



Um caso de alergia a romã e a noz – qual o papel da proteína de transferência lipídica Pru p 3?

A case of allergy to pomegranate and walnut: what is the role of lipid transfer protein Pru p 3?

Alexandra Fernandes¹, Cristina Madureira¹, Sylvia Jacob¹, Susana Lopes¹, Fernanda Carvalho¹

RESUMO

As proteínas de transferência lipídica (LTPs) são pan-alergênicos responsáveis pela reatividade cruzada entre frutos, vegetais e polens. A Pru p 3 (LTP presente no pêssego) é reconhecida como marcador de gravidade na alergia alimentar. A romã e a noz são frutos relatados como causas de reações alérgicas devido à existência de LTPs. Reportamos o caso de um adolescente admitido por urticária e edema labial após ingestão de romã, com história prévia semelhante após ingestão de noz. Os testes cutâneos revelaram positividade para extratos comerciais de noz e para a polpa de romã, e foram negativos para gramíneas e pêssego. Apresentava um doseamento de imunoglobulina E (IgE) total de 87,2 UI/mL e IgE específicas (sIgE) para noz e avelã positivas. O doseamento de sIgE pelo método ISAC (*immuno-solid-phase allergen chip*) revelou positividade para os alergênicos da avelã (Cor a 8), do pêssego (Pru p 3) e da noz (Jug r 3). Não havia história de reação alérgica à ingestão de pêssego. O caso questiona a relevância da sensibilização ao Pru p 3 em doentes não alérgicos ao pêssego, e se este será o único marcador de reação cruzada com a romã.

Descritores: Alergia alimentar, noz, Pru p 3, romã.

ABSTRACT

Lipid transfer proteins (LTPs) are pan-allergens that are responsible for cross-reactivity between fruits, vegetables, and pollen. Pru p 3, the LTP present in the peach, is recognized as a marker of severity in food allergy. Pomegranate and walnut have been reported to be involved in allergic reactions due to the existence of LTPs. We report the case of a teenager admitted with rash and swollen lips after the ingestion of pomegranate, and reporting a similar reaction in the past after ingesting walnut. Skin tests showed positive results for commercial extracts of walnut and pomegranate pulp, and were negative for grass and peach. The total immunoglobulin E (IgE) was 87.2 IU/mL and specific IgE (sIgE) testing for walnut and hazelnut was positive. sIgE determination using the ISAC method (immuno-solid-phase allergen chip) was positive for hazelnut (Cor A 8), peach (Pru p 3) and walnut (Jug r3). There was no history of allergic reaction after the ingestion of peach. The present case questions the relevance of Pru p 3 in patients who are not allergic to peach, and whether this is the only cross-reactive marker with pomegranate.

Keywords: Food allergy, pomegranate, Pru p 3, walnut.

Introdução

A alergia alimentar é um tema com interesse crescente nas últimas décadas, não só pelo aumento exponencial da sua prevalência (afeta mais de 17 milhões de europeus, segundo a *Food Allergy and Anaphylaxis Public Declaration*, da EAACI), assim

como pelo impacto negativo na qualidade de vida dos doentes^{1,2}. Sabemos que 90% das reações alérgicas graves em idade pediátrica são causadas por um grupo de oito alimentos: leite de vaca, ovo, trigo, soja, peixe, crustáceos, amendoim e frutos de casca rija.

1. Serviço de Pediatria, Centro Hospitalar do Médio Ave – Vila Nova de Famalicão, Portugal.

A introdução de novos alimentos na dieta, assim como o recurso a dietas alternativas tornaram-se um desafio no reconhecimento de novas proteínas alergênicas. A noz (*Juglans regia*) e a romã (*Punica granatum*) têm a sua origem na Ásia e Mediterrâneo oriental, e foram introduzidos na Europa pelos Romanos e Fenícios, fazendo nos nossos dias parte integrante da dieta mediterrânica.

Enrique et al. (2006) demonstraram o papel de uma proteína de transferência lipídica (LTP) na reatividade cruzada entre a romã, a avelã e o amendoim³. As nsLTPs (proteínas de transferência lipídica não específicas) são proteínas identificadas como alérgenos principais nos frutos pertencentes à família *Rosaceae*. A sua ampla distribuição e a sua estrutura altamente conservada em várias espécies de plantas conferem-lhes o papel de pan-alérgeno, sendo responsáveis pela reatividade cruzada entre frutas, frutos secos e/ou polens. São geralmente causadores de reações sistêmicas graves, sendo por isso a sua identificação crucial^{4,5}. O alérgeno Pru p 3 (LTP do pêssogo) é reconhecido como sensibilizador primário e marcador na síndrome LTP nos países mediterrânicos, e estará presente em cerca de 80% dos doentes sensibilizados a nsLTPs⁶.

Estudos identificaram a LTP do pêssogo (Pru p 3) e a LTP da noz (Jug r 3), como possuindo reatividade cruzada entre si e com a LTP da romã^{6,7}. No entanto, estudos mais recentes demonstraram que a associação entre alergia a romã e a pêssogo não é mandatária^{8,9}. Atualmente, o recurso da biologia molecular permitiu identificar várias LTPs na romã (Pun g), com uma homologia de cerca de 60% com o Pru p 39. Outros estudos recentes demonstram a complexidade do perfil alérgico da romã com a identificação de outros pan-alérgenos^{10,11}.

Descrição do caso clínico

Rapaz de 17 anos de idade, admitido no Serviço de Urgência por urticária e edema labial cerca de 2 horas após ingestão de salada de fruta com romã. Referia dois episódios anteriores semelhantes após ingestão de bolo com noz seca. Negava qualquer doença alérgica. Após administração de anti-histamínico oral de primeira geração, apresentou reversão dos sintomas e teve alta, sendo orientado para a consulta de Pediatria/Alergologia Pediátrica, e com indicação de evitar romã e noz.

Foram realizados testes epicutâneos, considerando-se a histamina (10 mg/mL) como controle positivo,

e uma solução salina como controle negativo. A leitura dos resultados foi efetuada aos 15 minutos, considerando-se como positividade a existência de um diâmetro médio da pápula ≥ 3 mm em relação ao controle negativo. Estes revelaram positividade para extratos comerciais padronizados (Laboratórios Leti[®], Madrid, Espanha) de noz e amendoim, e foram negativos para uma mistura de 5 gramíneas e pêssogo (polpa e pele). Não foi efetuado teste epicutâneo com Pru p 3 por não haver extrato disponível. O teste cutâneo *prick-prick* efetuado com polpa de romã foi positivo (10 mm). Apresentava IgE total de 87,2 UI/mL e IgE específicas (sIgE) por UniCAP[®] 100 (Phadia, Uppsala, Suécia) positivas para noz (8,47 kU/L - Score 3), para avelã (2,87 kU/L - Score 2) e para amendoim (1,88 kU/L - Score 2), mas negativas para gramíneas (considerado como *cut-off* de positividade valores de sIgE $\geq 0,35$ kU/L). Foi efetuado o doseamento de sIgE pelo método ImmunoCAP ISAC[®] (Genomics, Viena, Áustria), que revelou positividade para os seguintes alérgenos: Cor a 8 (avelã) - 4,55 ISU, Pru p 3 (pêssogo) - 11,90 ISU e Jug r 3 (noz) - 18,50 ISU (considerando como *cut-off* de positividade 0,3 ISU).

Para confirmação da alergia a romã e a noz foram realizadas provas de provocação oral abertas em ambiente hospitalar, com reprodução dos sintomas após a ingestão do número cumulativo de 20 grãos de sementes de romã, e de uma noz e meia. As provas foram efetuadas com o intervalo de duas semanas, confirmando-se, assim, o diagnóstico de alergia a romã e a noz. O pêssogo, a avelã e o amendoim faziam parte da dieta do adolescente, e nunca desencadearam qualquer sintomatologia, pelo que não foram investigados.

Discussão

A alergia alimentar mantém-se um problema não resolvido no campo das doenças alérgicas. O reconhecimento da reatividade cruzada permitiu melhorar o prognóstico e a qualidade de vida dos doentes com alergia alimentar, e os estudos de biologia molecular permitiram identificar proteínas com ação fundamental nas reações alérgicas, nomeadamente as nsLTPs. As nsLTPs são importantes alérgenos inalantes e alimentares, e estão associadas a reações alérgicas sistêmicas graves^{4,8}.

A romã e a noz constituem parte integrante da dieta mediterrânica, estando a sua ingestão associada a casos de hipersensibilidade imediata, nomeada-

mente angioedema e choque anafilático^{7,10}. Embora taxonomicamente diferentes, estes frutos expressam algumas proteínas reconhecidas como nsLTPs. A LTP do pêssego (Pru p 3) atua como sensibilizador primário, e é também descrita como marcador de gravidade para reações alérgicas alimentares^{7,12,13}. O trabalho de Scala et al. (2015) numa população mediterrânica sensibilizada a nsLTPs demonstrou que 88% dos doentes estudados apresentavam sensibilização às LTPs Pru p 3 e Jug r 3 em simultâneo, e observou que a Jug r 3 tem um papel comparável ao da Pru p 3 em doentes com mais de 15 anos⁶. No caso descrito, verificou-se positividade para estas duas LTPs, Pru p 3 e Jug r 3, podendo ter sido a segunda o alergênio sensibilizador primário, já que os primeiros sintomas de alergia alimentar aconteceram com a noz.

Desde os primeiros estudos moleculares publicados por Zoccatelli et al. acerca da alergia a romã, tem-se observado a existência de várias LTPs não relacionadas imunologicamente nesse fruto¹⁴. Mais recentemente, Bolla et al. identificaram um grupo de três nsLTPs na polpa da romã designadas Pun g nsLTPs⁶. Estes isoalergênios foram classificados pela *International Union of Immunological Societies* (WHO/IUIS) como Pun g 1.0101, Pun g 1.0201 e Pun g 1.0301. Os autores demonstraram uma analogia entre estas proteínas e a Pru p 3 de 62-65%. Também neste estudo, dos 6 casos estudados com alergia a romã e positividade para Pru p 3, 50% também apresentavam alergia a noz, e apenas 1/3 apresentava alergia a pêssego. Esta situação verifica-se no caso estudado, em que apesar da positividade para Pru p 3 (LTP do pêssego), não havia qualquer reação à ingestão deste fruto. Será, então, a Pru p 3 o único marcador de sensibilização às nsLTPs?

Alguns estudos recentes vieram demonstrar que as LTPs poderão não ser as únicas proteínas sensibilizantes da romã. Petersen et al. (2011) mostraram diferentes padrões de sensibilização conforme consideramos o sumo ou as sementes da romã¹⁰. No sumo, identificou-se a presença de uma LTP com 9 kDa com uma homologia de 77% com a LTP do pêssego, e nas sementes uma proteína de 16 kDa com uma sequência semelhante às proteínas homólogas da Bet v 1. Esta última pertence ao grupo de proteínas (PR-10), que são termolábeis e frequentemente associadas a sintomas alérgicos menos graves. Recentemente, Buyuktiryaki et al. (2013) demonstraram a presença de proteínas PR-4, não-LTPs, como alergênio relevante na reação alérgica a romã¹¹. Considerando estes

dados, Gabriele Gadermaier questiona se será suficiente usar a Pru p 3 como único marcador molecular de alergia causada pelas nsLTPs⁸.

A tecnologia ImmunoCAP ISAC[®], importante nos casos de polissensibilização, onde é necessário perceber se a reação a determinado alergênio se trata de um processo de cossensibilização ou de reatividade cruzada, foi aplicada neste caso, após realização de testes *in vitro* (doseamento de IgE específicas) e *in vivo* (testes epicutâneo e prova de provocação oral), com o intuito de esclarecer qual a proteína alergênica envolvida. O paciente não apresentava alergia a pêssego e não há extrato comercial para a realização de testes cutâneos com Pru p 3. O fato do adolescente apresentar positividade para Pru p 3, mas sem sintomatologia ao pêssego, e de as reações apresentadas à noz e à romã não terem sido graves, levou-nos a pensar que a proteína implicada na alergia a romã poderia não ser uma LTP. No entanto, não foi possível efetuar técnicas de *Immunoblotting*, nem de inibição, por abandono do doente. Estas teriam sido importantes no sentido de avaliar o perfil alergênico da romã neste doente e para avaliar a reatividade cruzada entre as proteínas identificadas e os alergênios Pru p 3 e Jug r 3.

Conclusão

A identificação do alergênio implicado na alergia a determinado alimento através de técnicas de biologia molecular, quando necessária, é fundamental para determinar prováveis reações cruzadas entre alimentos e, assim, prevenir futuras reações alérgicas graves, excluindo da dieta não só o alimento envolvido na reação inicial, mas também todas as fontes alergênicas contendo proteínas homólogas. Os autores apresentam este caso de alergia a romã, questionando o papel da Pru p 3 como seu alérgeno representativo.

Referências

1. Burks AW, et al. ICON: Food allergy. *Journal Allergy Clinical Immunology*. 2012;129(4):906-20.
2. Valério M, Sousa Gomes R, Gomes A, Neves A. Importância clínica do estudo molecular de alergênios alimentares. *Ecoss do Minho*. 2015;10(10):13-20.
3. Enrique E, Utz M, De Mateo J, Castelló J, Malek T, Pineda F. Allergy to lipid transfer protein: cross-reactivity among pomegranate, hazelnut and peanut. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2006;96(1):122-3.
4. Carrapatoso I. Grupos de alimentos com maior reatividade cruzada: artigo de revisão. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*. 2004;XII:103-13.

5. Alessandri C, Zennaro D, Zaffiro A, Mari A. Molecular allergology approach to allergic diseases in the paediatric age. *Italian Journal of Pediatrics*. 2009;35:29-40.
6. Scala E, Till SJ, Asero R, Abeni D, Guerra EC, Pirrotta L, et al. Lipid transfer protein sensitization: reactivity profiles and clinical risk assessment in an Italian cohort. *Allergy*. 2015;70(8):933-43.
7. Pastorello E, Farioli L, Pravettoni V, Robino A, Scibilia J, Fortunato D, et al. Lipid transfer protein and vicilin are important walnut allergens in patients not allergic to pollen. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114(4):908-14.
8. Gadermaier G. Non-specific lipid transfer proteins: a protein family in search of an allergenic pattern. *Int Arch Allergy Immunol*. 2014;164:169-70.
9. Bolla M, Zenoni S, Scheurer S, Vieths S, Moncin MM, Olivieri M, et al. Pomegranate (*Punica granatum L.*) expresses several nsLTP isoforms characterized by different Immunoglobulin E-binding properties. *Int Arch Allergy Immunol*. 2014;164:112-21.
10. Petersen A, Kleinheinz A, Jappe U. Anaphylactic reactions to pomegranate: identification and characterization of eliciting IgE-reactive components. *Clinical and Translational Allergy*. 2011;1:88.
11. Buyuktiryaki B, Bartolomé B, Sahiner U, Tolga Yavuz S, Pastor-Vargas C, Vivanco F, et al. Pomegranate allergy and pathogenesis-related protein 4. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2013;111:231-2.
12. Carvalho S, Gaspar A, Prates S, Pires G, Silva I, Matos V, et al. Imuno CAP ISAC: tecnologia microarray no estudo da alergia alimentar em contexto de reactividade cruzada. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*. 2010;18(4):331-52.
13. Asero R. Lipid transfer protein cross-reactivity assessed in vivo and in vitro in the office: pros and cons. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21(2):129-36.
14. Zoccatelli G, Dalla Pellegina C, Consolini M, Fusi M, Sforza S, Aquino G, et al. Isolation and identification of two lipid transfer proteins in pomegranate (*Punica granatum*). *J Agric Food Chem*. 2007;55:11057-62.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Correspondência:
Alexandra Fernandes
E-mail: xana_ffernandes@hotmail.com