojalvo ⁵, Mónica Martínez-Blanco ⁶ and Elena Molina ⁶

- ¹ Allergy Department, Hospital Universitario Infanta Sofía, San Sebastián de los Reyes, 28702 Madrid, Spain; marta.reche@salud.madrid.org (M.R.); guadalupe.marco@salud.madrid.org (G.M.)
² Immunology, Laboratorio Central UR Salud Madrid, San Sebastián de los Reyes, 28702 Madrid, Spain; inmaculada.toboso@salud.madrid.org
³ Macro Array Diagnostics, 1230 Wien, Austria; ringauf@macroarraydx.com
⁴ Faculty of Biomedical and Health Science, Universidad Europea de Madrid, 28670 Madrid, Spain; israeljohn.thuissard@universidadeuropea.es
⁵ Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, NY 10029, USA; daniel.lozano-ojalvo@mssm.edu
⁶ Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) (CSIC-UAM), 28049 Madrid, Spain; m.martinez.blanco@csic.es (M.M.-B.); e.molina@csic.es (E.M.)
 * Correspondence: mteresa.valbuena@salud.madrid.org



Citation: Valbuena, T.; Reche, M.; Marco, G.; Toboso, I.; Ringauf, A.; Thuissard-Vasallo, I.J.; Lozano-Ojalvo, D.; Martínez-Blanco, M.; Molina, E. Storage Proteins Are Driving Pediatric Hazelnut Allergy in a Lipid Transfer Protein-Rich Area. *Foods* **2021**, *10*, 2463. <https://doi.org/10.3390/foods10102463>

Academic Editor: Jan-Mei Soon

Received: 9 September 2021

Accepted: 11 October 2021

Published: 15 October 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Oral food challenge (OFC) remains the gold standard for the diagnosis of food allergies. However, this test is not without risks, given that severe allergic reactions can be triggered while it is conducted. The purpose of this study is to identify potential demographic variables, clinical characteristics of the patients and biomarkers that may be associated with severe reactions during the hazelnut oral challenge test. The sample included 22 children allergic to hazelnut who underwent a tree nut skin prick test (SPT), specific IgE (sIgE) to hazelnut, component-resolved diagnosis (CRD) with different hazelnut allergens (Cor a 1, Cor a 8, Cor a 9, Cor a 11, Cor a 14), and a single-blind placebo-controlled challenge with hazelnut. A statistically significant relationship was found between the severity of the reaction and the highest values of sIgE to hazelnut, Cor a 11 and Cor a 14, cumulative symptom-triggering dose and sunflower seed sensitization. The use of the CRD is a useful tool to identify patients at higher risk of developing a severe reaction. In this pediatric population sample from Spain, storage proteins were confirmed to be most involved in hazelnut allergy and the development of severe reactions.

Keywords: hazelnut allergy; component-resolved diagnosis; skin-prick test; specific IgE; food challenge; severity

1. Introduction

Tree nut allergies are one of the most common allergies in pediatric patients. Hazelnut is one of the most common ones, especially in Europe. The frequency and clinical presentation of this allergy depend on the patient's age and geographical location since they are influenced both by dietary habits in the patient's location and by exposure to different kinds of pollen [1].

Allergy to hazelnut is one of the causes of anaphylaxis, and these severe reactions may occur even with very small amounts or when present as an allergen hidden in processed foods [2]. Additionally, allergy to hazelnut and tree nuts in general is often persistent throughout a patient's life, resolving only in a limited number of patients (9–14%) [3].

Allergy to hazelnut is diagnosed based on a thorough medical history, the interpretation of SPT, and in vitro tests (sIgE to whole hazelnut extract or specific allergens). On many occasions, these diagnostic tools are not sufficient to reach a definitive diagnosis and an oral food challenge is required. This test remains the gold standard for food allergy