

3<sup>ras</sup> JORNADAS NACIONALES CONJUNTAS  
de ALERGIA e INMUNOLOGIA en PEDIATRIA  
21, 22 y 23 de Abril de 2016 Hotel de la Cañada Córdoba



SEDE

**MESA REDONDA: PROBLEMAS FRECUENTES EN ALERGIA DERMATOLOGICA Y POR ALIMENTOS**

Comité Nacional de Alergia - Grupo de Trabajo de Inmunología

Dirección de Congresos y Eventos de la Sociedad Argentina de Pediatría

# PREDICCIÓN DE LA ALERGIA POR ALIMENTOS

*Raúl Boudet*

Comité Nacional de Alergia  
Sociedad Argentina de Pediatría



Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular  
Universidad Nacional de Córdoba





# Factores involucrados en el desarrollo de AA

El aumento de la prevalencia es un problema de salud pública a nivel mundial

Su incidencia ocurre más rápidamente de lo que permitirían los cambios en la secuencia del genoma (herencia genética)

La historia familiar es un importante factor de riesgo

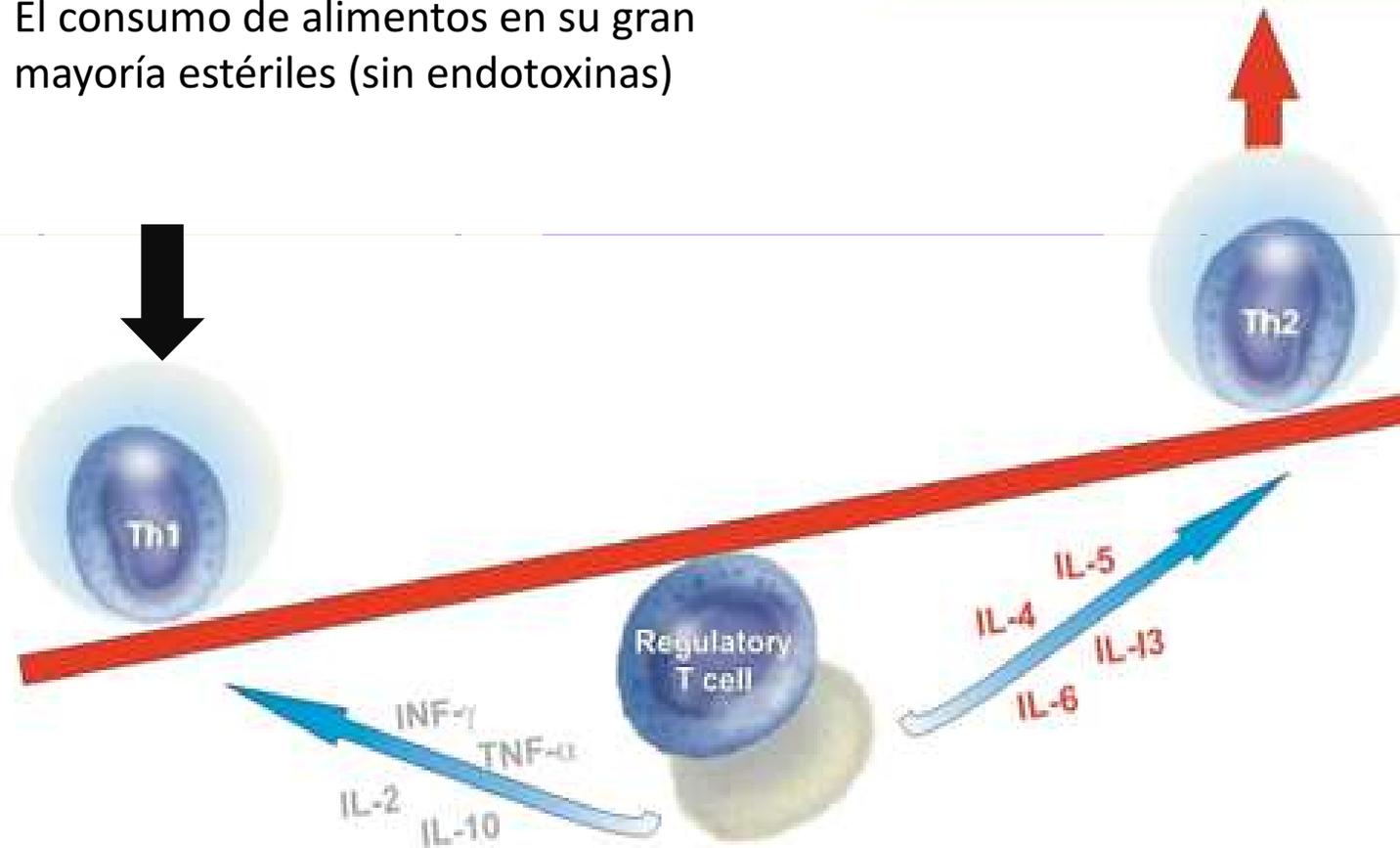
El riesgo genético está influenciado parcialmente por condiciones ambientales

*Tan N TH, Ellis JA, Saffery R, Allen KJ. The role of genetics and environment in the rise of childhood food allergy. Clin Exp Allergy 2012; 42:20-29.*

# Estimulación y Programación del Sistema Inmune

Estilo de vida urbano  
El uso de antibióticos  
Ausencia de hermanos mayores  
El consumo de alimentos en su gran mayoría estériles (sin endotoxinas)

## Alergia





# Cambios geo-epidemiológicos de la AA

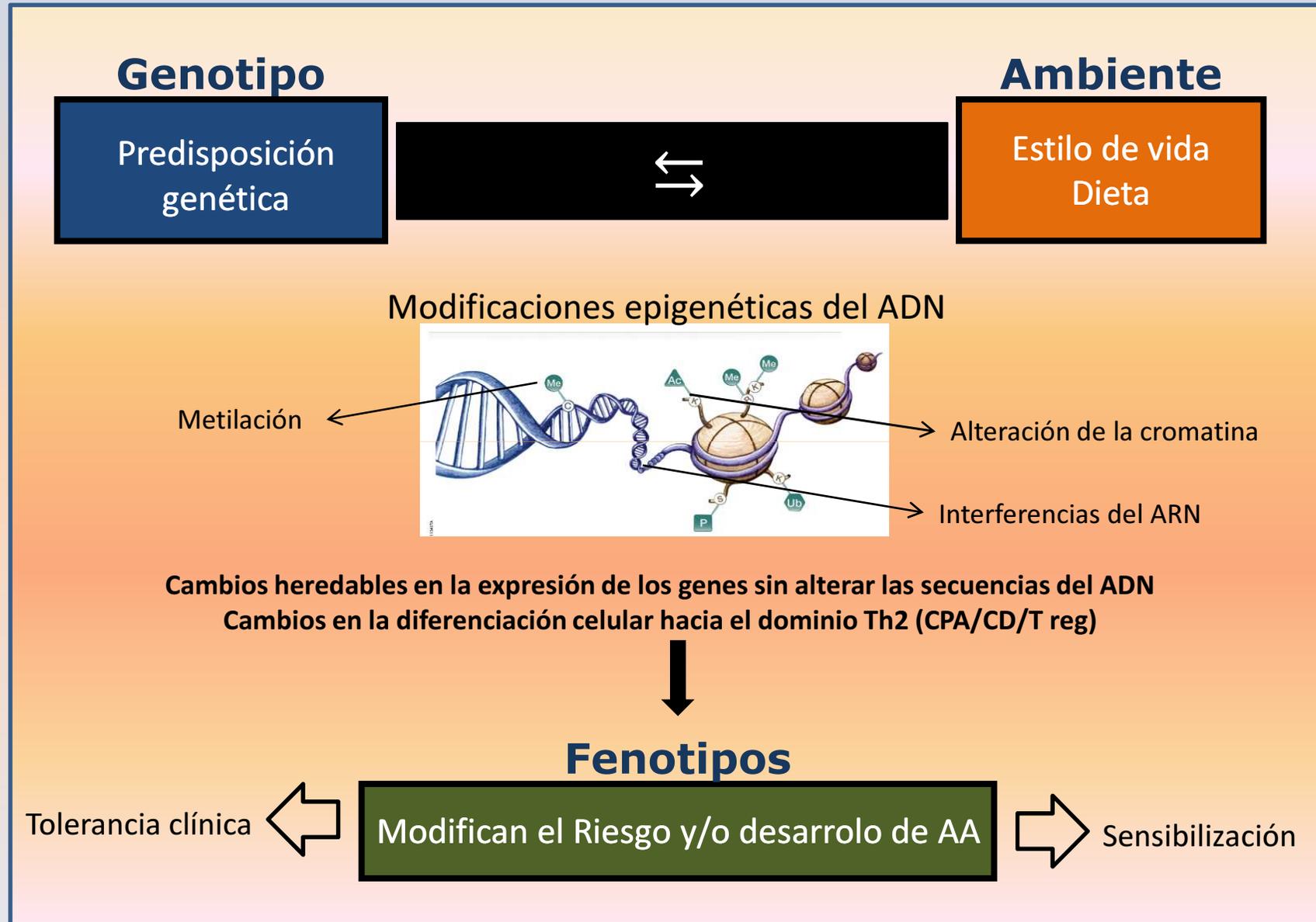
Mayor prevalencia en países desarrollados más que en subdesarrollados

Existen en África muchos alergenios alimentarios no presentes en países industrializados

Se han observado “inusuales” AA en culturas que no comparten la dieta de los países del Este

*Leung PSC, Shu S-A, Chang C. Clinic Rev Allerg Immunol 2014; 46:169-179*

# Interrelación gen-ambiente en AA





# Importancia de la identificación de fenotipos de AA

Identificar factores de riesgo y mecanismos epigénéticos  
Involucrados en el desencadenamiento

Reconocer el perfil clínico asociado con la sensibilización  
específica a uno o más alimentos

Investigar la probabilidad que tiene el paciente de desarrollar  
tolerancia al alimento ofensor

Indicar un tratamiento individualizado para cada fenotipo

# Dificultades para caracterizar fenotipos de AA



Los métodos diagnósticos son útiles para demostrar reactividad al alimento pero no proveen información para diferenciar fenotipos

Los estudios presentan marcadas diferencias étnicas y geográficas

El tipo y número de alérgenos alimentarios, podría ser un potencial factor de confusión

Algunos genes solo expresan un fenotipo dado bajo ciertas condiciones ambientales

Inversamente algunos fenotipos pueden ser el resultado de varios genotipos

# Presentación clínica extremadamente variable



Constipación  
Reflujo  
Náuseas  
Vómitos  
Cólicos  
Diarrea  
Distensión abdomen  
Mal progreso ponderal  
Malabsorción



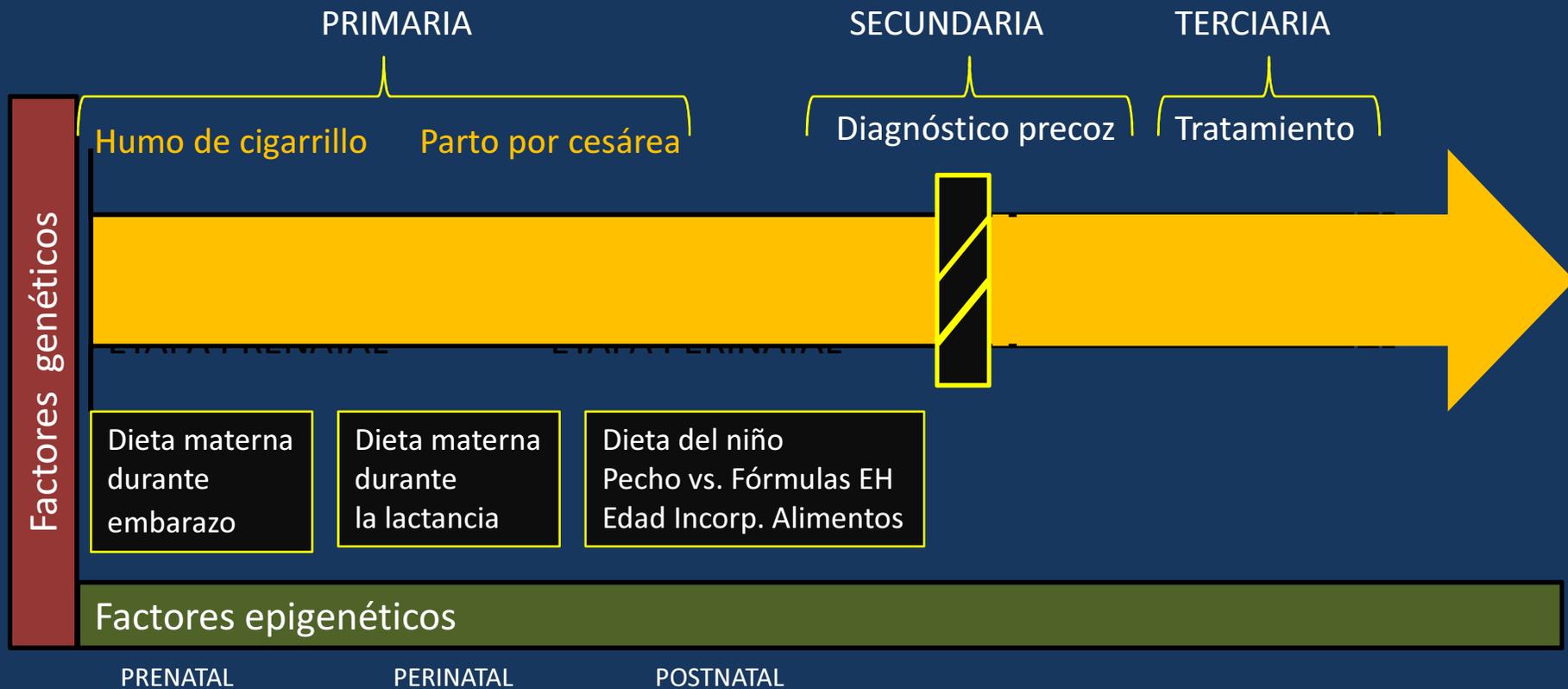
Urticarias  
Angioedema  
Eccemas  
Erupciones  
Pruritos  
Dermatitis

Sibilancias  
Estornudos  
Rinorrea  
Obstrucción nasal  
Tos seca  
Conjuntivitis  
Disfonía

Intensa dificultad respiratoria  
Estridor inspiratorio/edema laríngeo  
Apnea  
Asma grave  
Síntomas/signos de hipotensión  
Disminución de conciencia

Rechazo del alimento  
Irritabilidad  
Retraso del crecimiento  
Déficit de hierro

# Prevención vs. Identificación factores de Riesgo



Mayor sensibilidad a la disrupción epi-genética

# Incidence and risk factors for food hypersensitivity in UK infants results from a EuroPrevall birth cohort study



## Predictores (> riesgo)

Sibilancias  
Madre atópica  
Aumento de la edad gestacional  
Edad introducción 1º sólidos  
Tipo de dieta

IgE: Eczema y Rinitis  
No IgE: mascota, probióticos  
en madre que amamanta

## Factor modificable beneficioso para ambos fenotipos

Alimentos cocidos en casa, frutas,  
vegetales, pescado, pollo

# Investigación Clínica y Genética en niños ALV



## Valorar la influencia de factores desencadenantes

Edad y Manifestaciones clínicas al inicio de la enfermedad

Tipo de alimentación en los primeros 3 meses de vida

Presencia de antecedentes familiares de alergia

Exposición ambiental

## Elaborar índices predictivos de riesgo para ALV

Fácil obtención en la práctica clínica pediátrica diaria para realizar un diagnóstico precoz

## Estudiar la carga genética materna (ADNmt)

Mejor conocimiento del rol de la herencia biológica y genética en la etiología de la enfermedad

*Influencia del tipo de alimentación en el desarrollo de la alergia a la leche de vaca en niños pequeños. Factores involucrados en el proceso por el cual se adquiere la enfermedad. RV Boudet, Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Córdoba, 2014.*



# Investigación Clínica y Genética en niños ALV

Análisis observacional y retrospectivo de HC de 91 niños ALV y 91 controles de ambos sexos, menores de 6 años de edad

Agrupados según el tipo de alimento recibido hasta los 3 meses

1) con fórmulas a base de LV (F)

2) exclusivamente con pecho materno (P)

3) con fórmulas a base de LV y con pecho materno (M)

Para el análisis genético, caracterización de haplogrupos de la Región D-Loop del ADNmt, se estudiaron 41 niños de 0 a 2 años  
11 ALV y 30 sanos (controles)

# Valor diagnóstico comparativo de la Prueba de Provocación vs. Test IgE en niños menores de 2 años

Lamentablemente, existen pocos estudios que correlacionan los resultados de alergia alimentaria con los métodos que miden IgE in vivo e in vitro y está claro que estos cálculos están influenciados por la base de referencia, las decisiones y elecciones del paciente, familia y médico, geografía, cultura, interpretación de los resultados de la prueba de provocación, edad de los pacientes, enfermedad subyacente y otros factores.

Sicherer SH, and Sampson HA. Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment J Allergy Clin Immunol 2014;133:291-307.

Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(Suppl 2):S116-25.

Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, Jones SM, Sampson HA, Wood RA, et al. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel. J Allergy Clin Immunol 2010;126(Suppl):S1-58.

Nowak-Wegrzyn A, Assa'ad AH, Bahna SL, Bock SA, Sicherer SH, Teuber SS. Work group report: oral food challenge testing. J Allergy Clin Immunol 2009; 123(Suppl):S365-83.



# Investigación clínica y genética en niños ALV

Análisis de factores seleccionados y su relación individual con el diagnóstico de ALV

Prueba  $X^2$ , Odds Ratios, Diferencias de medias

Incidencia conjunta en la probabilidad de ser ALV para determinar perfiles clínicos

Análisis de Correspondencia Múltiple y Regresión Logística

Elaboración de índices predictivos basados en

- a) Odds Ratios individuales
- b) Regresión Logística
- c) Identificación de criterios mayores y menores

Evaluación de la efectividad diagnóstica

# Diferencias entre niños ALV y Controles

| Factores                              | Grupo ALV                         | Grupo Control                     |                                  |
|---------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| Edad de aparición<br>Primeras MC      | 8m, s=11m                         | 20m, s=17m                        | * P= 0,001                       |
| Tipo de MC<br>de inicio               | GI: 28<br>D: 14<br>R: 17<br>C: 42 | GI: 3<br>D: 10<br>R: 86<br>C: <1  | %                                |
| Tipo de<br>alimentación<br>P vs. F/M  | Pecho n=29/91<br>F/Mixta n= 62/91 | Pecho n=41/91<br>F/Mixta n= 50/91 | P= 0,067 (7%)<br>*OR=1,753       |
| Antecedentes<br>Familiares de Alergia | 80%                               | 37%                               | P= 0,041<br>(Maternos: p= 0.012) |
| Ambiente<br>(Humo de cigarrillo)      | 39%                               | 25%                               | P= 0,056                         |

\* Diferencias estadísticamente significativas al 1% ( $p < 0.001$ ) entre las medias de los dos grupos, tanto en la aplicación de contrastes para diferencias de medias paramétricos (test t para muestras independientes) como no-paramétricos (pruebas de Kolmogorov-Smirnov y de Mann-Whitney). Boudet RV, Damilano G. Tesis Doctoral 2014 Biblioteca UNC

## Factores asociados para el riesgo de ALV (Diagrama conjunto de puntos de categorías)

### ALV

INICIAN ANTES DE LOS 12 MESES

COMBINACIÓN DE MC

ALIMENTACIÓN MIXTA

ANTECEDENTES FAMILIARES M, P, M+P

EXPOSICIÓN AL HUMO DE CIGARRILLO

VARONES

### CONTROLES

INICIAN DESPUES DE LOS 12 MESES

MC RESPIRATORIAS

ALIMENTACIÓN MATERNA

SIN ANTECEDENTES FAMILIARES

SIN EXPOSICION AL HUMO DE CIGARRILLO

MUJERES

-1

0

1

**Análisis de correspondencia múltiple**

## Asignación de puntajes basados en los OR individuales de factores significativos para la construcción de un índice predictivo del riesgo

| Factores de Exposición                                       |                 | Grupo |           | Total |
|--|-----------------|-------|-----------|-------|
|  |                 | ALV   | Controles |       |
| <b>Tipo Alimentación</b><br>OR = 1,75<br>Ptos = 2            | Fórmula o mixta | 62    | 50        | 112   |
|  | Sólo Pecho      | 29    | 41        | 70    |
| <b>Edad de Inicio 1º M Clínicas</b><br>OR = 9,04<br>Ptos = 9 | Antes del año   | 81    | 43        | 124   |
|  | Después del año | 10    | 48        | 58    |
| <b>Ambiente con Humo cigarrillo</b><br>OR = 1,85<br>Ptos = 2 | Sí              | 35    | 23        | 58    |
|  | No              | 56    | 68        | 124   |
| <b>Antecedentes Maternos</b><br>OR = 2,13<br>Ptos = 2        | Sí              | 52    | 35        | 87    |
|  | No              | 39    | 56        | 95    |
| <b>TMC Gastrointestinales</b><br>OR = 38,23<br>Ptos = 38     | Sí              | 58    | 4         | 62    |
|  | No              | 33    | 87        | 120   |
| <b>TMC Dérmicas</b><br>OR = 3,84<br>Ptos = 4                 | Sí              | 27    | 9         | 36    |
|  | No              | 64    | 82        | 146   |
| <b>TMC Combinaciones</b><br>OR = 64,53<br>Ptos = 64          | Sí              | 38    | 1         | 39    |
|  | No              | 53    | 90        | 143   |

*Se estableció un puntaje de acuerdo a los OR y se clasificó como ALV a los casos con 15 puntos o más, para un total posible de 121*

# Evaluación diagnóstica del índice predictivo basado en el puntaje de OR Individuales

| Estado Real<br>Vs.<br>Grupo Estimado | OR *<br>(95% IC) | Global ROC*<br>% (95% IC) | Sensibilidad<br>% | Especificidad<br>% | Predictivo (+)<br>% | Predictivo (-)<br>% |
|--------------------------------------|------------------|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| OR individuales                      | 49 (20;120)      | 86,8 (81,1;92,5)          | 82,4              | 91,2               | 41,2                | 45,6                |

(\*) p <0,001



## Factores significativos que de manera conjunta pueden incidir en la probabilidad de desarrollar ALV (Regresión Logística Binaria)

- 1) La edad de inicio de las sintomatología ( $p=0,007$ )
- 2) El tipo de alimentación ( $p=0,003$ )
- 3) El tipo de ambiente ( $p=0,031$ )
- 4) Los antecedentes maternos ( $p=0,028$ )
- 5) Presencia de manifestaciones GI ( $p<0,001$ )
- 6) Dérmicas ( $p<0,001$ )
- 7) Combinaciones de manifestaciones clínicas ( $p=0,025$ )

## Evaluación diagnóstica del Índice Predictivo basado en la combinación de criterios

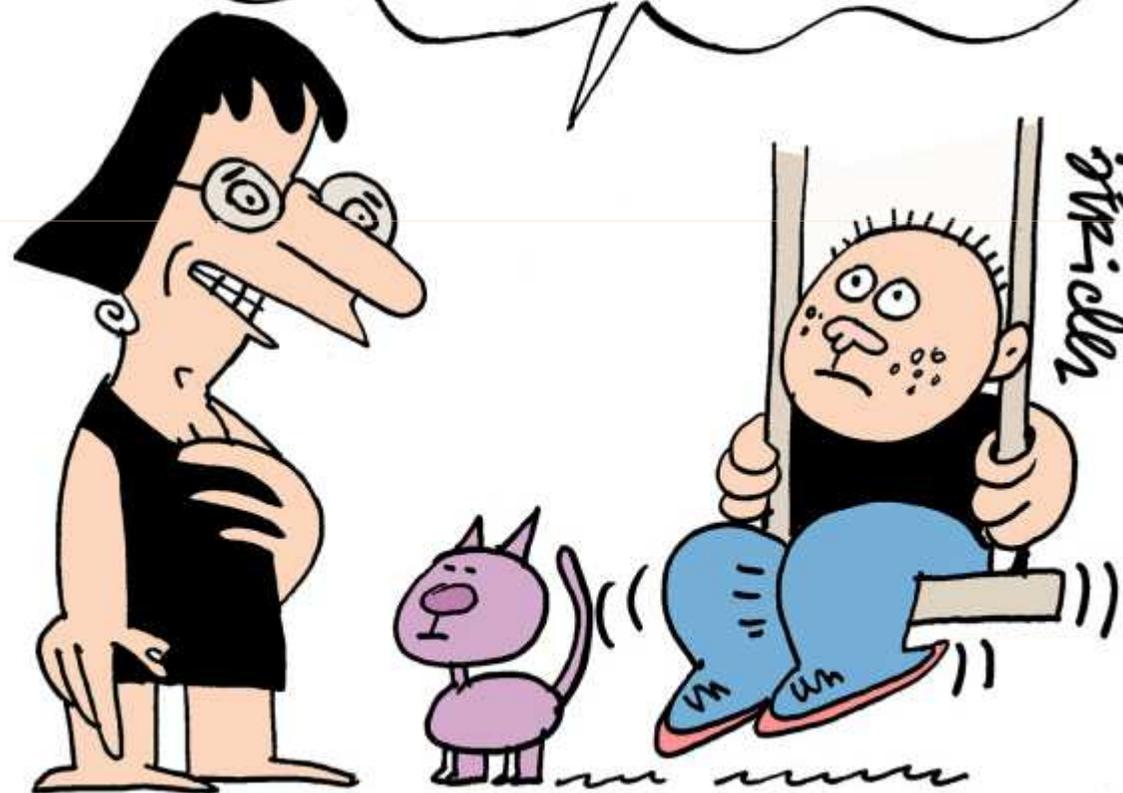
| Criterios Mayores                  | Criterios Menores                  |
|------------------------------------|------------------------------------|
|                                    | · MCI gastrointestinales           |
| · Edad de inicio antes del año     | · MCI dérmicas                     |
|                                    | · Combinaciones de MCI             |
| · Alimentación con fórmula o mixta | · Antecedentes maternos de alergia |
|                                    | · Exposición al humo de cigarrillo |

MCI: Manifestaciones Clínicas al Inicio

ALV: 1 Mayor y al menos 2 menores o 2 Mayores y al menos 1 menor

| Estado Real vs. Grupo Estimado            | OR * (95% CI) | Global ROC* % (95% CI) | Sensibilidad % | Especificidad % | Predictivo (+) % | Predictivo (-) % |
|---|---------------|------------------------|----------------|-----------------|------------------|------------------|
| 2 Mayores y 1 menor o 1 Mayor y 2 menores | 22 (10 ; 48)  | 81,9 (75,4;88,3)       | 86,8           | 76,9            | 43,4             | 38,5             |

HAY ALGO QUE TENES QUE SABER, JUAN CRUZ... ¡¡ EL ADN NO EXISTE, SON LOS PADRES !!



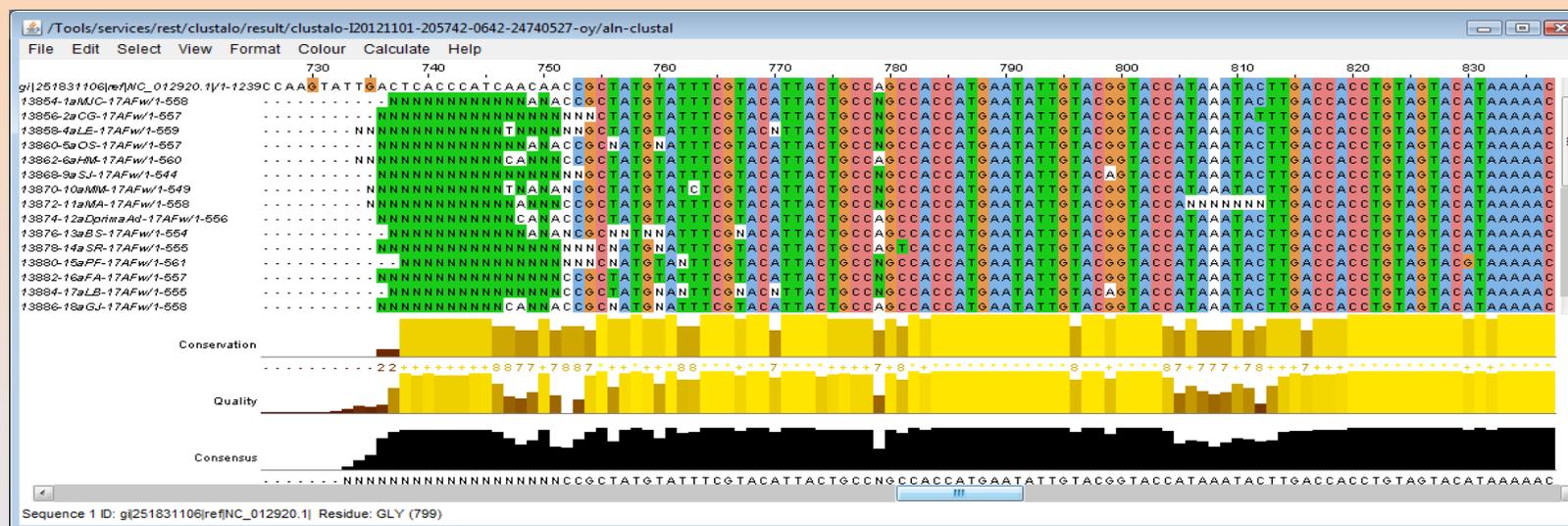


# Investigación clínica y genética en niños ALV

Se realizaron análisis de mutaciones o variantes de la región D-Loop del Gmt y amplificadas por PCR con iniciadores específicos

Se identificó cada variante, su frecuencia y su asociación con otras

Los niños ALV (n=11) se agruparon de acuerdo al tipo de MC con que iniciaron la enfermedad en: DA + EGI (n= 6 casos) y R+A (n= 5 casos)



*Influencia del tipo de alimentación en el desarrollo de la alergia a la leche de vaca en niños pequeños Factores involucrados en el proceso por el cual se adquiere la enfermedad. RV Boudet, Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Córdoba, 2014.*

# ESTUDIO DE LA REGIÓN CONTROL DEL ADN MITOCONDRIAL EN NIÑOS CON ALERGIA A LA PROTEÍNA DE LA LECHE DE VACA



Universidad Nacional de Córdoba

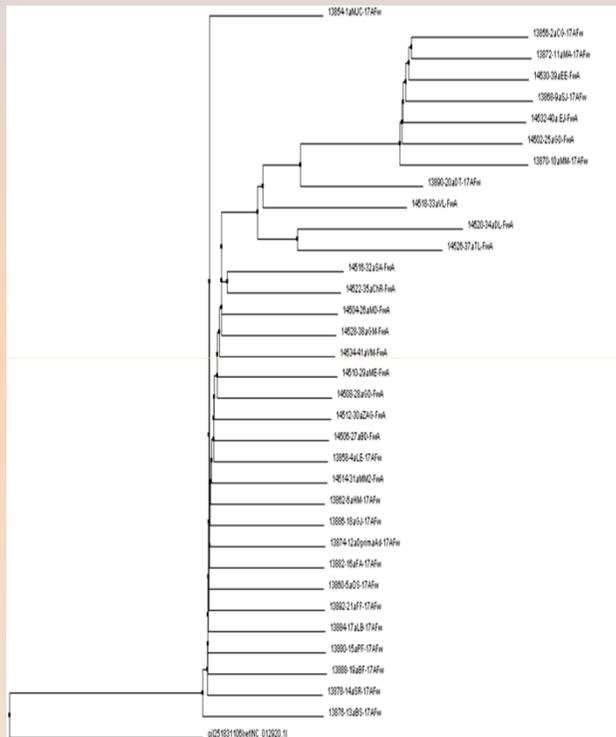


Figura 1. Árbol filogenético de la Región hipervariable uno (HVI) de los niños estudiados (n=41)

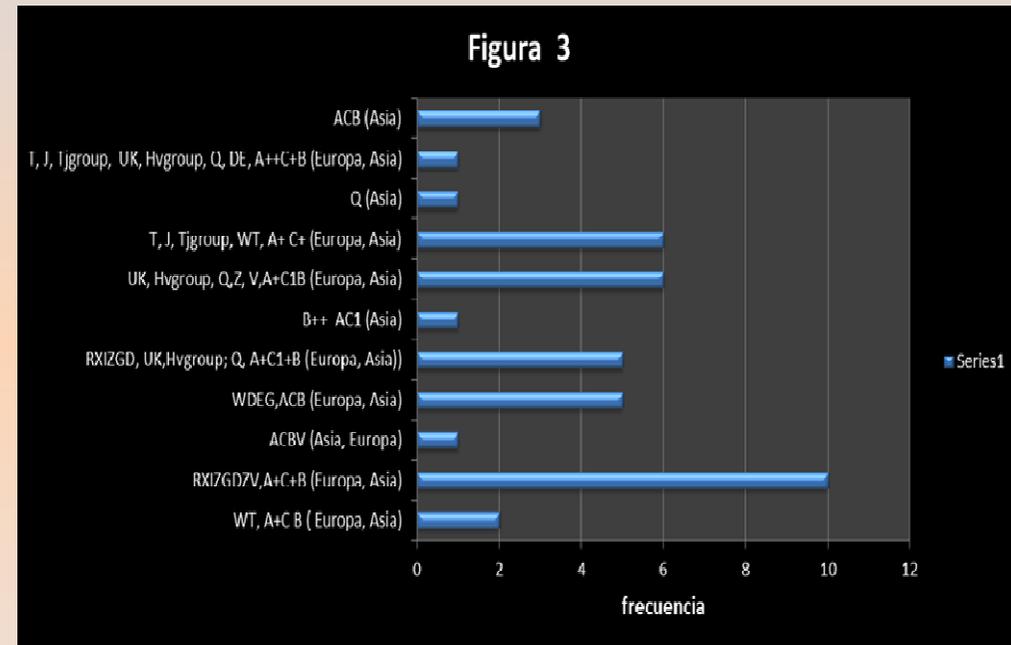
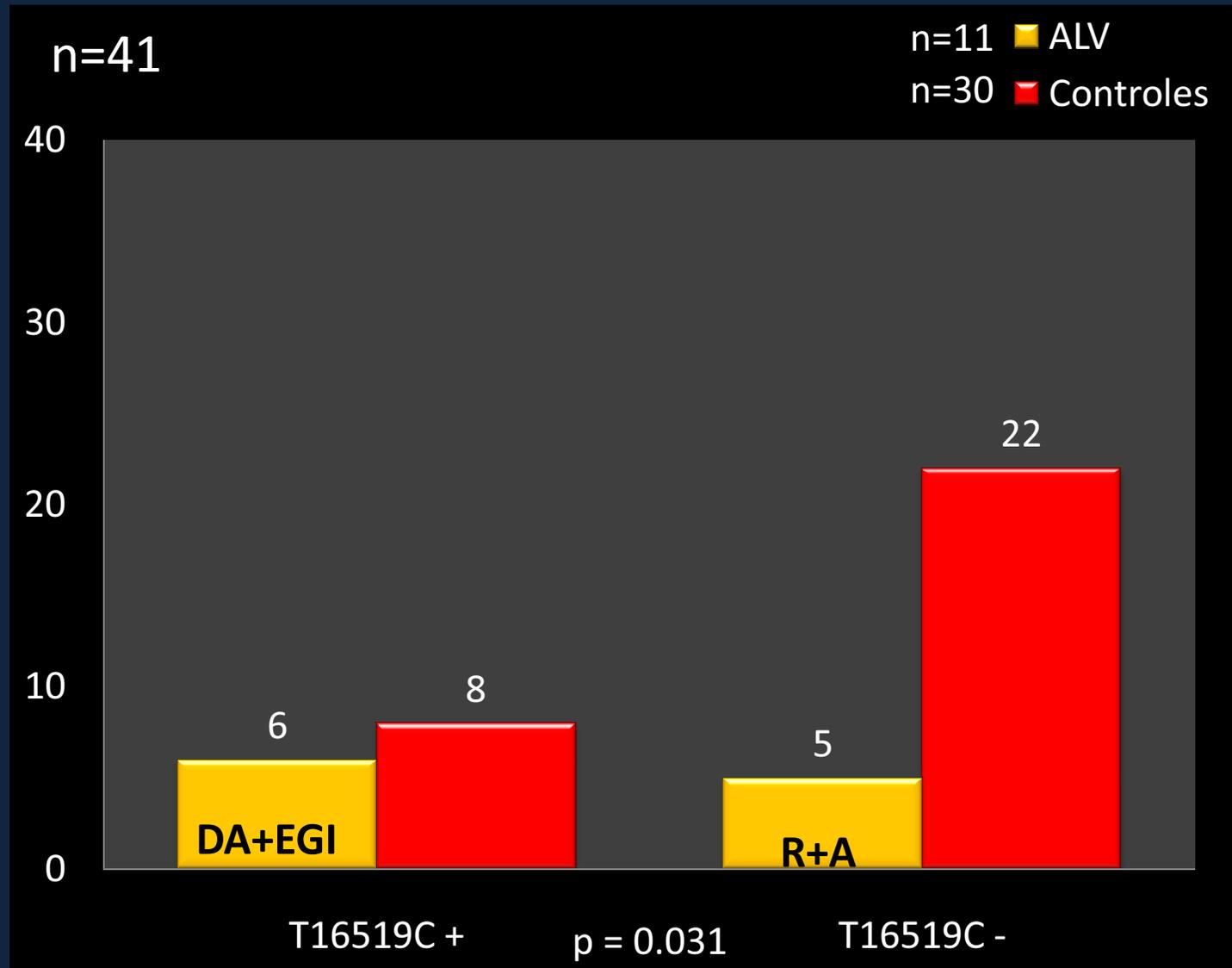


Figura 3: Frecuencia de Haplogrupos en casos y controles de la población estudiada en ciudad de Río Cuarto. Se observa la presencia mayoritaria de los siguientes haplogrupos RXIZGDZV,A+C+B ; TjGROUP; UK, Hvgroup, Q,Z, V,A+C1B y ACB.

# Presencia de la mutación no descrita en niños ALV con DA+EGI



## Conclusiones

La alimentación con leche materna exclusiva hasta el 3º mes, ejerció moderado efecto protector contra el desarrollo temprano de ALV

Los niños que recibieron F o M, tuvieron mayor probabilidad de desarrollar ALV que aquellos alimentados solo con pecho materno

Los pacientes ALV presentaron con mayor frecuencia MCI combinadas de dos o más tipos (gastrointestinales, dérmicas o respiratorias)

Los niños con antecedentes maternos de alergia, presentaron el doble de posibilidades de desarrollar ALV que aquellos que no los tenían

La exposición de los niños al humo de cigarrillo durante la etapa prenatal y/o postnatal, incrementó en un 85% la probabilidad de desarrollo de ALV



## Conclusiones

En niños ALV el diagnóstico se asoció con la presencia de una mutación no descrita (cambio nucleotídico T16519C)

Aquellos niños que la poseían, tuvieron 3 veces más probabilidad de ser ALV que los que no la presentaban

En pacientes que iniciaron la enfermedad con manifestaciones clínicas de DA+EGI, la mutación mencionada, estuvo presente con significancia estadística

Esta mutación probablemente aumente la posibilidad de padecer ALV asociada con DA + EGI



¡Muchas gracias!