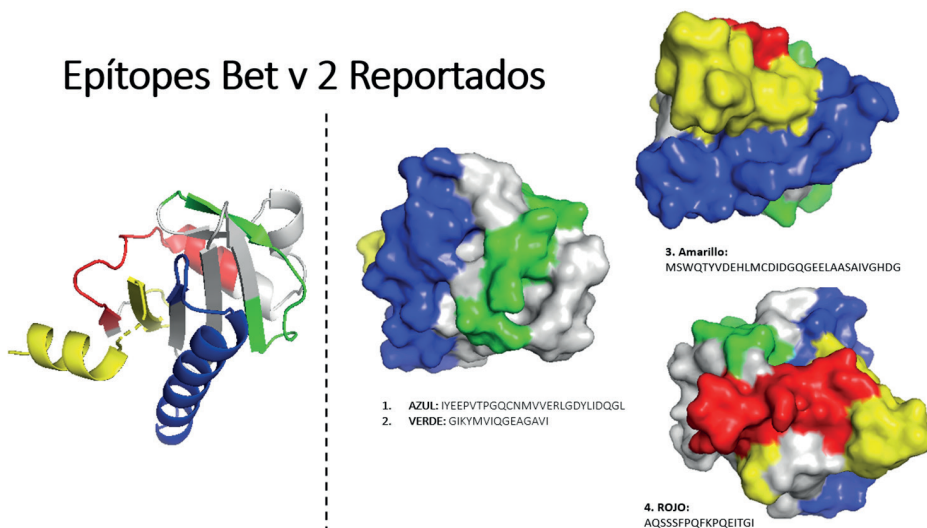


Archivos de Alergia e Inmunología Clínica

Publicación trimestral y suplementos - Volumen 54 - Número 1 - Año 2023

Epítopes Bet v 2 Reportados



EDITORIALES

CASO CLÍNICO

Abdomen agudo y AEH con CI inhibitor normal:
confusión diagnóstica y cirugías innecesarias
en una patología genética poco conocida

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

Flavonoides en el desarrollo y control de autoinmunidad
Reactividad cruzada entre profilinas de origen vegetal.
Un análisis in silico

ARTÍCULO ORIGINAL

The Importance of Serum Leukocyte Protease Inhibitor
Levels in Patients with Autoimmune and Infectious
Uveitis and relationship with de corticosteroid treatment

Publicación Oficial de

AAeIC

Asociación Argentina
de Alergia e Inmunología Clínica



Sociedad Chilena
de Alergia e Inmunología



Sociedad Paraguaya
de Alergia, Asma e Inmunología



Sociedad Peruana
de Inmunología y Alergia



Sociedad Uruguaya
de Alergia, Asma e Inmunología



AAIC

Editores

Juan Carlos Muiño, Pablo Moreno

Editores Asociados

Adrián Kahn, Maximiliano Gómez

Secretarios de Redacción

Julio Orellana, Mónica Marocco, Cora Onetti

Comité Consultivo

Ansotegui, Ignacio J. (España)

Ardusso, Ledit R. F. (Rosario)

Báez, José Ricardo (Mendoza)

Beltramo, Dante (Córdoba)

Bottasso, Oscar (Rosario)

Bózzola, Martín (Buenos Aires)

Calvo Gil, Mario (Chile)

Cejas, Arturo Hugo (Córdoba)

Crisci, Carlos D. (Rosario)

Curet, Carlos A. (Córdoba)

Docena, Guillermo H. (La Plata)

Gargiulo, Pascual Ángel (Mendoza)

Isasi, Sadí Cossy (Córdoba)

Juárez, Claudio Patricio (Córdoba)

Juncos, Luis (Córdoba)

Lozano, Alejandro (Córdoba)

Máspero, Jorge F. (Buenos Aires)

Neffen, Hugo E. (Santa Fe)

Parisi, Claudio A. S. (Buenos Aires)

Penissi, Alicia Beatriz (Mendoza)

Saranz, Ricardo J. (Córdoba)

Schuhl, Juan F. (Uruguay)

Serra, Horacio M. (Córdoba)

Esta publicación es propiedad de la Asociación Argentina de Alergia e Inmunología Clínica.

Registro de propiedad intelectual en trámite

Publicación indexada en LILACS, LATINDEX y THOMSON REUTERS

ISSN 1515-9825

Asociación Argentina de Alergia e Inmunología Clínica. Fundada el 11 de mayo de 1949.
Personería Jurídica Insp. de Justicia N° C.594°
Afilada a la International Association of Allergy and Clinical Immunology y a la European Academy of Allergy and Clinical Immunology.

Moreno 909 | (C1091AAS) Ciudad Autónoma de Buenos Aires | Rep. Argentina
Tel: +54-11-4334-7680/4331-7356 | Fax: +54-11-4334-7680
secretaria@aaaic.org.ar | aaaic@aaaic.org.ar | <http://www.archivos.alergia.org.ar>

La revista Archivos de Alergia e Inmunología Clínica tiene frecuencia trimestral y publica trabajos relacionados con la alergia y la inmunología en su más amplio sentido. El contenido de los artículos es responsabilidad directa de sus autores y no necesariamente refleja la opinión del Consejo Editorial. En la elección del material publicado se provee información correcta y actualizada, pero la continua evolución de la medicina hace que el médico en última instancia sea quien evalúe si ella es válida y adecuada para un paciente.

Tampoco se asume ningún tipo de responsabilidad científica o jurídica de los productos o servicios publicitados ni se responderá a quejas realizadas por los respectivos responsables.

Producción editorial, comercial y gráfica PUBLICACIONES LATINOAMERICANAS S.R.L.
Piedras 1333 2° C (C1240ABC) Ciudad Autónoma de Buenos Aires | Argentina
tel./fax (5411) 4362-1600 | e-mail info@publat.com.ar | <http://www.publat.com.ar>

SUMARIO

Summary

EDITORIALES | EDITORIALS

EDITORIAL

Juan Carlos Muiño

EDITORIAL

Maximiliano Gómez

CASO CLÍNICO | CLINICAL CASE

ABDOMEN AGUDO Y AEH CON CI INHIBIDOR NORMAL: CONFUSIÓN DIAGNÓSTICA Y CIRUGÍAS INNECESARIAS EN UNA PATOLOGÍA GENÉTICA POCO CONOCIDA

Acute abdomen and HAE with normal CI inhibitor: diagnostic confusion and unnecessary surgeries in a little-known genetic pathology

Florencia Baillieu

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

REVIEW ARTICLES

FLAVONOIDES EN EL DESARROLLO Y CONTROL DE AUTOINMUNIDAD

Flavonoids in the development and control of autoimmunity

Yiser Martínez, Odalis Guerrero, Daniela García, Marlon Múnera

REACTIVIDAD CRUZADA ENTRE PROFILINAS DE ORIGEN VEGETAL. UN ANÁLISIS IN SILICO

Cross-reactivity between profilins of plant origin. An in silico analysis

Emiliani Y, Cortina E, Múnera M, Sánchez A, Sánchez J, Aparicio D

ARTÍCULO ORIGINAL | ORIGINAL ARTICLE

006

THE IMPORTANCE OF SERUM LEUKOCYTE PROTEASE INHIBITOR LEVELS IN PATIENTS WITH AUTOIMMUNE AND INFECTIOUS UVEITIS AND RELATIONSHIP WITH DE CORTICOSTEROID TREATMENT

La importancia de los niveles del inhibidor de proteasa de leucocitos en suero en pacientes con uveítis autoinmune e infecciosa y su relación con el tratamiento con corticosteroides

Juan C. Muiño, Claudio P. Juárez, Marta D. Romero, Mercedes Ferrero, Laura Gramajo, José D. Luna

007

008

REGLAMENTO DE PUBLICACIONES
RULES OF PUBLICATIONS

027

036

012

015

SUMARIO ANALITICO

Analytical summary

EDITORIALES

El angioedema especialmente laríngeo es una de las condiciones médicas que produce más temor en la población y en los médicos, por las posibles condiciones ominosas que pueden llevar a la muerte. En este número se presenta y analiza el caso clínico de esta grave manifestación y su implicancia similar a la anafilaxia, cuyo efecto final es poner en peligro la vida.

Muiño JC

En el presente volumen nos enfocamos en un tema de gran importancia y con poca difusión en el campo de la clínica inmunológica como son los autoanticuerpos de tipo IgE. Aquí, el trabajo de uveítis encabezado por los Dres. Juan C. Muiño, Claudio P. Juárez y colaboradores presenta la singularidad de un estudio novedoso sobre la fisiopatogenia de esta grave enfermedad.

Gómez M

CASO CLÍNICO

ABDOMEN AGUDO Y AEH CON CI INHIBIDOR NORMAL: CONFUSIÓN DIAGNÓSTICA Y CIRUGÍAS INNECESARIAS EN UNA PATOLOGÍA GENÉTICA POCO CONOCIDA

El dolor abdominal agudo es una consulta frecuente en la guardia de urgencia y en los consultorios de cirujanos expertos, pero cuando se presenta en pacientes con angioedema hereditario (AEH) es confundido con un abdomen agudo quirúrgico, pudiendo conducir a cirugías innecesarias.

Se presenta el caso de una paciente de 19 años intervenida quirúrgicamente en 2 oportunidades con un diagnóstico erróneo, a pesar de tener antecedentes de episodios dolorosos abdominales invalidantes que le impedían realizar las actividades diarias. Previo a las cirugías no tenía diagnóstico de esta rara condición genética, que resultó ser una variante aún menos frecuente como es el AEH con CI inhibidor normal.

Baillieu F

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

FLAVONOIDES EN EL DESARROLLO Y CONTROL DE AUTOINMUNIDAD

Los flavonoides son compuestos naturales, producidos como metabolitos secundarios por las plantas como mecanismo de defensa contra condiciones de estrés biótico y abiótico, principalmente; además, se ha confirmado que los flavonoides poseen una amplia gama de beneficios para la salud debido a sus propiedades nutraceuticas como antibacteriano, antio-

xidante y antiinflamatorio, aunque la actividad biológica más importante del flavonoide es el efecto antiinflamatorio.

En este estudio se describen algunas enfermedades autoinmunes para determinar si son fundamentales estos compuestos en la dieta de la persona. Se concluye que los efectos de los flavonoides son pleiotrópicos, dado que para ciertas enfermedades presenta beneficios, pero en otras puede inducir daño a nivel endocrino por la represión de genes que causa.

Yiser Martínez, Odalis Guerrero, Daniela García, Marlon Múnera

REACTIVIDAD CRUZADA ENTRE PROFILINAS DE ORIGEN VEGETAL. UN ANÁLISIS IN SILICO

Antecedentes. Las profilinas son proteínas del citoesqueleto de las células eucariotas que se encargan de la proliferación y diferenciación celular. Se han caracterizado como alérgenos de alimentos vegetales, con capacidad de inducir síndromes alérgicos. Su amplia distribución hace importante su estudio en la reactividad cruzada. El objetivo fue identificar in silico, potenciales regiones antigénicas involucradas en la reactividad cruzada de profilinas en alimentos.

Conclusión. Las profilinas son un grupo de proteínas altamente conservadas en estructura y aminoácidos, lo cual sugiere que el mimetismo molecular y los epítopes predichos en este estudio indican un alto potencial de reactividad cruzada.

Emiliani Y, Cortina E, Múnera M, Sánchez A, Sánchez J, Aparicio D.

ARTÍCULO ORIGINAL

THE IMPORTANCE OF SERUM LEUKOCYTE PROTEASE INHIBITOR LEVELS IN PATIENTS WITH AUTOIMMUNE AND INFECTIOUS UVEITIS AND RELATIONSHIP WITH DE CORTICOSTEROID TREATMENT

Rationale corticosteroids (CS) have anti-inflammatory effects, including regulation of secretory leukoprotease inhibitor; SLPI. High concentrations of CS increase secretion of the SLPI levels. The purpose of this work was to examine SLPI level in patients with uveitis treated with CS and the relationship with the clinical responses.

Conclusions: The SLPI levels were increased with the use of corticosteroids in responder patients to this treatment in most cases of Autoimmune Uveitis and Toxoplasma Uveitis and SLPI levels were decreased in TB uveitis, BIU as well as in 20% of autoimmune uveitis.

Juan C. Muiño, Claudio P. Juárez, Marta D. Romero, Mercedes Ferrero, Laura Gramajo, José D. Luna

El angioedema especialmente laríngeo es una de las condiciones médicas que produce más temor en la población y en los médicos, por las posibles condiciones ominosas que pueden llevar a la muerte. En este número se presenta y analiza el caso clínico de esta grave manifestación y su implicancia similar a la anafilaxia, cuyo efecto final es poner en peligro la vida. El angioedema ocurre como una manifestación clínica única o asociada a urticaria. Una variedad de otras condiciones pueden mimetizar algunos aspectos del angioedema. Por ello, el médico debe estar preparado para hacer un diagnóstico diferencial acabado de esta manifestación clínica y otras enfermedades que cursan con edema y que pueden confundirse con un auténtico angioedema.

Otro de los temas que aborda este número es de los flavonoides. Lo presentan Múnera y colaboradores.

Los flavonoides consumidos por el hombre le protegen del daño de los oxidantes, como los rayos UV (cuya cantidad aumenta en verano); la polución ambiental (minerales tóxicos como el plomo y el mercurio) y algunas sustancias químicas presentes en los alimentos (colorantes, conservantes). Como el organismo humano no tiene la capacidad de sintetizar estas sustancias químicas, las obtiene enteramente de los alimentos que ingiere. No son considerados vitaminas.

Al limitar la acción de los radicales libres (que son oxidantes), los flavonoides reducen el riesgo de cáncer, mejoran los síntomas alérgicos y de artritis, aumentan la actividad de la vitamina C, bloquean la progresión de las cataratas y la degeneración macular, evitan las tufaradas de calor en la menopausia (bochornos) y combaten otros síntomas. Su acción es: protección de los capilares y de la fibra miocárdica, antitrombótica, antigastritis, función hepática, antimicrobianos y antioxidantes; esta última condición con muchas dudas que los autores explican en su artículo.

El tercer trabajo tiene como objetivo exponer la acción de las profilinas. Los pacientes sensibilizados a profilinas, al comer frutas o verduras crudas, suelen sufrir habitualmente síntomas leves de alergia oral (SAO), especialmente picor oral, orofaríngeo y ótico, al igual que los alérgicos a PR-10, aunque algunos podrían sufrir reacciones graves (angioedema).

Las profilinas son proteínas que podemos encontrar en pólenes, alimentos vegetales, veneno de himenópteros (avispa, abejas, hormigas) y en el látex. Al estar presentes en diferentes fuentes alérgicas se las considera panalérgicas y están frecuentemente implicadas en la reactividad cruzada entre pólenes y alimentos. Existen dos síndromes clínicos principales relacionados con profilinas:

1. **Síndrome polen-frutas:** sandía, melón, tomate, banana, asociada a sensibilización a pólenes de gramíneas.
2. **Síndrome látex-frutas:** sensibilización a la profilina de látex en pacientes con sensibilización a frutas tropicales como palta, banana, kiwi y castaña.

Todos estos artículos presentados en este número tienen la virtud de estimular nuestra comprensión de temas que han sufrido importantes avances en estos últimos 25 años. Esto hace que la comunidad médica mejore su esfuerzo para reconocer con un diagnóstico preciso y un tratamiento adecuado de los pacientes que padecen estas enfermedades. Esperamos que sean útiles a la práctica de la atención médica.

Dr. Juan Carlos Muíno

Editor de AAIC

EDITORIAL

Editorial

Archivos de Alergia e Inmunología Clínica 2023;54(1):7

En el presente volumen nos enfocamos en un tema de gran importancia y con poca difusión en el campo de la clínica inmunológica como son los autoanticuerpos de tipo IgE, los cuales han logrado visibilidad en las recientes descripciones inmunopatogénicas de la urticaria crónica espontánea.

Aquí, el trabajo de uveítis encabezado por los Dres. Juan C. Muiño, Claudio P. Juárez y colaboradores presenta la singularidad de un estudio novedoso sobre la fisiopatogenia de esta grave enfermedad. Desde hace muchos años (1997), estos dos autores junto con los Dres. Marta Romero y José Luna describen como parte importante de la agresión inmunológica del ojo a autoanticuerpos IgE anti proteína S de retina. Este trabajo corrobora trabajos previos de autoinmunidad ocular, realizados desde hace más de 30 años por Nusseblatt et al., quien había demostrado la IgG anti proteínas de retina. Este grupo, autor del trabajo, presentó en el *Meeting* de AAAAI 1999 un trabajo sobre IgE anti proteína S de retina y además otro trabajo en LES sobre autoanticuerpos de tipo IgE anti-ENA (RO, La, RNP) y ANA; estos novedosos hallazgos para la época están reflejados en *Journal of Clinical Immunology* de 1999, volumen 19, pp. 215-22. Continuando con esta temática de la importancia de IgE como autoanticuerpo, realizan un estudio con el nefrólogo Dr. Luis Juncos, llamado *Renal tubular acidosis and vasculitis associated with IgE deposits in the kidney and small vessels* demostrando este isotipo antianhidrasa carbónica (Juncos LI, Muiño JC, García NH, Ferrer CI, Romero M, Sambuelli RH, Beltramo D. *Am J Kidney Dis* 2000 May;35(5):941-9. doi: 10.1016/s0272-6386(00)70267-8).

Otro soporte para el estudio de la temática ha sido el trabajo publicado por Romero y Muiño como primeros autores, Juárez, Luna, Mercedes Ferrero y el especial aporte del Dr. Gabriel Rabinovich, que evalúa un aspecto importante de la patogenia de la uveítis autoinmune e infecciosa, como son la galectinas. En este estudio y siguiendo este isotipo de autoanticuerpos, la IgE antigalectinas tiene un gran valor en la regulación de la repuesta inmunológica y clínica en uveítis autoinmune y toxoplásmica. Esta proteína, descubierta por Landa y Juárez en la estructura del ojo de aves, es estudiada en profundidad por Rabinovich, quien ha trascendido a múltiples campos de la biología y medicina, tales como inmunidad, tumorigénesis y propuestas de tratamiento (*Circulating anti-galectin-1 antibodies are associated with the severity of ocular disease in autoimmune and infectious uveitis*. Romero MD, Muiño JC, Bianco GA, Ferrero M, Juárez CP, Luna JD, Rabinovich GA. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, April 2006, Vol. 47, No. 4 1550). El trabajo que se presenta en ese número tiene la virtud de estudiar profundamente las uveítis y sus mecanismos patogénicos con un enfoque a su manejo terapéutico. Allí se describe la correlación entre la presencia de una proteína SLPI que actúa como reparador de las agresiones de los tejidos, cuya síntesis es dependiente de los corticoesteroides. Muiño, Juárez y colaboradores describen que los niveles de esta proteína responde a la administración de meprednisona, aumentando en los pacientes con evolución aceptable de su afección, mientras que los no respondedores se caracterizan por no modificar los niveles de proteína SLPI y la consecuente ausencia de modificación de su condición oftálmica.

Esperamos que disfruten de la lectura de estos valiosos reportes, y además reforcemos el concepto de la IgE como potencial autoanticuerpo en diversas manifestaciones inmunológicas.

Dr. Maximiliano Gómez
Presidente de AAAeIC

ABDOMEN AGUDO Y AEH CON CI INHIBIDOR NORMAL: CONFUSIÓN DIAGNÓSTICA Y CIRUGÍAS INNECESARIAS EN UNA PATOLOGÍA GENÉTICA POCO CONOCIDA

Acute abdomen and HAE with normal C1 inhibitor: diagnostic confusion and unnecessary surgeries in a little-known genetic pathology

Florencia Baillieau

RESUMEN

El dolor abdominal agudo es una consulta frecuente en la guardia de urgencia y en los consultorios de cirujanos expertos, pero cuando se presenta en pacientes con angioedema hereditario (AEH) es confundido con un abdomen agudo quirúrgico, pudiendo conducir a cirugías innecesarias.

Se presenta el caso de una paciente de 19 años intervenida quirúrgicamente en 2 oportunidades con un diagnóstico erróneo, a pesar de tener antecedentes de episodios dolorosos abdominales invalidantes que le impedían realizar las actividades diarias. Previo a las cirugías no tenía diagnóstico de esta rara condición genética, que resultó ser una variante aún menos frecuente como es el AEH con C1 inhibidor normal.

Palabras clave: angioedema hereditario con C1 inhibidor normal, dolor abdominal no quirúrgico.

ABSTRACT

Acute abdominal pain is a frequent consultation in the emergency room and in the offices of expert surgeons, but when it occurs in patients with hereditary angioedema (HAE) it can be mistaken for a surgical acute abdomen, potentially leading to unnecessary surgeries.

We present the case of a 19-year-old patient who underwent surgery twice with an erroneous diagnosis, despite having a history of disabling abdominal pain episodes that prevented her performing daily activities. Prior to the surgeries, she had not been diagnosed with this rare genetic condition, turned out to be an even less frequent variant, HAE with a normal C1 inhibitor.

Keywords: hereditary angioedema with normal C1 inhibitor, non-surgical abdominal pain.

Archivos de Alergia e Inmunología Clínica 2023;54(1):8-11

INTRODUCCIÓN

El dolor abdominal agudo es un motivo de consulta frecuente en las guardias y consultorios hospitalarios y puede constituir una verdadera urgencia médica. Generalmente no es fácil decidir si se trata de un abdomen agudo médico o uno que requiere intervención quirúrgica¹. Se utilizan diversas herramientas clínicas, de laboratorio e imágenes para llegar a un correcto diagnóstico y si bien, ante la duda, se prefiere intervenir, esta decisión conlleva una gran responsabilidad. Como todo en medicina, no siempre lo que parece ser termina siendo, ya que hay patologías que cursan con este síntoma tan poco específico y su trata-

miento es exclusivamente médico, lejos de una intervención quirúrgica.

Los pacientes con angioedema hereditario (AEH) presentan un trastorno familiar resultante de la deficiencia o disfunción del inhibidor de la proteína del complemento C1, denominado inhibidor de C1 (C1-Inh), que conduce a una activación anormal de la vía clásica del complemento, al consumo de los factores C4 y C2 y a la liberación de mediadores vasoactivos que aumentan la permeabilidad capilar, lo que provoca el angioedema². Esta rara enfermedad se caracteriza clínicamente por tumefacciones recurrentes (edemas) de la piel, las mucosas, los tejidos submucosos y los órganos internos (pared de las vísceras huecas, incluido el intestino), que puede afectar cualquier parte del cuerpo; típicamente involucra las extremidades, la cara, la vía respiratoria y el aparato digestivo^{1,3}.

Históricamente, el AEH se describía como de tipos I y II, pero en el 2000, dos grupos diferentes de investigadores, publicaron descripciones de otra forma familiar de angioedema, en la que los individuos afectados tenían niveles y actividad normales de C1-Inh, siendo la mayoría mujeres y asociados con consumo de estrógenos⁴.

Especialista en Pediatría y alergia e Inmunología Clínica. Docente de la Escuela Superior de Medicina UNMdP. Centro de Alergia Mar del Plata

Correspondencia: Florencia Baillieau. fbailleau@gmail.com

Los autores declaran no poseer conflictos de intereses.

Recibido: 01/11/2022 | Aceptado: 30/11/2022



Figura 1.

Posteriormente, se describieron varias familias adicionales, en una serie de 88 familias. De estas investigaciones surgió el término “dependiente de estrógenos” propuesto para describir este trastorno considerado exclusivo en mujeres, hasta que posteriormente se comprobó que los hombres también pueden verse afectados, por lo que, en una declaración de consenso de un panel internacional de expertos, se establece que el trastorno se designe como “AEH con CI-Inh normal”⁵.

Lo diferente de esta variante es que, ante la presencia de angioedemas recurrentes con características no histamínicas y la sospecha clínica de angioedema hereditario, todas las determinaciones analíticas del complemento son normales (C4, C1 inhibidor antigénico y funcional). Esto desconcierta al investigador y produce dudas diagnósticas que retrasan los tratamientos y pueden generar complicaciones e incluso poner en peligro la vida del paciente, que suele presentar esta condición sin saberlo.

CASO CLÍNICO

Se presenta el caso de una paciente de 19 años que, desde la infancia, presenta dolores abdominales recurrentes que fueron interpretados como gastroenteritis agudas. En la anamnesis surge que la tía y primas de rama materna presentaron edemas en labios, de forma aislada, asociados a traumatismos y a situaciones poco claras, siendo el diagnóstico de alergia el sospechado en todos los casos.

La niña presenta su menarca en el año 2017 y un año después comienza con ingesta de anticonceptivos orales (drospirenona 0,3 mg / etinilestradiol 0,03 mg). Continuó con

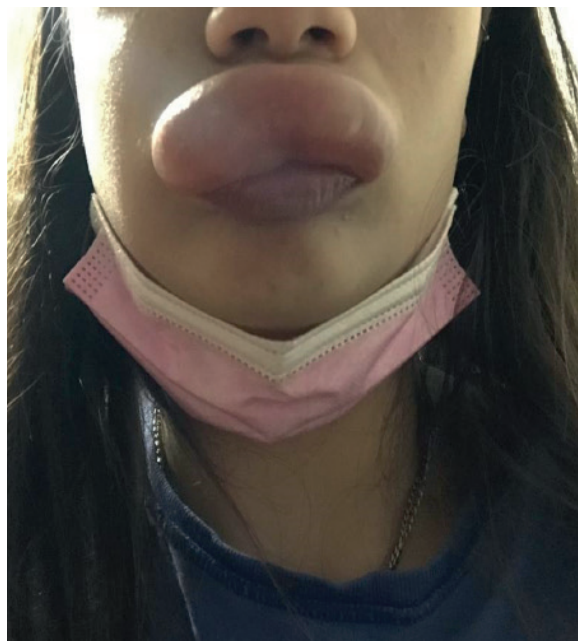


Figura 2.

dolores cólicos abdominales que en varias oportunidades se asociaban al ciclo menstrual, pero de todas maneras no siempre coincidían, presentándose de forma recurrente. Uno de los episodios se asoció con vómitos, por lo que consultaron en guardia y quedó internada por 2 días sin un diagnóstico claro. En los estudios realizados se halló cuadro inflamatorio inespecífico que no mermaba el dolor con antiespasmódicos habituales, lo cual desconcertaba sin arribarse a una causa específica que lo explicara.

En ese mismo año tuvo angioedema de labio, que se interpretó como una reacción alérgica, pero llamativamente no mejoraba con antihistamínicos ni corticoides. En mayo del 2021, vuelve a tener otro episodio de dolor abdominal intenso, que luego de su evaluación, con una ecografía que mostraba líquido libre en el fondo de saco de Douglas, interasas y en cavidad abdominal a predominio de flanco y FID y aumento de la ecogenicidad de la grasa mesentérica sugerente de cambios edematosos, fue diagnosticado como apendicitis

Se realizó una cirugía por laparoscopia sin complicaciones y una semana luego del alta vuelve a ser intervenida quirúrgicamente ya que el dolor era intenso y constante, mostrando en la TAC una obstrucción ileocecal que se interpretó como complicación tardía de la apendicetomía.

En mayo de este año, consulta a un centro especializado en alergia, posteriormente al alta de una nueva internación por angioedema de labio. Sin respuesta a antihistamínicos orales ni EV, internada durante 2 días sin diagnóstico de certeza, pero con sospecha de que algo más que una sensibilización alérgica existía de manera subyacente.

DISCUSIÓN

El angioedema hereditario es una inmunodeficiencia primaria por deficiencia del sistema del complemento y el dolor abdominal asociado al angioedema de las paredes intestinales es confundido con un abdomen agudo pudiendo conducir a cirugías innecesarias⁶. En el caso de esta paciente, a sus 19 años ha sido intervenida quirúrgicamente en 2 oportunidades sin un diagnóstico quirúrgico real que lo justifique y ha tenido episodios invalidantes que le impidieron realizar las actividades diarias ante los episodios de angioedema. El tener esta condición la hace susceptible de posibles angioedemas en otras partes del organismo: manos, pies, párpados, e incluso angioedema laríngeo y de glotis, teniendo en este último caso riesgo de vida y, eventualmente, consecuencias fatales. El edema laríngeo que también sufren estos pacientes puede ocasionar la muerte por asfixia³.

También es motivo de duda para el médico de emergencia ya que puede confundirse con edema de glotis en un contexto de anafilaxia, pero en estos casos no es la adrenalina el medicamento que salvará su vida, sino el conocimiento de su historia personal y familiar con antecedentes que hagan sospechar de angioedema hereditario, debiéndose indicar una infusión de plasma fresco congelado, de no contarse con medicación específica, concentrado de C1-Inh o el antagonista específico y selectivo de los receptores B2 de bradicinina, icatibant^{5,6}.

En los tipos I y II de AEH, se ha demostrado de forma convincente que la generación excesiva de bradicinina, una potente sustancia vasoactiva, es el principal mecanismo que conduce a la formación de angioedema. En el AEH con C1-Inh normal, no está tan claro que la bradicinina sea el principal mediador del angioedema, aunque la eficacia del icatibant es un fuerte indicador indirecto de que la bradicinina es importante. En esta patología tan compleja, las vías de generación de cininas interactúan con las vías de coagulación (sistema de contacto) y fibrinolítica, y las anomalías de las proteínas en estas vías también podrían conducir a la generación anormal de angioedema^{4,5}.

Se han identificado varias mutaciones específicas de AEH en familias con AEH con C1-Inh normal, siendo el patrón de familiares afectados en generaciones sucesivas un modo de herencia autosómica dominante. Hasta la fecha, se han identificado mutaciones específicas de AEH en los genes de las siguientes proteínas en familias con AEH con C1-Inh normal: factor de coagulación XII, plasminógeno, angiopoietina-1, cininógeno-1, mioferlina, heparán sulfato-glucosamina 3-O-sulfotransferasa 6.⁷

En la paciente presentada, se ha identificado la variante c.983C>A en el exón 9 del gen *F12* en heterocigosis, lo que confirma el diagnóstico de AEH con C1-Inh normal con mutación del factor XII. Con este resultado, se realiza asesoramiento genético y se planea estudio de *pedigree* familiar (árbol genealógico). Se indica medicación específica, icatibant, que tiene efectos rápidos en la desaparición del AE mejorando la calidad de vida del paciente y evitando probables complicaciones que puedan comprometer la vida.

CONSIDERACIONES

Es un desafío para el médico sospechar patologías como esta, en donde la primera impresión no es la que cuenta. Ante la presencia de angioedema, la asociación casi inmediata a una reacción alérgica nubla toda otra posibilidad y, por frecuencia, la hace el diagnóstico más probable. Todavía más difícil de sospechar es una patología genética, familiar y muy poco frecuente como esta, donde la expresión clínica no solo es a nivel de piel y mucosas, sino que la enfermedad puede afectar órganos internos como el intestino, con un síntoma tan poco específico como el dolor abdominal, que por ser de gran intensidad, tipo cólico y de duración prolongada, induce a que culminen en actos quirúrgicos. Y en este tipo de angioedema se suma otro factor de confusión para el investigador, que quizás tuvo la idea de pensar en AEH, pero ante estudios de laboratorio que muestran factores del complemento y sus inhibidores totalmente normales, es muy posible que abandone ese camino y comience a buscar otra causa. El conocer esta variante, en donde la sospecha clínica y la historia familiar apoyan fuertemente la sospecha, obliga a continuar en búsqueda de una explicación certera y precisa de la patogenia del AEH C1-Inh normal, tan diferente de la alérgica pero que son alteraciones que comparten igual o muy similar sintomatología.

CONCLUSIONES

Cualquier edema de glotis, laringoespasma o crup laríngeo que no responde a corticoides, antihistamínicos o adrenalina puede ser un AEH, así como cualquier abdomen agudo que dura muchas horas, recidivante, que no responde a antiespasmódicos, puede ser un AEH.

El AEH con C1-Inh normal suele ser desconocido por el paciente y puede tener o no antecedentes familiares, por lo que la sospecha clínica es la herramienta de mayor valor para su diagnóstico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Salazar-Torres L, Quintana-Gómez F, Díaz-Marín C. Dolor abdominal por angioedema hereditario. Presentación de casos. *Rev Cub Hemat Inmunol y Hemot* 2017;36:1-7.
2. Salazar-Torres L. El angioedema hereditario: causa poco común de dolor abdominal. *Rev Cub Hemat Inmunol y Hemot* 2019;35(3):1-4.
3. Salas-Lozano NG, Meza-Cardona J, González-Fernández C, et al: Angioedema hereditario: causa rara de dolor abdominal. *Cir Cir* 2014;82:563-6.
4. Bork K, Machnig T, Wulff K, et al. Clinical features of genetically characterized types of hereditary angioedema with normal C1 inhibitor: a systematic review of qualitative evidence. *Orphanet J Rare Dis* 2020;15(1):289.
5. Kaplan AP. Enzymatic pathways in the pathogenesis of hereditary angioedema: the role of C1 inhibitor therapy. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126(5):918-25.
6. Blanco del Vala A, Sedano Martínez ME, Carrascal Arranza MI, et al. Angioedema hereditario de presentación exclusiva abdominal: ¿actitud terapéutica a seguir? *An Pediatr (Barc)* 2004;61(4):344-52.
7. Bork K, Gul D, Hardt J, et al. Hereditary angioedema with normal C1 inhibitor: clinical symptoms and course. *Am J Med* 2007;120(11):987.

FLAVONOIDES EN EL DESARROLLO Y CONTROL DE AUTOINMUNIDAD

Flavonoids in the development and control of autoimmunity

Yiser Martínez¹, Odalis Guerrero¹, Daniela García¹, Marlon Múnera^{1,2}

RESUMEN

El sistema inmunológico protege al cuerpo de infecciones y enfermedades pero también puede convertirse en un "arma de doble filo"; es decir, puede curar o dañar nuestros mecanismos fisiológicos debido a que el sistema inmunológico no reconoce entre agentes extraños y sus propias células corporales, generando así trastornos autoinmunes como diabetes tipo I, cirrosis biliar primaria, artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, lupus eritematoso sistémico, entre otros.

Los flavonoides son compuestos naturales, producidos como metabolitos secundarios por las plantas como mecanismo de defensa contra condiciones de estrés biótico y abiótico, principalmente; además, se ha confirmado que los flavonoides poseen una amplia gama de beneficios para la salud debido a sus propiedades nutraceuticas como antibacteriano, antioxidante y antiinflamatorio, aunque la actividad biológica más importante del flavonoide es el efecto antiinflamatorio incluyendo la inhibición de mediadores inflamatorios como especies reactivas de oxígeno (ROS) y óxido nítrico (NO). Por lo tanto, en este estudio se describen algunas enfermedades autoinmunes para determinar si son fundamentales estos compuestos en la dieta de la persona.

Objetivo. Desarrollar una perspectiva teórica sobre el impacto de los flavonoides en las enfermedades autoinmunes.

Conclusiones. Los efectos de los flavonoides son pleiotrópicos, dado que para ciertas enfermedades presenta beneficios, pero en otras puede inducir daño a nivel endocrino por la represión de genes que causa.

Palabras clave: flavonoides, autoinmunidad, sistema inmunológico, quercetina, hormonas.

ABSTRACT

Background. The immune system protects the body from infections and diseases, but it can act as a "double-edged sword" and can heal or even damage our physiological mechanisms, because the immune system does not recognize foreign agents and its own body cells, thus generating autoimmune disorders such as type I diabetes, primary biliary cirrhosis, rheumatoid arthritis, Sjögren's syndrome, systemic lupus erythematosus, among others; flavonoids are natural compounds, produced as secondary metabolites by plants as a defense mechanism against biotic and abiotic stress conditions, mainly, it has also been confirmed that flavonoids have a wide range of health benefits due to their nutraceutical properties as antibacterial, antioxidant and anti-inflammatory, although the most important biological activity of the flavonoid is the anti-inflammatory effect including the inhibition of inflammatory mediators such as reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide (NO)². Therefore, in this study we describe some autoimmune diseases and determine if these compounds are essential in the diet of the person.

Objective. To develop a theoretical perspective on the impact of flavonoids in autoimmune diseases.

Conclusions. The effects of flavonoids are pleiotropic, this given that for certain diseases it presents benefits, however; in others it can induce endocrine damage due to the repression of genes it causes.

Keywords: flavonoids, autoimmunity, immune system, quercetin, hormones.

Archivos de Alergia e Inmunología Clínica 2023;54(1):12-14

INTRODUCCIÓN

Los flavonoides son un grupo de compuestos polifenólicos naturales que se encuentran principalmente en los organismos vegetales. Son metabolitos que surgen de la biosíntesis combinada de la vía del ácido siquímico y del acetato-malonato¹. Este componente protege al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental y sustancias químicas

presentes en los alimentos, entre otras. Sin embargo, el ser humano no puede producir estas sustancias protectoras².

Los flavonoides se encuentran principalmente en frutas, verduras, semillas y flores, así como en cerveza, vino, té verde, té negro y soja, los cuales son consumidos en la dieta humana de forma habitual y también ser utilizados en forma de suplementos nutricionales, junto con ciertas vitaminas y minerales. Además, los podemos encontrar en extractos de plantas como arándano, *Ginkgo biloba*, cardo mariano o crataegus².

De acuerdo con lo expuesto, los flavonoides cumplen funciones importantes en la dieta del ser humano, por ende, una alimentación saludable y balanceada va a mejorar la calidad de vida.

BIOQUÍMICA DE LOS FLAVONOIDES:

Los flavonoides son metabolitos que surgen de la biosíntesis de la vía del ácido siquímico y del acetato-malonato, se acumulan en las vacuolas de las células vegetales y se encuentran de manera variable. Esto se da gracias a la hidroxilación, metoxilación y glicosilación de

1. Programa de Medicina, Corporación Universitaria Rafael Núñez. Cartagena, Colombia

2. Grupo de investigación GINUMED, Programa de Medicina, Corporación Universitaria Rafael Núñez. Cartagena, Colombia

Correspondencia: Prof. Marlon Múnera. Grupo de Investigación Médica (GINUMED). Corporación Universitaria Rafael Núñez Claustro 2. San Francisco. Cartagena, Colombia Tel: +57 300 529 5164. marmunera@gmail.com.

Los autores declaran no poseer conflictos de intereses.

Recibido: 14/10/2022 | Aceptado: 10/11/2022

los anillos de sustitución; los flavonoides lipofílicos, agliconas, metoxilados y prenilados son sintetizados para proteger a las plantas³.

Estructuralmente, los flavonoides tienen un esqueleto de quince carbonos. En cuanto a su núcleo, está compuesto por dos anillos de benceno y un anillo de pirano que contiene oxígeno y se van a diferenciar por su nivel de oxidación del núcleo del anillo C del 4-oxoflavonoide básico (2-fenil-benzo- γ -pirona) así como en el patrón de sustitución de los anillos A y B. Teniendo en cuenta lo anterior, los flavonoides se clasifican en 8 principales grupos: flavonas, flavonoles, isoflavonas, flavan-3-oles, flavononoles, antocianidosins, chalconas y flavanonas³. Esta diversidad les permite funcionalmente desempeñar distintos papeles en el ámbito terapéutico, actuando como antioxidantes, antimutagénicos, antibacterianos, antiangiogénico, antiinflamatorio, antialérgico, moduladores enzimáticos, anticáncer y efectos inmunomoduladores al modular la diferenciación, la maduración y estimulación de células dendríticas. Además, intervienen en la acción biológica de células como eosinófilos, mastocitos y basófilos, modulando la respuesta inflamatoria al inhibir los factores quimio-tácticos, y reducen la desgranulación. Su efecto antiinflamatorio se debe a la unión de los radicales libres y la disminución de la producción de radicales, e inhiben el estallido y previenen la activación del inflamasoma⁴.

ENFERMEDADES AUTOINMUNES:

ARTRITIS INFLAMATORIA

La artritis reumatoide se desarrolla por la infiltración de células T, células B, macrófagos y fibroblastos en la membrana sinovial, y como consecuencia se genera la destrucción articular y la pérdida de función. Podemos decir que uno de los mayores protagonistas que llevan a que esta se desencadene son las células Th17, las cuales tienen como función coordinar la inflamación del tejido, el daño del cartílago y el hueso y producir IL-17, que recluta neutrófilos al sitio de la inflamación y promueve la diferenciación de los osteoclastos generando erosión ósea y destrucción del cartílago. Además, las células Th17 también son causantes de otras dos citocinas, IL-22 e IL-21, que alteran la glicosilación de autoanticuerpos y favorecen la inflamación. Es de gran importancia saber que las células Tregs ayudan a regular la respuesta inflamatoria por medio de la transcripción FoxP3. Teniendo en cuenta lo anterior, se ha visto que existen varios flavonoides que actúan tanto en las células Th17 como en a nivel del FoxP3 y las Tregs entre estos encontramos

FIBROSIS PULMONAR

La fibrosis pulmonar (FP) es un trastorno pulmonar grave que se caracteriza por la acumulación excesiva

de matriz extracelular. En el período inicial de la FP, la afectación de los pulmones se da principalmente por infiltración de células inflamatorias, edema y congestión, que luego se convierte en lesión de células epiteliales alveolares (AEC), proliferación anormal de células productoras de ECM como células mesenquimales que incluyen fibroblastos (FB) y miofibroblastos (MFb). La sobreproducción de estas células resulta en cicatrización progresiva y pérdida de la función pulmonar.

En esta enfermedad, el consumo de flavonoides influye en el balance redox que se genera por la inflamación. Los estudios *in vitro* muestran que los flavonoides reducen la expresión de citoquinas proinflamatorias como la IL-8 y TNF alfa⁵. Los estudios en pacientes indican que flavonoides como la quercetina reducen la actividad de Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2), un gen involucrado en la regulación del estrés oxidativo^{6,7}. En los modelos con ratas simulando fibrosis, la administración de flavonoides indujo regeneración del tejido pulmonar⁸. Estos resultados se han replicado en diferentes ensayos⁹. De acuerdo con los estudios celulares, los flavonoides favorecen la apoptosis en células a través de la sobreexpresión de los receptores de muerte tipo Fas y caveolina. De esta forma, inducen la apoptosis de células senescentes y reducen la formación de fibrosis⁹.

ESCLEROSIS MÚLTIPLE

Esta enfermedad se caracteriza por la presencia de autoanticuerpos contra antígenos del sistema nervioso central, tales como MBP, glucoproteína asociada a mielina, MOG, PLP, CRYAB y proteína específica de oligodendrocitos^{10,11}. Los procesos inflamatorios observados en esta enfermedad están principalmente controlados por el perfil Th17^{12,13}.

Los estudios sobre los efectos de los flavonoides sobre el desarrollo de la enfermedad indican que estos compuestos solo o en combinación pueden mejorar los síntomas de la esclerosis múltiple¹⁴. En pruebas clínicas se ha encontrado que síntomas como la fatiga en pacientes con esclerosis múltiple disminuyeron significativamente cuando eran suplementados con bebidas de cacao enriquecidas con flavonoides^{15,16}. De acuerdo con estudios, los efectos de los flavonoides del cacao activan las vías PI3K/Akt, ERK1/2 y PKC, lo cual aumenta la supervivencia de las neuronas^{17,18}. La neuroprotección por flavonoides es un aspecto importante para considerar; esta propiedad se ha estudiado ampliamente, y sugiere que estos compuestos son claves para mejorar la función celular de las neuronas^{18,19}.

TIROIDITIS DE HASHIMOTO

Respecto a los estudios de los efectos de flavonoides como la quercetina en la tiroiditis, la literatura indica que estos

inducen daños o alteraciones a nivel de la función de la tiroides. Dichas alteraciones se deben a que los flavonoides inducen una represión en genes esenciales para la función de la tiroides, actuando como un disruptor endocrino. Algunos de los genes reprimidos por los flavonoides son *NIS*, *TSHR*, *TPO* y *TG*^{20,21}. En el caso del *NIS*, es un transportador por simporte de sodio/yodo, las alteraciones en este transportador se asocian al desarrollo de hipotiroidismo^{22,23}. Por lo tanto, los flavonoides al reprimir la expresión del gen *NIS* reduce el correcto transporte de yodo y sodio.

CONCLUSIÓN

Los flavonoides son moléculas orgánicas de amplio estudio por sus potenciales usos en medicina. La literatura con respecto a los efectos de flavonoides en enfermedades autoinmunes sugiere que no tienen un efecto beneficioso de manera global, ya que, para enfermedades como la tiroiditis de Hashimoto presenta contraindicaciones. Esto es de importancia, porque permite establecer límites en el uso de este tipo de moléculas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rengasamy KRR, Khan H, Gowrishankar S, et al. The role of flavonoids in autoimmune diseases: Therapeutic updates. *Pharmacol Ther* 2019;194:107-31.
2. Leyva-López N, Gutierrez-Grijalva EP, Ambríz-Pérez DL, Heredia JB. Flavonoids as Cytokine Modulators: A Possible Therapy for Inflammation-Related Diseases. *Int J Mol Sci* 2016;17.
3. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci* 2016;5:e47.
4. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod* 2000;63:1035-42.
5. Veith C, Drent M, Bast A, van Schooten FJ, Boots AW. The disturbed redox-balance in pulmonary fibrosis is modulated by the plant flavonoid quercetin. *Toxicol Appl Pharmacol* 2017;336:40-8.
6. Ma Q. Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2013;53:401-26.
7. Pi J, Zhang Q, Woods CG, Wong V, Collins S, Andersen ME. Activation of Nrf2-mediated oxidative stress response in macrophages by hypochlorous acid. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008;226:236-43.
8. Li J, Lin XY, Li JT, et al. [Effect of flavonoids from hedydari radix on pulmonary functions of pulmonary fibrosis rat]. *Zhong Yao Cai* 2013;36:771-5.
9. Hohmann MS, Habel DM, Coelho AL, Verri WA, Jr., Hogaboam CM. Quercetin Enhances Ligand-induced Apoptosis in Senescent Idiopathic Pulmonary Fibrosis Fibroblasts and Reduces Lung Fibrosis In Vivo. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2019;60:28-40.
10. Kuerten S, Lanz TV, Lingampalli N, et al. Autoantibodies against central nervous system antigens in a subset of B cell-dominant multiple sclerosis patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2020;117:21512-8.
11. Hohlfeld R, Dormair K, Meinl E, Wekerle H. The search for the target antigens of multiple sclerosis, part 2: CD8+ T cells, B cells, and antibodies in the focus of reverse-translational research. *Lancet Neurol* 2016;15:317-31.
12. Dos Passos GR, Sato DK, Becker J, Fujihara K. Th17 Cells Pathways in Multiple Sclerosis and Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders: Pathophysiological and Therapeutic Implications. *Mediators Inflamm* 2016;2016:5314541.
13. Rostami A, Ciric B. Role of Th17 cells in the pathogenesis of CNS inflammatory demyelination. *J Neurol Sci* 2013;333:76-87.
14. Bayat P, Farshchi M, Yousefian M, Mahmoudi M, Yazdian-Robati R. Flavonoids, the compounds with anti-inflammatory and immunomodulatory properties, as promising tools in multiple sclerosis (MS) therapy: A systematic review of preclinical evidence. *Int Immunopharmacol* 2021;95:107562.
15. Coe S, Axelsson E, Murphy V, et al. Flavonoid rich dark cocoa may improve fatigue in people with multiple sclerosis, yet has no effect on glycaemic response: An exploratory trial. *Clin Nutr ESPEN* 2017;21:20-5.
16. Coe S, Collett J, Izadi H, et al. A protocol for a randomised double-blind placebo-controlled feasibility study to determine whether the daily consumption of flavonoid-rich pure cocoa has the potential to reduce fatigue in people with relapsing and remitting multiple sclerosis (RRMS). *Pilot Feasibility Stud* 2018;4:35.
17. Solanki I, Parihar P, Mansuri ML, Parihar MS. Flavonoid-based therapies in the early management of neurodegenerative diseases. *Adv Nutr* 2015;6:64-72.
18. Frandsen JR, Narayanasamy P. Neuroprotection through flavonoid: Enhancement of the glyoxalase pathway. *Redox Biol* 2018;14:465-73.
19. Frandsen J, Narayanasamy P. Flavonoid Enhances the Glyoxalase Pathway in Cerebellar Neurons to Retain Cellular Functions. *Sci Rep* 2017;7:5126.
20. Giuliani C, Bucci I, Di Santo S, et al. The flavonoid quercetin inhibits thyroid-restricted genes expression and thyroid function. *Food Chem Toxicol* 2014;66:23-9.
21. Giuliani C, Noguchi Y, Harii N, et al. The flavonoid quercetin regulates growth and gene expression in rat FRTL-5 thyroid cells. *Endocrinology* 2008;149:84-92.
22. Pohlenz J, Refetoff S. Mutations in the sodium/iodide symporter (NIS) gene as a cause for iodide transport defects and congenital hypothyroidism. *Biochimie* 1999;81:469-76.
23. Targovnik HM, Citterio CE, Rivolta CM. Iodide handling disorders (NIS, TPO, TG, IYD). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2017;31:195-212.

REACTIVIDAD CRUZADA ENTRE PROFILINAS DE ORIGEN VEGETAL. UN ANÁLISIS IN SILICO

Cross-reactivity between profilins of plant origin. An in silico analysis

Emiliani Y^{1,3}, Cortina E¹, Múnera M¹, Sánchez A^{1,2}, Sánchez J², Aparicio D¹

RESUMEN

Antecedentes. Las profilinas son proteínas del citoesqueleto de las células eucariotas que se encargan de la proliferación y diferenciación celular. Se han caracterizado como alérgenos de alimentos vegetales, con capacidad de inducir síndromes alérgicos. Su amplia distribución hace importante su estudio en la reactividad cruzada.

Objetivo. Identificar in silico, potenciales regiones antigénicas involucradas en la reactividad cruzada de profilinas en alimentos.

Materiales y métodos. Seleccionamos 32 secuencias de aminoácidos reportadas en la base de datos Allergome. Se determinó su grado de identidad con la herramienta IBIVU PRALINE. Mediante el software MEGA se exploró la relación filogenética. Los modelos 3D se obtuvieron por modelamiento basado en homología. La predicción de epítopes con la herramienta Ellipro o en la base de datos IEDB. Los epítopes de reactividad cruzada se localizaron en los modelos 3D con el software PyMOL.

Resultados. El análisis filogenético mostró que las 32 profilinas fueron posicionadas en seis clados monofiléticos (A, B, C, D, E y F). El clado A comparte un nivel de identidad del 87% en sus secuencias de aminoácidos; el clado B, 86%; el clado C, 82%; el clado D, 86%; el clado E, 83%; y el clado F, 75%. Siete proteínas fueron modeladas. Se predijeron un total de 25 epítopes. En los clados A y B se encontraron tres epítopes; en el C, siete; y en los D, E y F, cuatro epítopes por cada clado.

Conclusión. Las profilinas son un grupo de proteínas altamente conservadas en estructura y aminoácidos, lo cual sugiere que el mimetismo molecular y los epítopes predichos en este estudio indican un alto potencial de reactividad cruzada.

Palabras clave: alimentos, alergia, profilinas, bioinformática, epítopes, reactividad cruzada.

ABSTRACT

Background: Profilins are proteins of the cytoskeleton of eukaryotic cells, they are responsible for cell proliferation and differentiation. They have been characterized as plant food allergens, with the ability to induce allergic syndromes. Its wide distribution makes its study in cross-reactivity important.

Objective: To identify in silico potential antigenic regions involved in the cross-reactivity of profilins in food.

Materials and Methods: We selected thirty-two amino acid sequences reported in the Allergome database. Their degree of identity was determined with the IBIVU PRALINE tool. Using the MEGA software, the phylogenetic relationship was explored. The 3D models were obtained by homology-based modeling. The prediction of epitopes with the Ellipro tool or in the IEDB database. Cross-reactivity epitopes were in 3D models with PyMOL software.

Results: Phylogenetic analysis showed that the thirty-two profilins were positioned in six monophyletic clades (A, B, C, D, E, and F). Clade A shares an identity level of 87% in its amino acid sequences, clade B 86%, clade C 82%, clade D 86%, clade E 83%, clade F 75%. Seven proteins were modeled. A total of twenty-five epitopes were predicted. Clades A and B were found three epitopes, the C seven and D, E, F four epitopes for each clade.

Conclusion: They are a group of proteins highly conserved in structure and amino acids, which suggests that the molecular mimicry and epitopes predicted in this study indicate a high potential for cross-reactivity.

Keywords: food, allergy, prophylins, bioinformatics, epitopes, cross-reactivity

Archivos de Alergia e Inmunología Clínica 2023;54(1):15-26

INTRODUCCIÓN

La respuesta alérgica se considera una activación del sistema inmune de manera exacerbada ante la exposición a

alérgenos mediante anticuerpos IgE, principalmente, y células tales como mastocitos, basófilos y linfocitos Th2. Los alérgenos se encuentran en distintas fuentes biológicas como: mascotas, ácaros, polen y alimentos, entre otras. Si bien los alérgenos de alimentos son resistentes a la digestión enzimática por pepsina, son lábiles ante la desnaturalización por calor. Estas propiedades modifican la capacidad de sensibilización a través del tracto gastrointestinal¹.

Las reacciones alérgicas a alimentos tienen una prevalencia a nivel mundial del 2-8% en la población infantil y del 1-3% en la población adulta². Aunque se asocia más a la población infantil, se cree que en la medida en la que estos niños se vuelven adultos aumenta la tendencia a presentar padecimientos de este tipo. De acuerdo con datos de la WAO en el 2013, para América del Sur (Colombia) el 10% de los niños de 1 a 8 años y el 12% de 9 a 16 años presentan alergia alimentaria; otros estudios reportan que aproximadamente el 40-60% de los casos de alergia al pes-

1. Facultad de Salud, Grupo de Investigación Médica (GINU-MED), Corporación Universitaria Rafael Núñez, Cartagena, Colombia.
2. Grupo de Alergia Clínica y Experimental (GACE), Universidad IPS, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
3. Grupo de Investigación Infectología Pediátrica (GIINPED), Universidad de Cartagena, Hospital Infantil Napoleón Franco Pareja, Cartagena, Colombia.

Correspondencia: Yuliana Emiliani Navarro. Médico general, Corporación Universitaria Rafael Núñez. Tel.: +57 301 594 9089. yemiliani10@cumvvirtual.edu.co

Los autores declaran no poseer conflictos de intereses.

Recibido: 17/09/2022 | Aceptado: 07/11/2022

cado o al marisco comienzan en la edad adulta^{3,4}. Las alergias alimentarias desencadenan manifestaciones clínicas variables como problemas digestivos, urticaria e inflamación de las vías respiratorias. Los síntomas más comunes incluyen dolor abdominal, diarrea, flatulencias, náuseas, vómitos, erupciones cutáneas, hormigueo, picazón o rubor en labios, boca y garganta y algunas veces llegan a ser mortales como la anafilaxia, la cual puede presentarse en un 46,2% de los casos⁵.

En la alergia alimentaria existe algo llamado la lista de los Ocho Primeros Alérgenos, que incluye alimentos responsables de más del 90% de alergias alimentarias a nivel mundial⁶. Aunque no estén incluidos las frutas y los vegetales, tienen la capacidad de generar en individuos predispuestos reacciones alérgicas a los alimentos por la absorción de una variedad de productos de origen vegetal. En Colombia, las alergias alimentarias presentan una prevalencia general del 14,9%. Las frutas/verduras (41,8%), mariscos (26,6%) y carnes (20,8%) fueron las fuentes alérgicas más comunes y los síntomas mencionados con mayor frecuencia fueron en piel (61,4%), gastrointestinales (29,1%) y reacciones respiratorias (8,6%)⁷.

Los alimentos de origen vegetal son parte de una dieta saludable y su consumo se recomienda para la prevención de trastornos cardiovasculares y metabólicos. En estos alimentos encontraremos diferentes proteínas que son indispensable para nuestro cuerpo pero que se comportan como alérgenos; por ejemplo, las profilinas constituyen una familia de proteínas altamente conservadas, que están presentes en todas las células eucariotas, incluidas las plantas, hongos, protozoos, así como virus, y juegan un papel crucial en la regulación de la actividad en el sistema de microfilamentos y los niveles de calcio intracelular. Son pequeñas proteínas de 12-19 kDa caracterizadas por poseer siete hojas beta y cuatro hélices alfa⁸. Participan en la polimerización de actina, y son claves como reguladores de la dinámica de la F-actina⁹. Son de gran importancia dado que permiten el desarrollo normal de funciones como la proliferación y diferenciación celular normal, el crecimiento, la motilidad y la citocinesis¹⁰.

El papel de las profilinas como alérgenos ha sido cuestionado durante mucho tiempo. Estas proteínas juegan un papel limitado como alergia alimentaria debido a su baja estabilidad, son procesadas fácilmente por proteasas y desnaturalizadas en condiciones ácidas¹¹. Sin embargo, recientemente se ha demostrado la capacidad de la profilina para inducir síntomas respiratorios y se ha confirmado su papel como un alérgeno importante en pacientes expuestos a grandes cantidades de pólenes de hierba. Además, demostró que más del 50% de los pacientes sensibilizados a la profilina experimentaron síntomas después de la

ingestión de alimentos derivados de plantas, lo que sugiere que debe considerarse como un alérgeno alimentario relevante¹².

Su distribución es amplia por lo que se les considera como panalérgenos, responsables de una gran cantidad de sensibilizaciones alérgicas claramente relacionadas con la reactividad cruzada y la sensibilización conjunta entre el inhalante, el látex y la planta¹³. Se han descrito alergias a las verduras como el apio, espárragos, aguacate, pimiento, repollo, zanahoria, hinojo, lechuga, papa, calabaza, nabo, calabacín y otras 15 especies, la mayoría de estas están disponibles en todo el mundo en los mercados y se ha reportado que existe reactividad cruzada entre ciertas profilinas como las del melón, sandía y zanahoria¹⁴. Gracias a esto han descubierto que las reacciones alérgicas a las frutas con frecuencia se asocian con el síndrome de alergia oral (OEA) junto con el síndrome de polen de frutas y verduras, desencadenado por el consumo de verduras crudas o frutas frescas.

Las profilinas pueden provocar respuestas de IgE en el 10-60% de los pacientes alérgicos al polen. Sin embargo, la prevalencia de sensibilización parece aumentar, debido a que cada vez hay más pacientes atendidos en los departamentos de alergología mostrando sensibilización a un gran número de plantas no relacionadas botánicamente¹⁵. Aun así, no se han abordado algunas profilinas que podrían ser potencialmente reactivas y tener una importancia clínica al desarrollar enfermedades alérgicas. Por lo anterior, el objetivo de este estudio es explorar el potencial de reactividad cruzada en profilinas poco caracterizadas, que expliquen el aumento progresivo de las enfermedades alérgicas por alimentos de origen vegetal.

METODOLOGÍA

1. SELECCIÓN DE PROFILINAS Y ALINEAMIENTO MÚLTIPLE.

Se seleccionaron 32 secuencias de aminoácidos de profilinas de diferentes tipos de vegetales y frutas. Las secuencias se obtuvieron de la base de datos Allergome y Uniprot. Utilizamos las secuencias encontradas en el Subcomité de nomenclatura de alérgenos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) / Unión Internacional de Sociedades Inmunológicas (IUIS)^{16,17}. Descartamos secuencias incompletas para el análisis. No se informaron las secuencias alérgicas del humano, sin embargo, se eligieron para estudiar las diferencias de identidad. El porcentaje de identidad de las profilinas se determinó utilizando el servidor web bibli.vu.nl/PRALINE¹⁸. Los parámetros para realizar la alineación fueron configurados para usar BLOSUM62 como matriz de intercambio. Las interacciones utilizadas fueron 3 con un valor E de 0,01. Posteriormente comparamos las regiones conservadas identificadas con las regio-

TABLA I. Bases de datos de los alérgenos estudiados. Se describe la fuente, el nombre del alérgeno, el peso molecular, la longitud de los aminoácidos y el código de Allergome y Uniprot. *Fragaria vesca* no reportó secuencia en la base de datos de Uniprot y se utilizó la reportada en NCBI.

FUENTE	NOMBRE	ALLERGENOS	PESO MOLECULAR (kDa)	LONGITUD (AA)	C O D Í G O ALLERGOME	CODÍGO UNIPROT
FRUTAS	<i>Ananas comosus</i>	Ana c 1	15 kDa	131	33	Q94JN2
	<i>Capsicum annuum</i>	Cap a 2	14 kDa	129	689	Q93YI9
	<i>Citrus sinensis</i>	Cit s 2	14 kDa	130	1173	P84177
	<i>Citrus clementina</i>	Citcl 2	14.5 kDa	130	9889	V4TVJ4
	<i>Cocos nucifera</i>	Coc n 5	15 kDa	131	3560	A1Z292
	<i>Cucumis melo</i>	Cuc m 2	14 kDa	130	981	Q84MM5
	<i>Fragaria vesca</i>	Fra v 4	14 kDa	131	9892	XP_004302848.1 CODÍGO NCBI
	<i>Malus domestica</i>	Mal d 4	14 kDa	131	796	Q9XF40
	<i>Mangifera indica</i>	Man i 3	14 kDa	131	2856	Q2XPH2
	<i>Musa acuminata</i>	Mus a 1	15 kDa	131	7632	Q94JN3
	<i>Prunus pérsica</i>	Pru p 4	14 kDa	130	736	Q8GT39
	<i>Prunus avium</i>	Pruav 4	15 kDa	130	600	Q9XF39
	<i>Pyrus communis</i>	Pyr c 4	14 kDa	131	608	Q9XF38
<i>Solanum lycopersicum</i>	Sola l 1	14 kDa	133	703	Q41344	
<i>Vitis vinifera</i>	Vit v 4	14 kDa	130	2768	A5BLM8	
SEMILLAS	<i>Arachis hypogaea</i>	Ara h 5	15 kDa	130	54	Q9SQI9
	<i>Corylus avellana</i>	Cor a 2	15 kDa	133	244	A4KA39
	<i>Juglans regia</i>	Jug r 7	13 kDa	130	1607	A0A2I4DNN6
	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Pha v 5	14.4 kDa	130	10228	P49231
POLEN	<i>Artemisia vulgaris</i>	Art v 4	14 kDa	133	60	Q8H2C8
	<i>Betula verrucosa</i>	Bet v 2	15 kDa	133	127	P25816
	<i>Brassica napus</i>	Bra n 8	14.5 kDa	134	1073	Q9FUB8
	<i>Brassica rapa</i>	Bra r 8	14 kDa	134	10093	M4FD48
	<i>Cynodon dactylon</i>	Cyn d 12	14.5 kDa	130	279	O04725
	<i>Helianthus annuus</i>	Hel a 2	14.7 kDa	132	377	O81982
	<i>Zea mays</i>	Zea m 12	14 kDa	131	682	P35081
HOJAS	<i>Petroselinum crispum</i>	Pet c 2	14 kDa	131	1605	Q5EEP7
	<i>Brassica oleracea</i>	Bra o 8	14 kDa	134	10092	A0A0D3A3H9
RAÍZ	<i>Apium graveolens</i>	Api g 4	14 kDa	134	43	Q9XF37
	<i>Daucus carota</i>	Dau c 4	14 kDa	134	692	Q8SAE6
TUBÉRCULO	<i>Solanum tuberosum</i>	Sola t 8	14 kDa	130	1473	M1BLC8
HUMANO	<i>Homo sapiens (Human)</i>		15 kDa	377		P07737

nes antigénicas ya reportadas en *Immune Epitope Database and Analysis Resource* (IEDB) con el fin de encontrar similitud en los parches y en las que no fueron reportadas se realizaron de forma manual¹⁹.

2. ANÁLISIS FILOGENÉTICO

El programa *Molecular Evolutionary Genetic Analysis* (MEGA) versión X se utilizó para obtener árboles filogenéticos, utilizando el método del árbol de unión de vecinos con el apoyo de *Bootstrap* con 1000 repeticiones como medida de fiabilidad y robustez bajo el supuesto de una evolución mínima²⁰. En la topología, este modelo utiliza una matriz comparativa para encontrar la similitud entre los aminoácidos de treinta y dos secuencias para establecer la proximidad evolutiva entre las diferentes especies. La matriz se construyó con las treinta y dos secuencias de aminoácidos de las profilinas recuperadas de la base de datos Allergome e informadas a (OMS) / (IUIS). Por lo tanto, cuanto más valores de identidad

positivos se encuentren entre las secuencias, mayor será su relación y se ubicarán en posiciones más cercanas en el árbol. Todos los espacios vacíos fueron eliminados. A partir de la comparación global y las homologías, se presenta la suma de la longitud de las ramas (SBL), que fue de 3,7766, y se determina el número de nodos y la posición de estos, incluidos los “grupos” de las secuencias evolutivamente más cercanas. Las distancias evolutivas se calcularon utilizando el método de distancia p. Se realizaron subanálisis filogenéticos para identificar el grado de identidad de los grupos formados. La alineación para el análisis filogenético se realizó a través del programa CLUSTAL W.

3. MODELOS 3D

Las estructuras 3D de las profilinas no reportadas en el banco de datos de proteínas (*Protein Data Bank*) se obtuvieron por modelado basado en homología usando el servidor SWISS-MODEL²¹. La calidad de los mo-

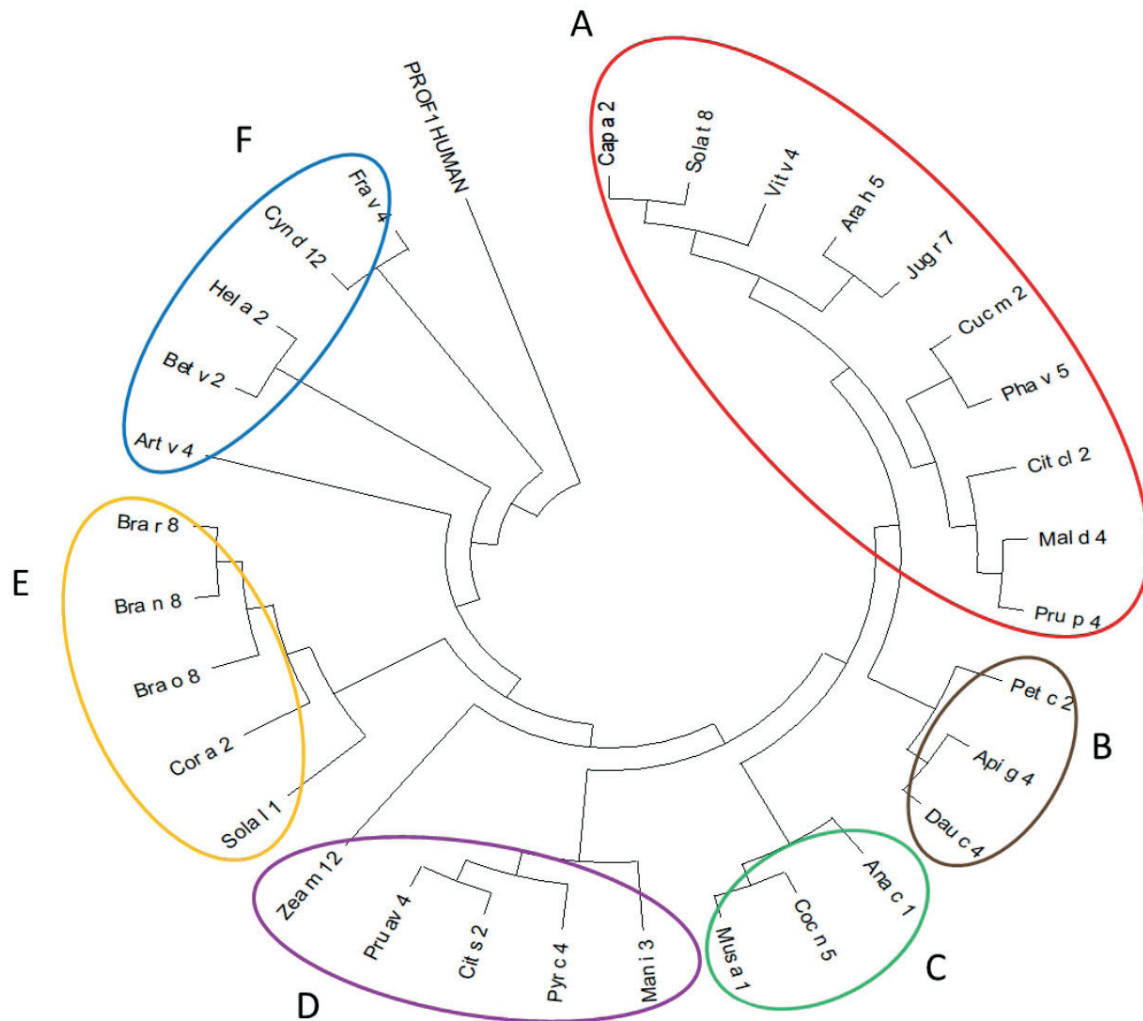


Figura 1. Árbol filogenético basado en las secuencias de aminoácidos de las profilinas estudiadas. Se observa la formación de seis clados (A-F) con el mayor grado de identidad (89%) para el clado B. La historia evolutiva se infirió usando el método de unión de vecinos. Se muestra el árbol óptimo con la suma de la longitud de la rama = 3,16946727.

delos fue analizada por ProSA-web. Su calidad fue evaluada por varias herramientas, incluidas las cartas de Ramachandran, WHATIF, el índice QMEAN4 y los valores de energía (campo de fuerza GROMOS96). Las secuencias se alinearon para identificar residuos conservados. Realizamos solapamientos de las estructuras por grupos para observar la homología estructural por medio del programa Chimera, el Algoritmo de alineamiento usado fue de Needleman-Wunsch, la Matriz de Blosum-62 y se incluyeron estructuras secundarias con un score del 30%.

La metodología *sin-silico* se ha utilizado en otros trabajos para informar la posible reactividad cruzada basada en proteínas en estudios de homología estructural o funcional, a través de herramientas bioinformáticas.

RESULTADOS

PROFILINAS ENCONTRADAS Y RESULTADOS FILOGENÉTICOS

Se incluyeron un total de 32 secuencias de aminoácidos de profilinas alergénicas de origen vegetal y una profilina humana no alergénica, la cual se usó de referencia para observar si pudiera existir identidad. Las secuencias se derivaron de varias fuentes vegetales: legumbres, tubérculos, granos y frutas (**Tabla 1**).

El árbol filogenético mostró una suma de la longitud de la rama = 3,77 y hubo un total de 150 puestos en el conjunto de datos final. Cuando se analizó la relación de profilinas, descubrimos que formaban seis nodos con la relación filogenética más alta entre ellos. Según los análisis, el grupo A arrojó 10 profilinas, incluyendo Cap a 2, Sola t 8,

Vit v 4, Ara h 5, Jug r 7, Cuc m 2, Pha v 5, Citcl 2, Mal d 4, Pru p 4; es el grupo con el mayor número de profilinas y presentó la mayor relación entre los grupos con la distancia más cercana entre las ramas. Mientras tanto, el grupo B contiene solo 3 profilinas relacionadas filogenéticamente, incluyendo Pet c 2, Api g 4, Dau c 4; y el grupo C, al igual que el grupo B, solo contiene 3 profilinas relacionadas: Ana c 1, Coc n 5, Mus a 1, siendo estos dos los grupos con la menor cantidad de profilinas, pero con una importancia reflejada en la cantidad de parches antigénicos encontrados. En el grupo D encontramos profilinas de frutas principalmente, que incluyen: Prua v 4, Cit s 2, Pyr c 4, Man i 3. El grupo E tiene 6 profilinas, sus proteínas son de frutas, granos y plantas, en donde encontramos a 3 proteínas que son de la misma familia, pero de diferentes especies: Bra r 8, Bra r 8, Bra o 8, Cor a 2, Sola l 1, Zea m 12. Y, por último, el grupo F, que está conformado por 5 proteínas que son: Fra v 4, Cyn d 12, Hel a 2, Bet v 2, Art v 4. Observamos que la profilina humana fue la proteína más con más distancia entre las ramas, por lo tanto tuvo una menor relación como se muestra en la **Figura 1**.

Se analizaron las distancias evolutivas de las profilinas (**Tabla 2**). Observamos que las puntuaciones estarán representadas por cuartiles, el color azul representa las distancias evolutivas más cortas, las de color oro muestran una puntuación intermedia y las de color anaranjado representan las distancias evolutivas más largas. Encontramos que la mayoría de las profilinas poseían una distancia evolutiva corta, lo que sugiere que estas proteínas se parecen entre sí; por ejemplo, las proteínas con menor distancia y mayor parentesco son: Citc l 2 y Ara h 5, Dau c 4 y Api g 4, Jug r 7 y Ara h 5, Prua v 4 con Cit s 2, Sola t 8 con Arar h 5, Sola t 8 con Cap a 2, Vit v 4 con Cap a 2 y por último Bra n 8, Bra o 8, Bra r 8, teniendo en cuenta que estas últimas son del mismo género. Las profilinas con mayor distancia evolutiva fueron la profilina humana, Hel a 2, Fra v 4, Cyn d 12 y Bet v 2, teniendo en cuenta que entre ellas la profilina humana fue la que mostró un menor parentesco con todas las proteínas, dado que su distancia fue la más larga.

IDENTIFICACIÓN DE POSIBLES SITIOS ANTIGÉNICOS CON REACCIÓN CRUZADA

Se realizaron alineamientos múltiples de las profilinas pertenecientes a los diferentes grupos obtenidos a partir de los análisis filogenéticos. Para comparar los resultados de Ellipro, se eligieron los principales parches antigénicos con una puntuación superior a 0,7 y más de 3 residuos, tomando como referencia epítopes de una profilina de cada grupo: grupo A, Cuc m 2; grupo B, Api g 4; grupo C, Mus a 1; Grupo D, Man i 3; Grupo E, Cor a 2; y Grupo F, Bet v 2 (**Tabla 3**). Los parches antigénicos constitucionales se muestran en las **Figuras 2 y 3**. Están organizados

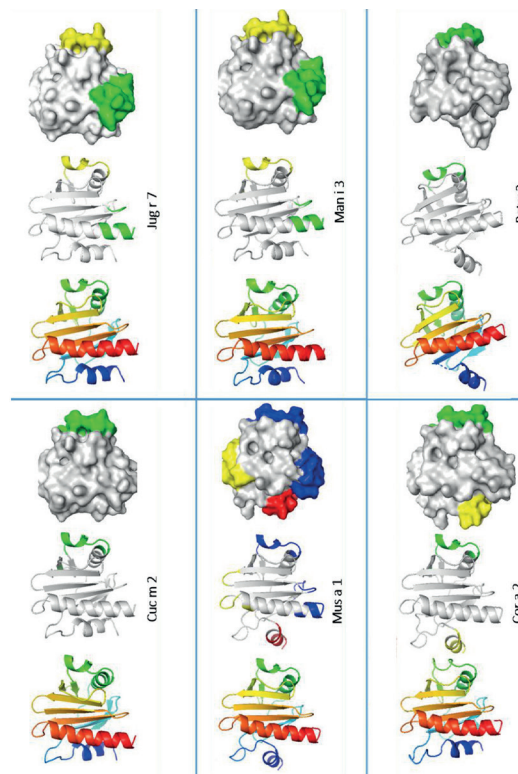


Figura 2. Parches antigénicos constitucionales. El score de los epítopes estará representado por cuartiles, el color rojo muestra la mayor puntuación (0.80-0.775), el color amarillo y verde muestran puntuaciones intermedias de (0.775-0.750) y (0.750-0.725), por último, el color azul representará la puntuación más baja (0.725-0.70).

según el *score* de los epítopes, los cuales son representados por cuartiles: el color rojo muestra la mayor puntuación (0,775-0,8), los colores amarillo y verde muestran puntuaciones intermedias de (0,750-0,775) y (0,750-0,725), y por último, el color azul representa la puntuación más baja (0,725-0,70).

Las profilinas del grupo A tenían una alta identidad, del 87%, entre sus secuencias de aminoácidos (**Figura 4**). Se identificaron y conservaron un total de 5146 residuos entre las profilinas analizadas, que forman dos parches antigénicos lineales comunes y solo un parche antigénico constitutivo Cuc m 2 con un puntaje superior a 0,7.

El grupo B comparte una identidad del 86% entre sus secuencias de aminoácidos, es el segundo más alto después del clado A. Se encontraron 341 residuos idénticos entre las secuencias. Se encontraron e incluyeron dos parches antigénicos lineales y un parche antigénico constitutivos en Api g 4 con una puntuación superior a 0,7 (**Figura 4**).

El grupo C mostró una identidad del 82% entre sus secuencias de aminoácidos y se encontraron 324 residuos. Al ser este grupo y el grupo B los que poseen el menor número de proteínas por grupo, realizamos un alineamiento entre sus secuencias, que reportó un gra-

TABLA 3. Epitopos lineales y discontinuos de profilinas

Grupos de profilinas		Empieza	Termina	Parches antigénicos	Número de residuos	Score
TABLA 3 a						
A (Cuc m 2 as reference)	Lineales	55	64	ADPGTLAPTG	10	0.751
		107	111	DEPMT	5	0.718
	Discontinuo	52	71	A:G52, A:A55, A:D56, A:P57, A:G58, A:T59, A:L60, A:A61, A:P62, A:T63, A:G64, A:K71	12	0.734
TABLA 3b						
B (Api g 4)	Lineales	127	134	DYLIDQLG	8	0.769
		13	23	CEVEGNPGQTL	11	0.701
	Discontinuo	2	11	A:S2, A:W3, A:Q4, A:A5, A:Y6, A:D9, A:H10, A:L11	8	0.771
TABLA 3c						
C (Mus a 1)	Lineales	124	131	DYLFQDQGF	8	0.792
		108	111	EPMT	4	0.777
		55	64	DEPGSLAPTG	10	0.732
	Discontinuos	2	11	A:S2, A:W3, A:Q4, A:A5, A:Y6, A:D9, A:H10, A:L11	8	0.787
		87	114	A:K87, A:G88, A:S89, A:E108, A:P109, A:M110, A:T111, A:Q114	8	0.754
		52	71	A:K52, A:D55, A:E56, A:P57, A:G58, A:S59, A:L60, A:A61, A:P62, A:T63, A:G64, A:K71	12	0.722
		28	131	A:H28, A:D29, A:G30, A:S31, A:T97, A:N98, A:L99, A:Y125, A:F127, A:D128, A:Q129, A:G130, A:F131	12	0.701
TABLA 3d						
D (Man i 3)	Lineales	55	64	DEPGSLAPTG	10	0.762
		107	111	DEPMT	5	0.723
	Discontinuos	55	71	A:D55, A:E56, A:P57, A:G58, A:S59, A:L60, A:A61, A:P62, A:T63, A:G64, A:K71,	11	0.752
		97	130	A:T97, A:N98, A:M99, A:D124, A:Y125, A:V127, A:E128, A:Q129, A:G130	9	0.74
TABLA 3e						
E (Cor a 2)	Lineales	126	133	DYLLEQGP	8	0.755
		57	66	DEPGHLAPTG	10	0.748
	Discontinuos	2	11	A:S2, A:W3, A:Q4, A:A5, A:Y6, A:E9, A:H10, A:L11	8	0.769
		54	73	A:K54, A:D57, A:E58, A:P59, A:G60, A:H61, A:L62, A:A63, A:P64, A:T65, A:G66, A:K73	12	0.739
TABLA 3f						
F (Bet v 2)	Lineales	126	133	DYLIDQGL	8	0.786
		57	66	EEPGLAPTG	10	0.745
		109	116	EEPVTPGQ	8	0.722
	Discontinuo	54	66	A:K54, A:E57, A:E58, A:P59, A:G60, A:H61, A:L62, A:A63, A:P64, A:T65, A:G66	11	0.74

do de conservación del 81% en estos dos grupos. Fue el grupo que tuvo más parches antigénicos: tres parches antigénicos lineales y cuatro parches antigénicos constitutivos de Mus a 1 con un puntaje superior a 0,7 (Figura 4).

Para el grupo D, 672 residuos presentaron una identidad entre las cuatro secuencias de alérgenos. Este grupo demostró una alta conservación del 86%, el tercero más alto después del clado B. Para la identificación de parches de antígenos en este grupo, utilizamos Man

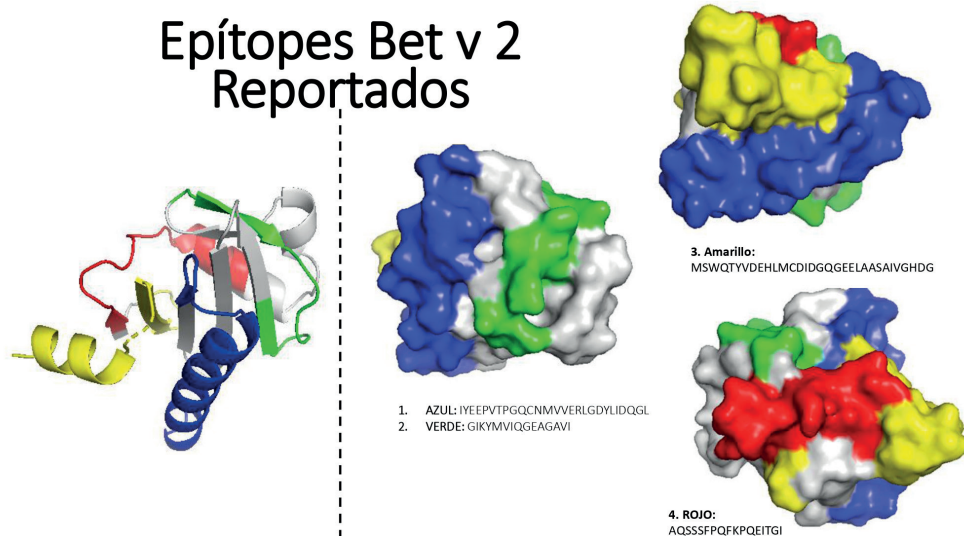


Figura 3. Epítopes de Bet v 2 reportados; se hallaron 20 estudios con descripción de epítopes, pero observamos que la secuencia de aminoácidos se repetía en muchos por lo que al final encontramos solo 4 epítopes.

i 3 para encontrar dos epítopes lineales y dos epítopes constitutivos con una puntuación válida (**Figura 4**).

El grupo E reportó una identidad del 83% entre sus secuencias, constituido por 1639 residuos que presentaban la identidad de seis proteínas (**Figura 4**). La profilina de referencia tomada para hallar los parches fue Cor a 2, mostrando dos epítopes lineales y dos epítopes constitutivos con puntuación superior a 0,7%.

Por último, en el grupo F se analizaron 5 secuencias de alérgenos que constituyeron 992 residuos. Observamos que este es el grupo con la menor identidad, con un 75%, y encontramos tres parches antigénicos lineales y solo un parche antigénico constitutivo con puntuaciones válidas, según Ellipro (**Figura 4**). Aun así, la base de datos de *Immune Epitope Database and Analysis Resource* (IEDB) muestra que esta profilina tenía descritos varios epítopes, se encontraron 20 estudios con descripción de los epítopes; sin embargo, en los diferentes estudios repetían los epítopes y al final descubrimos que solo se habían reportado 4 epítopes (**Figura 3**).

En el árbol filogenético se observa que la profilina humana es la más distante. A pesar de ello, realizamos un alineamiento de la secuencia de aminoácidos de esta proteína con las secuencias de las profilinas pertenecientes al grupo F: se analizaron 1198 residuos mostrando una identidad del 62%, y es de considerar que, aunque es menor que las reportadas por los otros grupos, es superior al 50% del grado de conservación.

Al superponer las estructuras se observó un alto grado de coincidencia a nivel de las cintas o *ribbons*, lo cual nos indica que son muy similares a nivel apoproteico y que tienen un alto grado de cercanía evolutiva (**Figura 5**). En cada grupo se observaron porcentajes de identidad hasta del 96% y no menos del 50% incluyendo las profilinas humanas PROFH1, lo que indica un alto grado de regiones de aminoácidos homólogas conservadas.

Esto sugiere existe una alta probabilidad de que estas proteínas, a pesar de ser originarias de diferentes especies de frutas, verduras y semillas, sean fuentes importantes de sensibilización, y que se desencadenen respuestas de hipersensibilidad debido al mecanismo de reactividad cruzada.

DISCUSIÓN

Las profilinas son alérgenos de alimentos que se encuentran principalmente en frutas y vegetales, y proporcionan un beneficio diagnóstico para la diferenciación de la sensibilización genuina de reactividad cruzada en alimentos. Sin embargo, la reactividad cruzada de este grupo de alérgenos ha sido poco explorada. En este estudio, se logró predecir regiones antigénicas que explican la reactividad cruzada de las profilinas de alimentos de origen vegetal.

Se alinearon 32 secuencias de aminoácidos de los alérgenos y se llevó a cabo un análisis filogenético que produjo la formación de seis clados monofilogenéticos (A, B, C, D, E, F). El grupo A (Cap a 2, Sola t 8, Vit v 4, Ara h 5, Jug

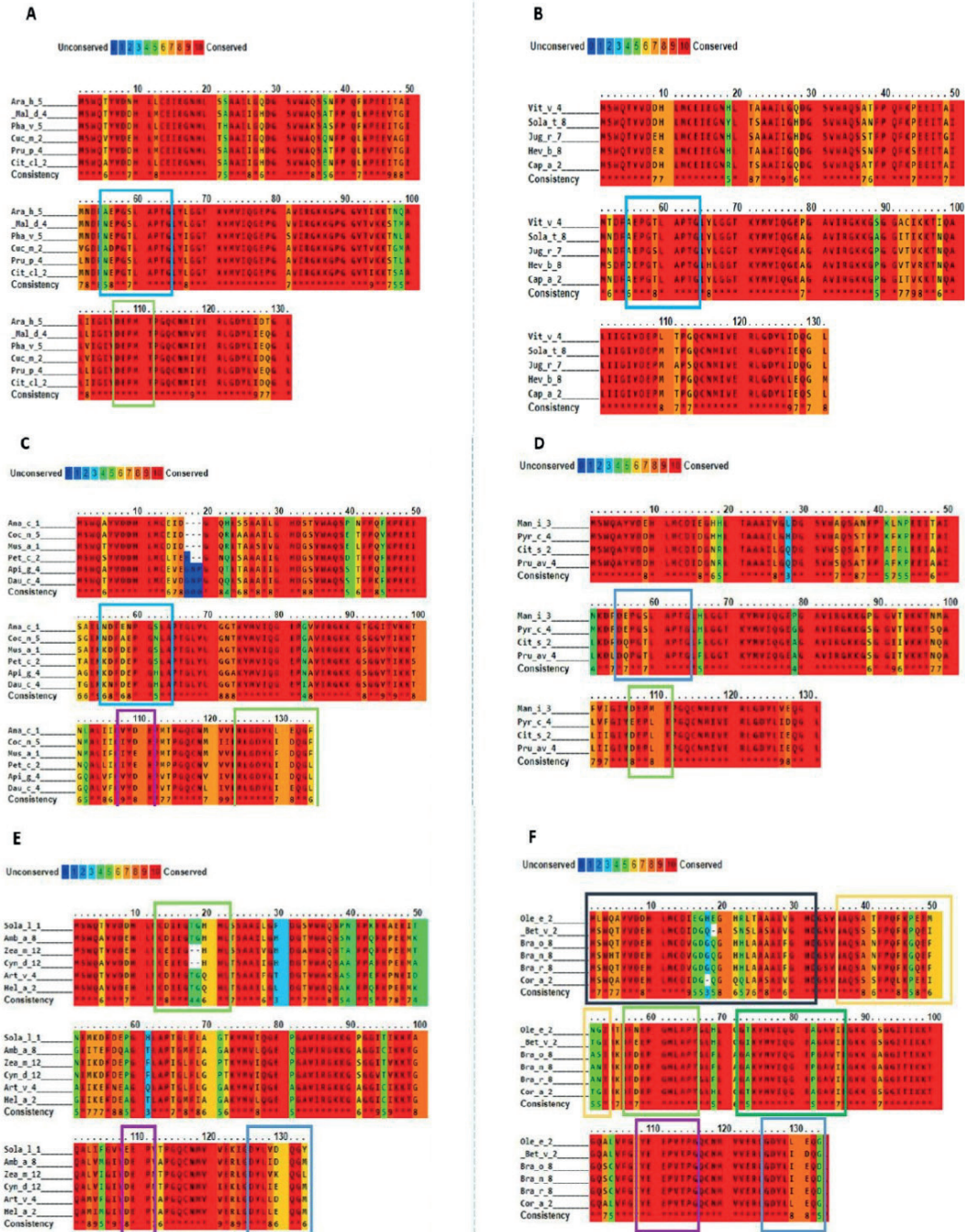


Figura 4. Análisis de profilinas de los grupos A, B, C, D, E, F. Las secuencias no conservadas se muestran con color azul y las secuencias altamente conservadas con color rojo. La secuencia de conservación media se muestra con color verde y naranja. Grupo A: se estudiaron 6 secuencias con un total de 786 residuos; la puntuación de alineación fue 34660 con un total de 1711 residuos de identidad; el porcentaje de identidad de secuencia fue del 87%. Grupo B: se estudiaron 5 secuencias con un total de 655 residuos; la puntuación de alineación fue 23024 con un total de 1167 residuos de identidad; el porcentaje de identidad de secuencia fue del 89%. Grupo C: se estudiaron 6 secuencias con un total de 793 residuos; la puntuación de alineación fue 33580 con un total de 1593 residuos de identidad; el porcentaje de identidad de secuencia fue del 81%. Grupo D: se estudiaron 4 secuencias con un total de 524 residuos; la puntuación de alineación fue 13526 con un total de 672 residuos de identidad; el porcentaje de identidad de secuencia fue del 86%. Grupo E: se estudiaron 6 secuencias con un total de 794 residuos; la puntuación de alineación fue 33190 con un total de 1557 de residuos de identidad; el porcentaje de identidad de secuencia fue del 79%. Grupo F: se estudiaron 6 secuencias con un total de 802 residuos; la puntuación de alineación fue de 34316 con un total de 1695 residuos de identidad; el porcentaje de identidad de secuencia fue del 85%.

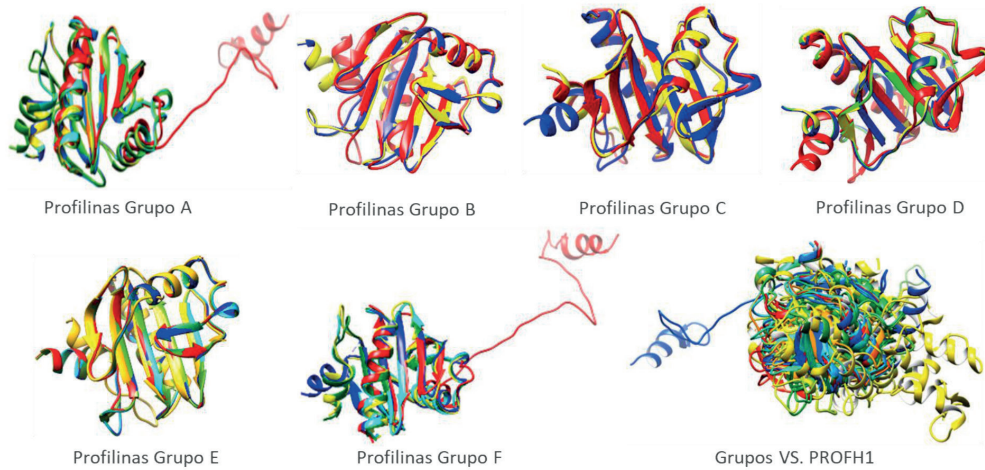


Figura 5. Solapamientos de las estructuras por grupo con el fin de hallar homología estructural, observamos porcentajes de identidad hasta del 96% y no menos del 50% incluyendo las profilina humana PROFH1.

r 7, Cuc m 2, Pha v 5, Citcl 2, Mal d 4, Pru p 4,) obtuvo el mayor grado de identidad entre sus secuencias de aminoácidos (87%). En el grupo B (Pet c 2, Api g 4, Dau c 4) encontramos un grado de identidad del 86%. El grupo C (Ana c1, Coc n 5, Mus a 1) muestra un grado de identidad del 82%; este grupo es destacado por tener la mayor cantidad de parches antigénicos predichos, para un total de 7 parches antigénicos. Además, se realizó un análisis de estos dos grupos B y C al considerar que solo se agruparon 3 profilinas por cada grupo, obteniendo una identidad del 81% y mostrándonos que, aunque en el árbol filogenético se encuentre en grupos diferentes, siguen manteniendo un alto grado de conservación. En el grupo D (Prua v 4, Cit s 2, Pyr c 4, Man i 3) encontramos una identidad del 86%. El grupo E (Bra r 8, Bra r 8, Bra o 8, Cor a 2, Sola l 1, Zea m 12) mostró un grado de identidad del 83% y, por último, el grupo F (Fra v 4, Cyn d 12, Hel a 2, Bet v 2, Art v 4) reportó una identidad del 75%, y es el grupo con menor identidad, pero sigue siendo superior al 50%. La profilina humana es una proteína con alta capacidad alergénica y varios epítopes reportados, decidimos realizar un alineamiento con el grupo F, el más cercano, mostrando un grado de identidad del 62%.

Las profilinas se conocen hoy en día como pan-alérgenos, proteínas responsables de la reactividad cruzada de IgE a una amplia variedad de fuentes alergénicas relacionadas y no relacionadas. La familia de estas proteínas compar-

te secuencias de aminoácidos altamente conservadas que, en algunos casos, tienen más del 75% de identidad, incluso entre fuentes lejanas. Las profilinas vegetales se pueden dividir en pólenes, alimentos y productos. Los pólenes incluyen árboles, pastos y malezas; los alimentos incluyen frutas, legumbres, nueces / semillas y vegetales, y la subclasificación de productos incluye látex^{22,23}.

Los síndromes alérgicos a los alimentos caracterizan la capacidad alergénica de muchas proteínas, y se han reportado aproximadamente ocho síndromes hasta el momento²⁴. Las profilinas son causantes de varios de estos síndromes y hasta el momento se han demostrado las asociaciones entre alimentos y prevalencias descritas en distintos países. Por ejemplo, las asociaciones polen-alimento son alergias alimentarias que afectan a personas sensibilizadas al polen, y se han convertido en los tipos de alergia alimentaria más prevalentes en adolescentes y adultos europeos, afectando a aproximadamente el 5% de la población de Europa central y en el Reino Unido. La prevalencia general del síndrome del polen-alimento es de aproximadamente el 2%, y en la práctica urbana del sudeste de Inglaterra es ligeramente superior al 4%³. Los síntomas de los síndromes de alergia polen-alimentos pueden cursar desde el síndrome de alergia oral hasta la anafilaxia severa, y los alimentos involucrados son de origen vegetal, en su mayoría frutas y verduras, consumidas crudas²⁵. Uno de los ejemplos más claros es el síndrome de abedul-fruta-verdura: aproxima-

damente el 70% de los pacientes alérgicos al polen de abedul desarrollan síntomas de alergia a los alimentos vegetales, frutas (principalmente manzana), nueces (especialmente avellana) y verduras de la familia Apiaceae (principalmente apio y zanahoria), que con mayor frecuencia implican del desarrollo de rosáceas²⁶.

Del grupo A tenemos a Cuc m 2 una profilina ampliamente estudiada, esta proteína tiene, respectivamente, 77,9%, 82,4% y 74,8% de identidad de secuencia con la profilina de melón, tomate y sandía. Los sueros de 11 de 17 (64%) pacientes mostraron un aumento de la reactividad de IgE a Cuc m 2 proteína recombinante. Por lo tanto, la profilina de melón, rCuc m 2, se identificó como un alérgeno principal. Las personas alérgicas al melón también mostraron características clínicas de reacción alérgica a frutas de varias familias botánicas como la uva (58%) y el tomate (35%). En el experimento también indicaron que la IgE humana solo reacciona con la profilina de melón completa, pero en nuestro estudio se observó que la profilina humana se aisló y mostró identidades inferiores al 70^{26,27}. Además, los presentes hallazgos evidenciaron que esta profilina fue segregada en el grupo con mayor número de proteínas mostrando identidades altas, pero en la literatura no se encontró asociación entre estas proteínas.

Aunque no se encontraron identidades en las proteínas en los mismos grupos, un estudio indicó que al realizar una alineación entre la proteína Citc l 2 y el alérgeno Cit s 2 de naranja dulce mostró 82% de identidad de aminoácidos²⁸. Otros estudios sugieren que la profilina de polen de Bermuda *Cynodon dactylon* (Cyn d 12) tiene una reactividad cruzada sustancial con profilinas de tomate *Solanum lycopersicum* (Sola l 1) y melón *Cucumis melo* (Cuc m 2) y en nuestro estudio cada una de estas profilinas se encuentra en grupos diferentes sin ninguna relación, lo que sugiere que casi todas las proteínas puedan guardar cierto parentesco²⁶.

Investigadores han logrado demostrar las reactividades cruzadas entre las profilinas Ole e 2, Pru p 4, Pyr c 4, Cuc m 2, Act d 9 y LTP Ole e 7, Pru p 3, Pyr c 3, Cuc m LTP, Act d 10, proponiendo que están involucradas en el síndrome del polen del olivo-fruto. En el grupo B no se obtuvo información sobre Pet c 2; sin embargo, encontramos que la reactividad cruzada entre profilinas de polen de artemisa (Art v 4) y Apiáceas, alimentos como el apio (Api g 4), la zanahoria (Dau c 4), y algunas especias, está implicada en la patogenia de este síndrome apio-artemisa-especia, demostrando que Api g 4 y Dau c 4 tienen una reactividad cruzada descrita con producción de sintomatología alérgica²⁶.

En el grupo C se tienen alérgenos poco relevantes, sin embargo se encuentra Coc n 5 que ha tomado importancia

debido a la descripción de síntomas orales reportados tras sus ingestión en pacientes alérgicos a los frutos secos²⁹. Los cocos no son frutos secos, pero guardan una relación lejana al ser plantas monocotiledóneas de la familia de las palmeras Arecaceae, debido a que los árboles que producen frutos secos son dicotiledóneas y solo están relacionados lejanamente con las especies de palmeras. En un estudio que trataba de identificar la asociación de sensibilización a nueces de árbol y coco, encontraron una tasa de co-sensibilización entre la avellana y el coco del 55%, demostrando una posible reactividad cruzada entre estos alérgenos³⁰. Sin embargo, en nuestro estudio se observa que no hay una asociación directa entre estas proteínas y no hay estudios que comenten reactividad cruzada.

En el grupo D tenemos a Man i 3, la profilina del mango reportando posible co-sensibilización con profilina de otras plantas, como frutas (Prua v 4 de cereza, Pyr c 4 de pera, Pru p 4 de melocotón y Mal d 4 de manzana), semillas (Ara h 5 de maní), hortalizas (Dau c 4 de zanahoria) y polen (Bet v 2 de abedul), y con identidades altas de profilinas cercanas como; pera (80%), melocotón (90%) y manzana (80%). También revelaron una alta reactividad cruzada de la profilina de mango con la profilina de polen de abedul Bet v 2 (78%)³¹ y 44% de los sueros de pacientes alérgicos a frutas de mango tuvieron unión de IgE al perfil de banano (44%) y al perfil de piña (42%)³². Algunos de estos datos coinciden con lo encontrado en nuestro estudio debido a que se halló conservación con Prua v 4, Pyr c 4. Aun así, vemos que esta profilina tiene reactividad cruzada con otras proteínas, lo que la convierte en una proteína con alta tasa de co-sensibilización.

CONCLUSIÓN

Se identificaron sitios antigénicos potenciales para la generación de reactividad cruzada entre las profilinas analizadas en este estudio. La identidad entre estas proteínas de diferentes especies es alta, lo que muestra que la reactividad cruzada entre ellas es muy probable, incrementando la frecuencia de sensibilización. Estos estudios respaldan las pruebas de diagnóstico mediante estudios de componentes para la alergia a alimentos y la multisensibilización a diversas fuentes del trópico.

Declaraciones

Financiamientos: Los autores declaran que no recibieron fondos financieros, subvenciones u otro tipo de apoyo durante la preparación de este manuscrito.

Conflicto de intereses: Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

- Crestani E, Harb H, Charbonnier L-M, Leirer J, Motsinger-Reif A, Rachid R, et al. Untargeted metabolomic profiling identifies disease-specific signatures in food allergy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2020 Mar;145(3):897-906.
- Gonzalez-Mancebo E, Gandolfo-Cano MM, Trujillo-Trujillo MJ, Mohedano-Vicente E, Calso A, Juarez R, et al. Analysis of the effectiveness of training school personnel in the management of food allergy and anaphylaxis. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2019 Jan;47(1):60-3.
- Sicherer SH, Muñoz-Furlong A, Sampson HA. Prevalence of sea-food allergy in the United States determined by a random telephone survey. *Allergy Clin Immunol* 2004 Jul;114(1):159-65.
- Prescott SL, Pawankar R, Allen KJ, Campbell DE, Sinn JKH, Fiocchi A, et al. A global survey of changing patterns of food allergy burden in children. *World Allergy Organ J* 2013 Dec 4;6(1):21.
- Mahdavinia M. Food Allergy in Adults. *Med Clin North Am* 2020 Jan;104(1):145-55.
- Van der Poel LA, Chen J, Penagos MH. Food allergy epidemic – is it only a western phenomenon? *Current Allergy and Clinical Immunology* 2009;22(3):121-6.
- Marrugo J, Hernández L, Villalba V. Prevalence of self-reported food allergy in Cartagena (Colombia) population. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2008;36(6):320-4.
- Krishnan K, Moens PDJ. Structure and functions of profilins. *Biophys Rev* 2009;1(2):71-81.
- Carlsson L, Nyström L-E, Sundkvist I, Markey F, Lindberg U. Actin polymerizability is influenced by profilin, a low molecular weight protein in non-muscle cells. *J Mol Biol* 1977 Sep;115(3):465-83.
- Slavin JL, Lloyd B. Health Benefits of Fruits and Vegetables. *Adv Nutr* 2012 Jul;3(4):506-16.
- Valenta R, Duchene M, Pettenburger K, Sillaber C, Valent P, Betzelheim P, et al. Identification of profilin as a novel pollen allergen; IgE autoreactivity in sensitized individuals. *Science* 1991 Aug;253(5019):557-60.
- Blankestijn MA, Knulst AC, Knol EF, Le T-M, Rockmann H, Otten HG, et al. Sensitization to PR-10 proteins is indicative of distinctive sensitization patterns in adults with a suspected food allergy. *Clin Transl Allergy* 2017 Dec;7(1):42.
- Villalta D, Asero R. Sensitization to the Pollen Pan-Allergen Profilin. Is the Detection of Immunoglobulin E to Multiple Homologous Proteins From Different Sources Clinically Useful? *J Invest Allergol Clin Immunol* 2010;20(7):591-5.
- Enrique E, Cisteró-Bahima A. Specific immunotherapy for food allergy: basic principles and clinical aspects. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006 Dec;6(6):466-9.
- Cudowska B, Kapingidza AB, Pawłowicz M, Pampuch A, Hydeuk N, Pote S, et al. Production and Use of Recombinant Profilins Amb a 8, Art v 4, Bet v 2, and Pfl p 12 for Allergenic Sensitization Studies. *Molecules* 2020 Jan;25(2):369.
- Bairoch A, Apweiler R, Wu CH, Barker WC, Boeckmann B, Ferro S, et al. The Universal Protein Resource (UniProt). *Nucleic Acids Res* 2005;33:154-9.
- Mari A, Rasi C, Palazzo P. Allergen Databases : 2009;(October).
- Simossis VA, Heringa J. PRALINE: a multiple sequence alignment toolbox that integrates homology-extended and secondary structure information. *Nucl Acids Res* 2005;33:289-94.
- Vita R, Overton JA, Greenbaum JA, Ponomarenko J, Clark JD, Cantrell JR, et al. The immune epitope database (IEDB) 3.0. *Nucleic Acids Res* 2015;43(D1):D405-12.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X : Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol Biol Evol* 2018;35(6):1547-9.
- Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, Studer G, Tauriello G, Gumienny R, et al. SWISS-MODEL: Homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Res* 2018;46(W1):W296-303.
- del Río PR, Díaz-Perales A, Sánchez-García S, Escudero C, Ibáñez MD, Méndez-Brea P, et al. Profilin, a change in the paradigm. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2018;28(1):1-12.
- Landa-Pineda CM, Guidos-Fogelbach G, Marchat-Marchau L, López-Hidalgo M, Arroyo-Becerra A, Reyes-López CAS. Profilinas: Alérgenos con relevancia clínica. *Rev Alerg Mex* 2013;60(3):129-43.
- Calamelli E, Liotti L, Beghetti I, Piccinno V, Serra L, Bottau P. Component-Resolved Diagnosis in Food Allergies. *Medicina (Kaunas)*. 2019 Aug; 55(8):498.2019;1-20.
- 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 Eur J Allergy Clin Immunol* 2006;61(4):461-76.
- Popescu F-D. Cross-reactivity between aeroallergens and food allergens. *World J Methodol* 2015;5(2):31.
- Sankian M, Varasteh A, Pazouki N, Mahmoudi M. Sequence homology: A poor predictive value for profilins cross-reactivity. *Clin Mol Allergy* 2005;3:1-9.
- Serra IA, Bernardo L, Spadafora A, Faccioli P, Canton C, Mazzuca S. The Citrus clementina putative allergens: From proteomic analysis to structural features. *J Agric Food Chem* 2013;61(37):8949-58.
- Nguyen SA, More DR, Whisman BA, Hagan LL. Cross-reactivity between coconut and hazelnut proteins in a patient with coconut anaphylaxis. *Ann Allergy, Asthma Immunol [Internet]*. 2004;92(2):281-4. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)61562-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1081-1206(10)61562-1)
- Polk BI, Dinakarpanid D, Nanda M, Barnes C, Dinakar C. Association of tree nut and coconut sensitizations. *Ann Allergy, Asthma Immunol [Internet]*. 2016;117(4):412-6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anaai.2016.07.023>
- Song J, Zhang H, Liu Z, Ran P. Mango profilin: Cloning, expression and cross-reactivity with birch pollen profilin Bet v 2. *Mol Biol Rep* 2008;35(2):231-7.
- Paschke A, Kinder H, Zunker K, Wigotzki M, Steinhart H, Weißbecher R, et al. Characterization of cross-reacting allergens in mango fruit. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol* 2001;56(3):237-42.

THE IMPORTANCE OF SERUM LEUKOCYTE PROTEASE INHIBITOR LEVELS IN PATIENTS WITH AUTOIMMUNE AND INFECTIOUS UVEITIS AND RELATIONSHIP WITH DE CORTICOSTEROID TREATMENT

La importancia de los niveles del inhibidor de proteasa de leucocitos en suero en pacientes con uveítis autoinmune e infecciosa y su relación con el tratamiento con corticosteroides

Juan C. Muiño¹, Claudio P. Juárez¹, Marta D. Romero², Mercedes Ferrero², Laura Gramajo¹, José D. Luna¹

ABSTRACT

Rationale corticosteroids (CS) have anti-inflammatory effects, including regulation of secretory leukoprotease inhibitor, SLPI. High concentrations of CS increase secretion of the SLPI levels. The purpose of this work was to examine SLPI level in patients with uveitis treated with CS and the relationship with the clinical responses.

Methods: SLPI levels were determined by ELISA, in sera from patients, pre and post treatment with CS from the onset to 15 days apart: in Autoimmune Uveitis, AIU (n: 34), Bacterial Infectious Uveitis (BIU) (n: 7), TB Uveitis (n: 5), Toxoplasmic uveitis (Tox U) (n: 4), & controls, (n: 16). All of AIU and Tox U were positive to IgG and IgE to Retinal S antigen, Recoverin and IRBP, and negative in the rest of BIU, TB Uveitis and controls.

Results: The SLPI levels were in controls (n: 16) 338.9 ± 14.24 pg/ml, BIU, basal: 286.3 ± 9.551 pg/ml, post CS 279 ± 11.97 pg/ml; TBU basal: 261.9 ± 10.68 pg/ml, post CS 257.5 ± 12.71 pg/ml; Tox U basal: 306 ± 12.43 pg/ml post CS 350 ± 14.84 pg/ml. AIU, no responder onset: 350.8 ± 29.5 pg/ml, post CS 337.8 ± 29.5 pg/ml, partial responder basal 393.8 ± 27.25 pg/ml, post CS 399.3 ± 30.7 pg/ml, and the group with improvement the basal was 450.5 ± 17.8 pg/ml, post CS 504 ± 18.62 pg/ml, $p < 0.0001$.

Conclusions: The SLPI levels were increased with the use of corticosteroids in responder patients to this treatment in most cases of Autoimmune Uveitis and Toxoplasma Uveitis and SLPI levels were decreased in TB uveitis, BIU as well as in 20% of autoimmune uveitis.

Key words: autoimmunity, Infection, ocular Inflammation, SLPI, uveitis

RESUMEN

Los corticosteroides (SC) tienen efectos antiinflamatorios, incluida la regulación del inhibidor de la leucoproteasa secretora (SLPI). Las altas concentraciones de SC aumentan la secreción de los niveles de SLPI. El propósito de este trabajo fue examinar el nivel de SLPI en pacientes con uveítis tratados con SC y la relación con las respuestas clínicas.

Métodos. Los niveles de SLPI se determinaron por ELISA, en sueros de pacientes, antes y después del tratamiento con SC desde el inicio hasta 15 días de diferencia: en uveítis autoinmune, AIU (n: 34), uveítis infecciosa bacteriana (BIU) (n: 7), uveítis de TB (n: 5), uveítis toxoplásmica (Tox U) (n: 4) y controles, (n: 16). Todas las AIU y Tox U fueron positivas a IgG e IgE al antígeno S retiniano, recoverina e IRBP, y negativas en el resto de BIU, uveítis TB y controles.

Resultados: Los niveles de SLPI fueron en controles (n: 16) $338,9 \pm 14,24$ pg/ml; BIU basal: $286,3 \pm 9,551$ pg/ml, post- CS $279 \pm 11,97$ pg/ml; TBU basal: $261,9 \pm 10,68$ pg/ml, post CS $257,5 \pm 12,71$ pg/ml; Tox U basal: $306 \pm 12,43$ pg/ml post CS $350 \pm 14,84$ pg/ml. AIU, sin inicio de respondedor: $350,8 \pm 29,5$ pg/ml, post CS $337,8 \pm 29,5$ pg/ml, respondedor parcial basal $393,8 \pm 27,25$ pg/ml, post CS $399,3 \pm 30,7$ pg/ml, y el grupo con mejoría basal fue $450,5 \pm 17,8$ pg/ml, post CS $504 \pm 18,62$ pg/ml, $p < 0,0001$.

Conclusiones: Los niveles de SLPI aumentaron con el uso de corticosteroides en pacientes que respondieron a este tratamiento en la mayoría de los casos de uveítis autoinmune y uveítis por Toxoplasma y los niveles de SLPI disminuyeron en uveítis TB, BIU así como en 20% de uveítis autoinmune.

Palabras clave: autoinmunidad, infección, Inflamación ocular; SLPI, uveítis

Archivos de Alergia e Inmunología Clínica 2023;54(1):27-35

INTRODUCTION

Human secretory leukocyte inhibitor (SLPI) is an 11.7

kDa cationic protein and a member of innate immunity-associated proteins, with significant antiprotease and anti-inflammatory activities¹. It is a nonglycosylated highly basic, acid-stable, cysteine-rich, 107 amino acid, single chain poly-peptide. The *SLPI* gene, along with the elafin gene, is a member of the trapping gene family^{1,2}. Products of this family are characterized by an N-terminal transglutaminase domain substrate and C-terminal four-disulfide core. These two domains (COOH terminal and NH₂ terminal) share about 35% of homology. Each of these domains has distinct enzyme activities. The tertiary

1. Fundación Ver

2. LIIDO, Córdoba, Argentina

Correspondencia: secretaria@aaaic.org.ar

Los autores declaran no poseer conflictos de intereses.

Recibido: 02/11/2023 | Aceptado: 10/01/2023

structure of the SLPI molecule resembles a boomerang, with each arm carrying one domain. The four in each domain disulfide bridges formed between the cysteine residues, as well as the two-domain interaction, contribute to the conformation and efficacy of the molecule¹⁻⁵.

The human *SLPI* gene is localized in chromosome 20q12-13.2. The *SLPI* gene consists of four exons and three introns and spanning approximately 2.6 kb^{1,2}. Up to date no polymorphism of the *SLPI* gene and no state of SLPI deficiency has been found. SLPI has multiple important roles both in normal homeostasis and at sites of inflammation, and appear to modulate on multiple pathological conditions^{1,3,5}. SLPI has been shown to exhibit an anti-inflammatory property, including down regulation of TNF α and inhibition of NF κ B⁶.

Historically SLPI was first isolated from secretions of patients with COPD, cystic fibrosis and experimental asthma^{3,4,6-10}. It has been found to be a potent inhibitor of human leukocyte elastase, human cathepsin G, and human trypsin. Both the anti elastase and anti trypsin activities are mediated by C-terminal domain. The N-terminal domain has no known function. SLPI is produced by neutrophils, macrophages, β -cells of pancreatic islets, epithelial cells investing the renal tubules, acinar cells of parotid and submaxillary glands, and epithelial cells lining mucous membranes of respiratory and alimentary tracts. SLPI was originally isolated from parotid saliva and has been detected in a variety secretion, as whole saliva, seminal fluid, cervical mucus, synovial fluid, breast milk, tears, and cerebral spinal fluid, as in secretions from the nose and bronchi¹⁻¹³. The *SLPI* gene was found to be expressed and correlated with poor prognosis in lung, breast, oropharyngeal, bladder, endometrial, ovarian, and colon rectal carcinomas¹. SLPI is found in neurons and astrocytes in the ischemic brain tissue¹³, and SLPI has also been found to play a pivotal role in apoptosis and wound healing^{1,14-16}. Furthermore, various studies have indicated that the *SLPI* gene is constitutively expressed in epithelial cells and that this expression can be increased by pro-inflammatory stimuli, such as tumor necrosis factor (TNF) and IL-1b^{7,11}. These findings support the notion that epithelial cells respond to inflammatory stimuli by increasing their anti-protease shield, which may minimize proteolytic damage^{4,5,11}. However, it is largely unknown which molecule is essential in mounting the innate immune response, or have the kinetics of these processes been studied^{5,12}.

SLPI has also been shown to inhibit mast cell chymase, a protease released during mast cell degranulation, and inhibit histamine release from mast cell in vitro and in vivo^{1,17}. SLPI has been described in the aqueous humor of patients with cataract and other eye pathologies¹⁸. It is known that the eye contains a large number of mast cells, and the choroid has one of the highest densities of mast cells of any

tissue in the body¹⁸⁻²². SLPI may play an important role in neutralizing mast cell-released inflammatory mediators in the eye^{17,18,22}.

In uveitis it is important to differentiate between diseases of an autoimmune or presumed autoimmune origin and those clearly due to an infectious process, such as toxoplasmosis, tuberculosis or a common bacterial infection. Although most cases of intraocular inflammatory disease are not produced by active infection, a systemic immunologic abnormality may be present¹⁹⁻²¹. To the best of our knowledge, scarce information exists in relationship between SLPI and different types of uveitis. The emerging role of SLPI in uveitis, as well as the functional and physical properties, suggests that this molecule may become an important new mechanism in the regulation and control of ocular inflammation.

In the present study, we determined the occurrence of serum SLPI levels in sera from patients with autoimmune and infectious uveitis defined by clinical and immunological features, and we evaluated them as a possible marker for disease prognosis in relationship with corticosteroid use.

MATERIAL AND METHODS

PATIENTS

We studied 50 patients with uveitis, 18 males and 32 females (aged 38 \pm 18.4, ranged 7-77 years). The diagnosis of uveitis was established by the clinical and immunological criteria as previously described^{19,21}. According to the etiology of uveitis^{19,20}, the patients were classified into the following groups: a) patients with infectious uveitis (n=16; 2 males and 14 females), and b) patients with autoimmune uveitis (n=34; 16 males and 18 females). Infectious uveitis (IU) was separated by the etiology in: 1) common bacterial uveitis (CBU) (n=7), 2) tuberculosis uveitis (TBU) (n=5), 3) toxoplasmic uveitis (TxU) (n=4). The AIU patients (n=34) were treated for 3 months with methylprednisolone in decreased immunosuppressive doses from 120 mg/day to 10 mg in alternating days. In case of poor response to this treatment, patients were included in tacrolimus protocol from 5 mg/day to 1 mg/day for at least 1 year of treatment. Serum samples were collected from patients with uveitis and from age-matched healthy volunteer individuals (control group) (n=16), and stored in aliquots at -40°C, until required.

The patients with uveitis of different etiologies were controlled on their clinical evolution and divided in subgroups of severe relapsing uveitis patients with poor visual acuity and evolution, and patients with benign evolution and only slight impairment of vision.

The studies were approved by the Institutional Review

Board and The Ethical Committee of “Fundación Ver” and comply with the tenets of the Declaration of Helsinki.

REACTIVES

Preparation of retinal S antigen

Retinal S antigen was prepared from fresh bovine eyes according to the method of Dorey et al.²³ This method involved extraction with hypotonic buffer followed by 50% ammonium sulfate precipitation, gel filtration and affinity chromatography.

Human SLPI Immunoassay Quantikine was purchased in R&D System (USA).

Enzyme – Linked Immunosorbent Assay

Quantitation of Specific IgG to Retinal S Antigen: This was assessed in sera of all uveitis patients and normal controls by ELISA^{20,21,24}. Briefly, ELISA plates were coated with retinal S antigen (1 g/100 l) in carbonate-bicarbonate buffer (pH=9.6) overnight at 4°C. The unbound proteins were removed by washing five times with PBS – 0.1% Tween 20. Wells were then blocked for 1 hr with 4% BSA/PBS at 37°C and incubated for 30 min with 1:100 dilutions in 1% BSA / PBS of uveitis and control serum samples. Plates were washed as described previously and incubated with 1:1000 dilution of anti-human IgG peroxidase conjugated (Sigma) for 30 min. Again, the plates were washed as described previously and bound secondary antibody was allowed to react with the substrate, o-phenylenediamine (Sigma) for 30 min. The reaction was stopped by adding 4N₂SO₄H₂ and the optical density was determined in a microplate reader at 492 nm. A sample was considered positive if the optical density was two or more standard deviation above the mean of the normal control subjects. The sample result was obtained by the mean OD of triplicate points; for each sample these should agree to within 10%. The assays were performed three times: positive and negative results appeared in the same – patient serum samples with and intraassay CV of 9%; the interassay CV for the first to the second assay was 3.7 %, and that for the first vs the third assay was 5.5 %.

Quantitation of Specific IgE to Retinal S Antigen. This was assessed in sera of all uveitis patients and normal controls by ELISA^(20, 21, 24). Briefly, ELISA plates were coated with retinal S antigen (1 µg/100 µl) in carbonate-bicarbonate buffer (pH=9.6) overnight at 4°C. The unbound proteins were removed by washing five times with PBS – 0.1% Tween 20. Wells were then blocked for 1 hr with 1% BSA/PBS at room temperature and incubated for 2 hr at room temperature with 1:4 dilutions in 1% BSA / PBS of uveitis and normal serum samples. Plates were washed five times with PBS – 0.1% Tween 20 and then incubated at room temperature with 1:1000 dilution of anti-human IgE alkaline phosphatase conjugated (Sigma) for 2 hr.

Again, the plates were washed as described previously and bound secondary antibody was allowed to react with 100 l/ well of the substrate, p-nitrophenylphosphate (Sigma) for 30 min. The reaction was stopped by adding 3 M NaOH (100 µl/well) and the optical density was determined in a microplate reader at 405 nm. A sample was considered positive if the optical density was two or more standard deviation above the mean of the normal control subjects. The assays were performed three times: a positive or a negative result appeared in the same – patient serum samples with an intraassay CV of 5%; the interassay CV for the first vs the second determination was 4.8% and the first vs the third determination was 7.9%.

SLPI ASSAY - sample preparation

Bring all reagents and samples to room temperature before use. All samples and standards are assayed in duplicate. The determination was performed according to the manufacturer’s instructions.

All serum samples require at least a 20 fold dilution in to calibrator diluent RD5A.

SLPI was measured by an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Assay plates (96 well) were coated with 0.025 µg/ml recombinant SLPI (R&D Systems) in PBS and 1% 400 mmol/L carbonate buffer; 100 µl were added to each well. Plates were left 60 min at room temperature. Blocking was carried out with 400 µl /well blocking/protecting solution (polyvinylpyrrolidone 2%, BSA 5 mg/ml, preservatives: EDTA 5 mmol/L, Tris 50 mmol/L for 30 min. Plates were washed with wash buffer (150 mmol/L NaCl 100 mmol/L Tris, 0.05% Tween -20; pH: 7-7.5), 150 µl of standard sample and 50 µl of anti-SLPI; 2 µg /ml; diluted in ELISA buffer (150 mmol/L NaCl, 100 mmol/L Tris, 50 mmol/L phenol red solution, 2 mmol/L EDTA, 1 mmol/L 2-methylisothiazolone), 1 mmol/L bromonitrodioxane, 2 mg/ml BSA, 0.05% Tween 20; (pH=7.2) were added to each well. A non-specific binding well (200 µl buffer only) and two B₀ wells (150 µl buffer; 50 µl anti-SLPI) we included on each plate. Standards were added in triplicate and their concentration range was from 5000 – 9.8 pg/ml. Incubation was performed in a plate shaker at room temperature for 2 h; and the plates were then washed. One hundred µl/well of peroxidase – labeled anti-sheep/goat immunoglobulin G (IgG), Fab fragment raised in donkey (1:1000 of stock in ELISA buffer) were added. Incubation was on shaker as before and the plates were washed again. Two hundred µl substrate, (0.3 g/L urea – hydrogen peroxide, 0.1 g/L tetramethyl benzidine in 100 mmol/L sodium acetate; pH=6) were added to each well. After 2-10 min, the reaction was stopped by adding 50 µl/well 2 N SO₄H₂. The optical density was determined in a microplate reader at 450 nm. The minimum detectable dose of SLPI is typically less 25 pg/ml.

TABLE 1. Demographics and clinical features of uveitis patients, and controls.

Diagnosis	n: of cases	Males	Females	Age In years	Range of age in years	
Uveitis	50	18	32	38± 18.2	77 to 7	
Controls	16	5	11	37.4±18	75 to 9	
Type of uveitis	N: cases	Common Bacterial UV	TBU UV	Toxoplasma UV	Age in years	
<i>Infectious</i>	16	7	5	4	42± 17.8	
male	2	1	1	0	69± 1.41	
female	14	6	4	4	44± 18.4	
<i>Autoimmune Uveitis</i>	N: 34	Unilateral	Iridocyclitis	Bilateral uveitis	Pars Planitis	
male	16	6	2	6	2	33± 14.5
female	18	10	3	5	0	31± 15.6

TABLE 2. Clinical and immunological features of uveitis patients.

Type of Uveitis	Active	Inactive	IgG retinal Ag	IgE retinal Ag	IgG / IgE Retinal Ag
Autoimmune (n:34)	22	12	9	0	25
Bacterial Uveitis (n:7)	7	0	1	0	0
TB Uveitis	5	0	0	0	0
Toxoplasmic Uveitis	4	0	0	0	4
Controls (n:16)	0	16	0	0	0

P= 0.0122:two wav ANOVA (Row factors)

STATISTICAL ANALYSIS

Statistical significance was performed by ANOVA and Chi square and Fisher's exact tests, using GrafPad and SPSS software's, version 10 . We considered p<0.05 statistically significant.

RESULTS

The clinical and immunological features of uveitis patients are detailed in **Tables 1 / 2 / 3**.

The autoimmune uveitis group was divided by clinical evolution after treatment with methylprednisolone and tacrolimus in: a) active autoimmune uveitis (AAIU) (n= 22) and inactive autoimmune uveitis (IAIU) (n=12). The infectious uveitis group (n=16) was divided in common bacterial uveitis (CBU) (n=7); tuberculosis uveitis (n=5) and toxoplasmic uveitis (n=4).

Both groups presented severe relapsing uveitis patients with poor evolution (n=16) and b) patients with benign evolution (n=34) (**Table 3**).

The active autoimmune uveitis presented poor evolution in 12 of 16 cases in group of severe relapsing uveitis patients, and the four remaining cases were two cases from the toxoplasmic subgroup, one case from bacterial uveitis, and one of the TB uveitis, all with poor outcome (**Table 3**).

The specific IgG to retinal S antigen was negative in all cases of TBU, and positive in 1 of 7 CBU, the Tx U was positive in 4 of 4 cases. The specific IgG for retinal S antigen was positive in all cases of AAIU as well as in one case of IAIU. The normal control group was nega-

TABLE 3. Clinical evolution with the methylprednisolone use and anti-TB or anti-toxoplasma drugs.

Type of Uveitis	Relapsing	Inactive Benign Evolution
Autoimmune UV (n:34)	12	22
Bacterial Uveitis (n:7)	1	6
TB Uveitis (n:5)	1	4
2 Toxoplasma UV (n:4)	2	2
Total	16	34

b=0.0365: (2 wav ANOVA / Row factors)

tive for specific IgG to retinal S protein in all of cases (p<0.0001) (**Figure 1**).

The specific IgE to retinal S antigen was negative in TBU and CBU and positive in 3 of 4 cases of Tx U and 18 of 22 patients with AAIU as well as 7 of 12 IAIU. The normal control group was negative for specific IgE to retinal S antigen in all cases (p< 0.0001) (**Figure 2**).

The specific IgG to retinal S protein overlapped with specific IgE to that antigen in 75 % of autoimmune uveitis patients.

The total SLPI in both uveitis(Infectious and autoimmune uveitis) vs control was in uveitis 372.5±25.97 pg/ml and control group 346±24 pg/ml; with F test to compare variance, p value =0.0424 (**Figures 3A and 3B**).

The SLPI levels was in Infectious uveitis BIU Pre-Cs treatment 288.6±26.63 pg/ml, and post-CS was 286.3±9.551 pg/ml, p=NS (**Figure 4**).

The SLPI determination in autoimmune group pre-and post-CS treatment was separated by the responses in AIU no responder group (n=8), SLPI level was in the basal 350.8±±29.5 pg/ml and post-CS 337.8± 29.5 pg/ml;

Types of uveitis and Specific IgG to retinal antigens

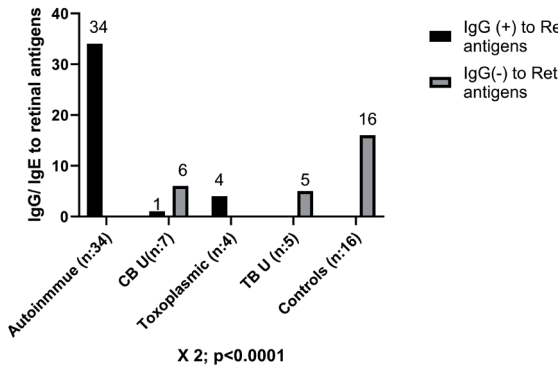


Figure 1. Specific IgG to retinal S protein in autoimmune and infectious uveitis types. X²; p<0.0001.

SLPI levels in uveitis and control group

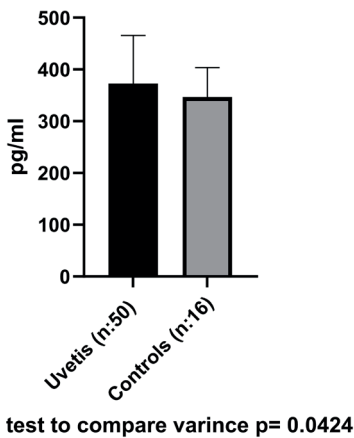


Figure 3 A. SLPI total levels uveitis group vs control. F test of variance; p=0.0424.

partial response group to CS (n=9) basal 393.8± 27.25 pg/ml, post-CS 399.3± 30.7pg/ml; and the group with improvement (n=17) the basal was 450.5±17.8 pg/ml, post=CS 504±18,62 pg/ml, p<0.0001 (Figures 5 and 6).

DISCUSSION

Uveitis is a generic term that encompasses a variety of intraocular inflammatory responses to infectious or autoimmune origin^{18-21,25-28}.

Despite considerable progress in elucidating the immunopathogenesis of these ocular disorders, there is still scarce information about reliable immunologic markers of disea-

Specific IgE to Retinal Antigen in different uveitis and controls

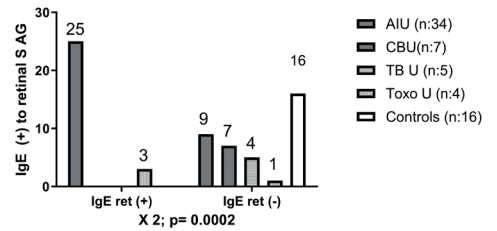
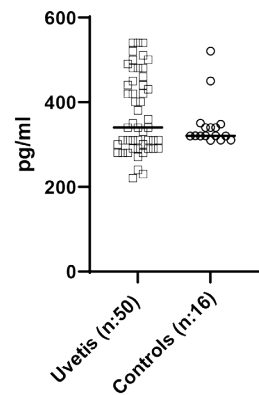


Figure 2. Specific IgE to retinal S protein in autoimmune and infectious uveitis: X²; p=0.0002.

SLPI levels in uveitis and control group



F test to compare variance p= 0.0424

Figure 3 B. SLPI discriminated levels in uveitis group vs control. F test of variance; p=0.0424.

SLPI levels in total Infectious Uveitis, pre and post CS

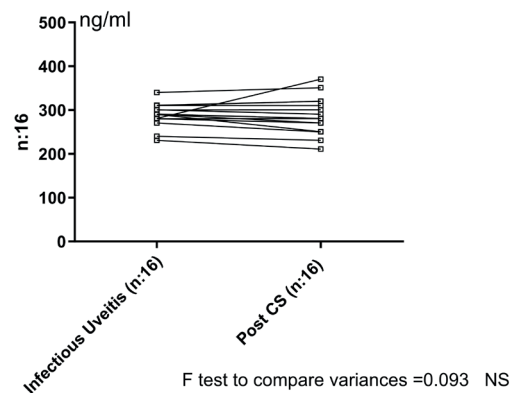


Figure 4. SLPI in levels in infectious uveitis, expressed in pg/ml, pre y post treatment with CS. F test of variances; p=0.093 (NS).

SLPI levels in Autoimmune Uveitis Treated with Corticosteroids

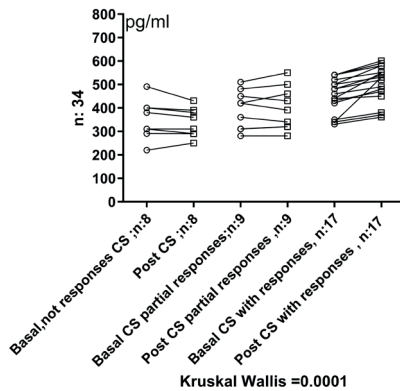


Figure 5. SLPI levels in autoimmune uveitis, separated in not responder (n=8), partially responder (n=9) and responder (n=17) expressed in pg/ml. Kruskal Wallis; p=0.0001.

se evolution. In this context, no significant differences in the levels of specific IgG and IgE to retinal S protein were found in our patients when compared with previous studies^{20,21}. In agreement with these studies, the specific IgG and IgE to retinal S antigen was positive in autoimmune uveitis as well as in toxoplasmic uveitis. These specific IgG and IgE to retinal S antigen probably represent CD4+ Th2 lymphocyte activation^{20,21,28}.

Some authors believe that the evidence for autoimmunity to retinal antigens expressed in both autoantibodies above described, are sufficient markers to define autoimmune ocular disease^{19-21,27}.

In the other infectious ocular condition, autoantibodies against retinal S antigen, were found to be negative. In this context, we have previously shown the importance of specific IgG and IgE autoantibodies to retinal S antigen in autoimmune and infectious uveitis²⁰, as well as more recently the presence of circulating anti-galectin antibodies in similar eye conditions²¹.

The innate immune system is a complex and dynamic system that continuously adapts itself to the changing environment to prevent infections and certainly has gained renewed interest over the past two decades^{1,10,15,29-36}.

The image of innate immunity as a more primitive response has evolved towards a system that interfaces with adaptive immune response. The fact remains that innate inflammatory effectors mechanisms through proteases still have considerable potential to damage host tissues^{1,14,16,29,35}. In response to these enzymes, systemic anti-proteases such as α 1-PI, α 1-antichymotrypsin, and α 2-macroglobulin are synthesized in the liver and reach tissues through the blood stream^{1,4,11,31,32}. On the other hand, alarm anti-proteases like SLPI and elafin, are produced locally in the site of inflammation in response to interleukin-1 and TNF^{1,5,12,18}. The balance between proteases and

Responses to Meprednisone treatment in different kinds of uveitis

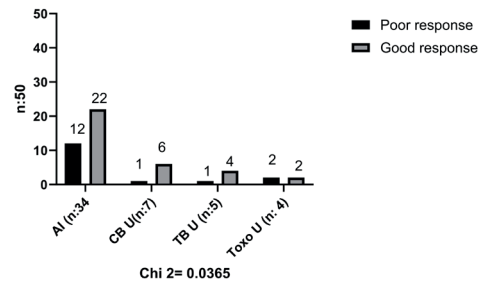


Figure 6. Meprednisone responses in different kind of uveitis. X²; p=0.0365.

their inhibitors may play a modulating roll in many biological processes. SLPI as a potent protease inhibitor with anti-inflammatory and antimicrobial activities, has been found to be present normally in the normal human tear fluid, in the cornea^{12,16,18}, and sera^{13,37}, and to be synthesized by the human ciliary epithelium³⁸ and in the aqueous humor in different eye pathologies¹⁸. Probably the main function of SLPI is to protect local tissue against the detrimental consequence of inflammation^{1,34,35}.

It is known that the eye contains a large number of mast cells, and the choroid has one of the highest densities of mast cells of any tissue in the body^{18-20,22}. Human mast cells have pro-inflammatory selective mediators located in the granules and released upon degranulation. Histamine has been widely used as a marker of mast cell degranulation and increased level of histamine has been observed in a number of diseases including: chronic urticaria, ischemic heart disease patients ongoing coronarangiography and allergic diseases such as asthma, rhinitis, otitis media, indicating that mediator is involved in the pathogenesis of these diseases^{1,3,4,7,9,13,17,21,39,40}. Numerous anti-allergic drugs such as di-sodium cromoglicate or anti-histamines were reported to inhibit in vitro of anti IgE induced histamine release from human mast cells^{17,22,40}. In recent years, inhibition of tryptase and chymase by SLPI was considered as a novel class of natural mast cell stabilizer. SLPI inhibit IgE dependent release from human mast cells and enzymatic activity of chymase, suggesting, that it may play a protective role in autoimmune uveitis^{18,20,40}. The natural chymase inhibitor SLPI probably inhibits the histamine release from various sources of human mast cells, and contributes to local regulatory mechanism of these cell degranulation both physiologically or pathophysiologically^{17,22,40}. On the other hand, a plethora of toxic inflammatory products, i.e., serine proteinase, are released from stimulated leukocytes during the uveitic inflammatory process and subsequent degradation of tissue ensues¹⁸.

In the present study we evaluated the SLPI serum le-

vels in different uveitis conditions. SLPI was elevated in active autoimmune uveitis, when compared with inactive autoimmune, common bacterial and TB uveitis. Toxoplasmic uveitis responded similarly to active autoimmune uveitis and probably represented the rupture of the blood-retinal barrier accompanying the uveitic inflammation with release of retinal S antigen, as have been previously described^{19,21}.

The SLPI level was increased in patients with active autoimmune uveitis, probably reflecting the local and systemic anti-inflammatory response in this group of patients¹⁸⁻²¹. Toxoplasmic retinochoroiditis, however, behaves differently from other infectious uveitis presenting similar SLPI levels compared with active autoimmune uveitis. These findings may be explained by retinal tissue disruption and SLPI released by local mast and systemic inflammatory cells. This uveitis subgroup also presented severe impairment of vision.

In the case of infectious uveitis secondary to tuberculosis, the SLPI level was similar to control group and different to active autoimmune uveitis. In the first step the macrophages respond to *Mycobacterium tuberculosis* by regulating expression of gene products that initiate a host innate response to this micro-organism and elevated SLPI. In the second part, the presence of these particular antigen metabolites of *Mycobacterium tuberculosis* has more relevance, because they stimulate predominantly proliferation of CD4+ Th1 lymphocyte profile. The CD4+ Th1 lymphocyte response produced high levels of IL-12 and INF γ .

The common bacterial endophthalmitis presented normal SLPI serum level. The INF γ , produced inhibition of SLPI expression and low SLPI serum levels and strong delayed hypersensitivity reaction and subsequent granuloma formation^{20,41}.

This feature was comparable to those of the control group, inactive autoimmune uveitis and TB uveitis. Infectious uveitis has been ascribed to Th1 and CD8+ cytotoxic lymphocytes pathways^{19-21,28}. The more important function of SLPI is to protect local tissue against the detrimental consequences of inflammation^{1,36,37,42}. The SLPI has a broad-spectrum antibiotic activity that includes bactericidal and antifungal properties^{1,30,35,42}. The local increase of SLPI in patients found with uveitis¹⁸ is different to our feature in serum; this difference probably is explained by locally up-regulation in response to the local infection similar to uterine epithelial cells in pre and post menopausal women. The post menopausal women decreased SLPI bactericidal activity, and in our bacterial endophthalmitis group the majority of patients were localized in post menopausal status^{1,35}.

The common bacterial uveitis presented benign evolution with antibiotic treatment and only slight impairment of vision in most cases, with only one case becoming blind.

The inactive autoimmune uveitis patients presented benign evolution to Methylprednisolone treatment. In this subgroup the SLPI levels was similar to the control group and the clinical activity of uveitis was improved dramatically with the treatment. In the active autoimmune uveitis as well as toxoplasmic uveitis the clinical evolution was poor. These different forms of responses to treatment with corticosteroids probably reflected the activation of glucocorticoid receptor inducing transcription of genes such as SLPI. At lower concentrations glucocorticoid reduce inflammatory gene induced by NF κ B or AP-1 via association between these factors^{6,8,43,44}. SLPI uptake into the inflammatory cells was rapid and widespread. The protein is not simply bound to the cell membrane. It is internalized efficiently as evidenced by high level into the cells cytoplasmic and nuclear fractions. SLPI could bind DNA directly because it does by its cationic charge. Due to SLPI's ability to inhibit LPS induced NF κ B, and new information that SLPI can localize to the nucleus and bind DNA, Taggart et al. considered the possibility that SLPI might bind to NF κ B sites^{5,8,39,43-45}. SLPI interaction with other consensus transcription factor binding has been also assessed. Although there was no binding of SLPI-GATA, Sp1, CREB consensus oligonucleotides, strong binding of SLPI-AP1 probe has been observed indicating that SLPI may also bind sites other than NF κ B. The SLPI bind to the IL-8 and TNF α promoters; which contains multiple NF κ B. They do not interact with IL-10 promoters, nor contain NF κ B sites. SLPI decreased LPS induced TNF α and IL-8 productions but not IL-10^{6,43-45}. The ability of SLPI to enter the nucleus is particularly interesting due to the cationic nature of this protein and its potential to bind negatively charged regions of DNA. Taggart et al. demonstrated that SLPI can bind DNA and NF κ B sites in specific manner. SLPI present degradation on IK $\beta\alpha$ and β , and subsequently inhibits NF κ B activity^{6,43}. The patients that responded poorly to corticosteroid treatment were included in a tacrolimus protocol. This immunosuppressive drug an immunophilin-binding agent, without important complications, and partially improve in 60% of the active autoimmune uveitis.

The increased frequency of SLPI in sera of patients with intraocular disorders might be a direct consequence of the release of tissue-associated SLPI during the inflammatory response, from the mast cells of the choroid, as well as from the ciliary epithelium^{18-22,46}.

CONCLUDING REMARKS:

Furthermore, we have demonstrated in the present study that serum SLPI levels correlated with worse evolu-

tion of ocular inflammatory disease in patients with active autoimmune uveitis. The presence of these autoantibodies, as well as the high serum SLPI levels, suggests their potential use for the prognosis of inflammatory ocular diseases. The elevated SLPI in patients with ac-

tive autoimmune uveitis reflect the presence of a double inflammatory process, expressed locally as well as systemic. Probably, SLPI may be considered as a marker of disease activity in auto-immune as well as in toxoplasmic uveitis.

REFERENCES

- Doumas S, Kolokotronis A, Stefanopoulos P: Anti-Inflammatory and Antimicrobial Roles of Secretory Leukocyte Protease Inhibitor. *Infection and Immunity* 2005; 1271 – 4.
- Stetler G, Brewer MT, Thompson RC: Isolation and sequence of a human gene encoding a potent inhibitor of leukocyte proteases. *Nucleic Acids Res* 1986; 14:7883 – 96.
- Wright CD, Havill AM, Middleton SC, Kashem MA, Lee PA, Dripps DJ, O' Riordan, Bevilacqua MP, Abraham W M. Secretory Leukocyte Protease Inhibitor Prevents Allergen-Induced Pulmonary Responses in Animal Models of Asthma. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 289: 1007 – 14.
- Vogelmeier CA; Gillissen CA; Buhl R: Use of Secretory Leukoprotease Inhibitor to Augment Lung Antineutrophil Elastase Activity. *Chest* 1996; 110:261 – 6.
- Williams SE; Brown A; Sallenave J-M: SLPI and Elafin: one glove, many fingers. *Clin Sci (London)* 2006; 110:21 – 35.
- Taggart CC, Cryan SA, Weldon S, Gibbons A, Greene CM, Kelly E, Low TB, O' Neill SJO, McElvaney NG. Secretory leucoprotease inhibitor binds to NF κ B binding sites in monocytes and inhibits p65 binding. *JEM* 2005; 202: 1659 – 8.
- Sallenave, J.M., Shulmann, J., Crossley, J., Jordana, M., Gaudlie, J. Regulation of secretory leukocyte inhibitor (SLPI) and elastase-specific inhibitor (ESI/Elafin) in human airway epithelial cells by cytokines and neutrophilic enzymes. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994; 11:733 – 41.
- Usmani OS, Ito K, Manechotesuwan K, Ito M, Johnson M, Barnes PJ, Adcock IM. Glucocorticoid Receptor Nuclear Translocation in Airway Cells after Inhaled Combination Therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 704 – 12.
- Hollander C, Nyström M, Janciauskiene S, Westin U. Human mast cells decrease SLPI levels in type II – like alveolar cell model, in vitro. *Cancer Cell Inter* 2003; 3: 14 – 22.
- Bingle L, Cross SS, High AS, Wallace WA, Rassl D, Yuan G, Hellstrom I, Campos MA, Bingle CD. WFDC2 (HE4): A potential role in the innate immunity of the oral cavity and respiratory tract and development of adenocarcinomas of the lung. *Resp Research* 2006; 7: 61 – 70
- Van Wetering S, Van Der Linden AC, Van Sterkenburg MAJA, De Boer WI, Kuijpers ALA, Schalkwijk J, Hiemstra PS. Regulation of SLPI and elafin release from bronchial epithelial cells by neutrophils defensins. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 278: L 51 – L 58.
- Sathe S, Sakata M, Beaton AR, Sack RA. Identification, origins and the diurnal role of the principal serine protease inhibitors in human tear fluid. *Curr Eye Res* 1998; 17:348 – 62.
- Wang X; Li X; Xu L, Zhan Y, Yaish – Ohad S, Erhardt JA, Barone FC, Feuerstein GZ: Up-Regulation of Secretory Leukocyte Protease Inhibitor (SLPI) in the Brain after Ischemic Stroke: Adenoviral Expression of SLPI Protects Brain from Ischemic Injury. *Mol Pharmacol* 2003; 64:833 – 40.
- Ashcroft GS; Lei K; Jin W, Longenecker G, Kulkarni AB, Greenwell-Wild T, Hale-Donze H, McGrady G, Song XY, Wahl SM: Secretory leukocyte protease inhibitor mediates non-redundant functions necessary for normal wound healing. *Nat Med* 2000; 6: 1147 – 53.
- Odaka C; Mizuochi T; Yang J; Ding A: Murine Macrophages Produce Secretory Leukocyte Protease Inhibitor During Clearance of Apoptotic Cells: Implications for Resolution of the Inflammatory Response. *J Immunol* 2003; 171:1507 – 14.
- Sorensen OE; Cowland JB; Theilgaard-Mönch K; Liu L; Ganz T, Borregaard N: Wound Healing and Expression of Antimicrobial Peptides/Polypeptides in Human Keratinocytes, a Consequence of Common Growth Factors. *J Immunol* 2003; 170:5583 – 9.
- HE S-H, Chen P, Chen HQ: Modulation of enzymatic activity of human mast cell tryptase and chymase by protease inhibitors. *Acta Pharmacol Sin* 2003; 24: 923 – 9.
- Janciauskiene S, Brandt L, Wallmark A, Westin U; Krakau T: Secreted leukocyte protease inhibitor is present in aqueous humours from cataract and other eye pathologies. *Exp Eye Research* 2006; 82: 505 – 11.
- Nussenblatt RB, Palestine AG: Concepts of disease pathogenesis. *In Uveitis, Fundamentals and Clinical Practice*. 1st ed. Chicago, Year Book Medical 1989, pp 21 – 52.
- Muiño JC, Juárez CP, Luna JD, Castro CC, Wolf EG, Ferrero M, Romero-Piffiguer MD. The Importance of Specific IgG and IgE Autoantibodies to Retinal S Antigen, Total Serum IgE, and sCD23 Levels in Autoimmune and Infectious Uveitis. *J. Clin Immunol* 1999; 19: 215 – 22.
- Romero MD, Muiño JC, Bianco GA, Ferrero M, Juárez CP, Luna JD, Rabinovich GA. Circulating Anti-galectin-1 antibodies Are Associated with the Severity of Ocular Disease in Autoimmune and Infectious uveitis. *IOVS* 2006; 47: 1550 – 6.
- Irani AM: Ocular Mast Cells and Mediators: *Immunol Allergy Clin North Am* 1997; 17: 1 – 18
- Dorey O, Cozette J, Faure JO: A simple rapid method for isolation of retinal S antigen. *Ophthalmol Rev* 1982; 14: 249 – 55.
- Nieto A, Carbonetto CA. *Enzimoinmuno-ensayo*. In *Inmunología e Inmunoquímica*, Margni RA (Ed). Buenos Aires, Panamericana, 1989; pp. 571 – 86.
- Rosenbaum JT, Becker MT, Smith JR: Immunologic Ocular disease. In *Clinical Immunology, Principles and Practice*. Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Kotzin BL, Schroeder HW (Eds). Mosby, London 2001, pp 86.1 – 86.12.
- Forester JV, Menamin PC. Immunopathogenic Mechanisms in Intraocular Inflammation. In *Immune Response and the Eye*. Streilein JW. (Ed). Chemical Immunology. Basel, Karger, 1999; 73: pp 159 – 85.
- Nussenblatt RB, Gery I, Weiner HL, Ferris FL, Shiloach J, Remaley N, Perry C, Caspi RR, Haffler DA, Foster C, and Whitcup SM. Treatment of uveitis by oral administration of retinal antigens: Results of a phase I/II randomized masked trial. *Am J Ophthalmol* 1997; 123: 583 – 92.
- de Smet MD, Dayan M, Nussenblatt RB. A novel method for the determination of T – cell proliferative responses in patients with uveitis. *Ocular Immunol Inflamm* 1998; 6: 139 – 207.
- Abbas AK, Litchman AH. Innate Immunity – The Early Defense against Infections in *Basic Immunology*. Saunders, Philadelphia 2006; pp 21 – 39.
- Vos JB, van Sterkenburg MA, Rabe KF, Schalkwijk J, Hiemstra PS, Datson N. Transcriptional response of bronchial epithelial cells to

- Pseudomonas aeruginosa*: identification of early mediators of host defense. *Physiol Genomics* 2005; 21: 324 – 36.
31. Sánchez MC, Barcelona PF, Luna JD, Ortiz SG, Juárez PC, Riera CM, Chiabrando GA. Low – density lipoprotein receptor – related protein – 1 (LRP – 1) in rat model of oxygen induced retinal neovascularization. *Exp Eye Research*, 2006 in press. Available on line at www.Science.direct.com
 32. Piitulainen E, Carlson J, Ohlsson K, Sverger T. α_1 – antitrypsin Deficiency in 26 Year – Old Subjects. *Lung, Liver and Protease/ Protease Inhibitor Studies*. *Chest* 2005; 128: 2076 – 81.
 33. Muiño JC, Castro CC, Gagliardi JR, Wolff EG, Gómez RM, Gugliemone H, Alé AM, Ferrero M, Romero MD. Regulación de la respuesta inflamatoria de la aspergilosis alérgica broncopulmonar por antígenos Clase III del complejo mayor de histocompatibilidad (C4, C2, FB) CD 23 soluble y fallas de la Fagocitosis. *Rev Med Córdoba* 1997; 85: 2 – 12.
 34. Jana NK, Gray LR, Shugars DC. Human Immunodeficiency Virus Type 1 Stimulates the Expression and Production of Secretory Leukocyte Protease Inhibitor (SLPI) in Oral Epithelial Cell: role for SLPI in Innate Mucosal Immunity. *J Virol* 2005; 79: 6432 – 40.
 35. King AE, Critchley HOD, Kelly RW. Presence of secretory leukocyte protease inhibitor in human endometrium and first trimester decidua suggest an antibacterial protective role. *Mol Hum Reprod* 2000; 6: 191 – 6.
 36. Greene CM, McElvaney NG, O’ Neill SJ, Taggart CC. Secretory Leucoprotease Inhibitor Impairs Toll-Like Receptor 2 and 4 Mediated Responses in Monocytic Cells. *Infection and Immunity* 2004; 72: 3684 – 7.
 37. Grobmyer SR, Barie PS, Nathan CF, Fuortes M, Lin E, Lowry SF, Wright CD, Weyant MJ, Hydo L, Reeves F, Shiloh Mu, Ding A: Secretory leukocyte protease inhibitor, an inhibitor of neutrophil activation, is elevated in serum in human sepsis and experimental endotoxemia. *Crit Care Med* 2000; 28: 1276 – 82.
 38. Ortego J, Escribano J, Coca-Prados M. Gene expression of proteases and protease inhibitors in the human ciliary epithelium and ODM-2 cells. *Exp. Eye Res.* 1997; 65:289 – 99.
 39. Henriksen PA, Hitt M, Xing Z, Wang J, Haslett C, Riesmersma RA, Webb DJ, Kotelevtsev YV, Sallenave JM. Adenoviral Gene Delivery of Elafin and Secretory Leukocyte Protease Inhibitor Attenuates NF- κ B – Dependent Inflammatory Responses of Human Endothelial Cells and Macrophages to Atherogenic Stimuli. *J Immunol* 2004; 172: 4535 – 44.
 40. He S, Xie H, Zhang X-J, Wang S-J : Inhibition of histamine release from human mast cells by natural chymase inhibitors. *Acta Pharmacol Sin* 2004; 25: 822 – 6.
 41. Ding A, Yang J, Shi S, Ehrst S. Inductions of macrophage-derived SLPI by *Mycobacterium tuberculosis* depends on TLR 2 but not MyD88. *Immunology* 2005; 116 – 381 – 9.
 42. da Silva MCA, Zahm JM, Gras D, Bajolet O, Abely M, Hinnrasky J, Milliot M, de Assis MC, Hologne C, Bonnet N, Merten M, Plotkowski MC, Puchele E. Dynamic interaction between airway epithelial cells and *Staphylococcus aureus*. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 287: L 542 – L 551.
 43. Butler MW, Robertson I, Greene CM, O’ Neill SJO, Taggart CC, McElvaney NG. Elafin prevents lipopolysaccharide-induced APQ and NF- κ B activation via and effect on the ubiquitin-proteasome pathway. *JBC Papers in press*. Published on September 15, 2006. [Http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc/M604844200](http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc/M604844200)
 44. Ito K, Yamamura S, Essilfie-Quaye S, Cosio B, Ito M, Barnes PJ, Adcock IM, Histone deacetylase 2 – mediated deacetylation of the glucocorticoid receptor enables NF- κ B suppression. *JEM* 2005; 203: 7 – 13.
 45. Taggart CC, Greene CM, Smith SG, Levine RL, McCray PB, O’ Neill SO, Mc Elvaney NG. Inactivation of Human β -Defensins 2 and 3 by Elastolytic Cathepsins. *J Immunol* 2003; 170 931 – 7
 46. T Novak, F Fortune, L Bergmeier, I Khan, E Hagi-Pavli. Neutrophil elastase and endogenous inhibitors in Behçet’s disease saliva. *Clin Exp Immunol* 2020 Oct;202(1):93-105. doi: 0.1111/cei.13483. Epub 2020 Jul 29

REGLAMENTO Y NORMAS PARA LA PRESENTACIÓN DE ARTÍCULOS

Archivos de Alergia e Inmunología Clínica (AAIC) publica artículos sobre Alergología, Inmunología Clínica o relacionados con ellas en su más amplio sentido. El pedido de publicación deberá dirigirse a secretaria@aaaic.org.ar.

El Comité Editorial se reserva el derecho de rechazar los artículos, así como de proponer modificaciones cuando lo estime necesario. El artículo enviado a AAIC para su publicación será sometido a la evaluación por la Secretaría de Redacción y de dos o más jueces que serán designados por el Editor, juntamente con el Consejo Editorial, que serán idóneos en el tema del artículo. Los árbitros se expedirán en un plazo menor de 45 días y la Secretaría de Redacción informará su dictamen de forma anónima a los autores del artículo, así como de su aceptación o rechazo.

La publicación de un artículo no implica que la Revista comparta las expresiones vertidas en él.

AAIC considerará los manuscritos basándose en los "Requisitos Uniformes para Preparar los Manuscritos Enviados a Revistas Biomédicas" Rev Panam Salud Pública 1998; 3:188-196.

A. NORMATIVA COMÚN A TODOS LOS TIPOS DE MANUSCRITOS

Formato. El único formato aceptado será electrónico en archivos tipo Word 6.0 o posterior con páginas diseñadas en tamaño carta o A4, con márgenes superior e inferior a 25 mm, e izquierdo y derecho a 30 mm. Preferentemente a doble espacio. Cada página debe estar numerada en forma consecutiva. Cada nueva sección del manuscrito deberá comenzar en una nueva página. El cuerpo del texto debe estar escrito enteramente en idioma español, a excepción de los campos especiales. Se debe cuidar la ortografía y el estilo del idioma. Se recomienda aprovechar las herramientas de los procesadores de texto para la revisión del manuscrito.

El archivo correspondiente debe ser remitido al mail: secretaria@aaaic.org.ar.

El autor deberá contar con copia de todo lo que remita para su evaluación. Su inclusión en el sistema implica que los autores declaran la originalidad del manuscrito, que no infringe ningún derecho de propiedad intelectual u otros derechos de terceros, que no se encuentra bajo consideración de otra publicación, y que no ha sido previamente publicado.

Referencias. Se numeran consecutivamente según su orden de aparición en el texto. En el texto deben figurar como números arábigos entre paréntesis. El formato debe respetarse según la National Library of Medicine de Washington. Las

abreviaturas de las publicaciones deberán realizarse según las utilizadas por el Index Medicus. La lista puede hallarse en <http://www.nlm.nih.gov/>

No se aceptará como referencia las comunicaciones personales (pueden aclararse en el texto), ni citas a resúmenes que no figuren en actas de la respectiva actividad científica.

Ejemplos. Los autores deben expresarse con su apellido seguido por las iniciales de los nombres. Para la lista de autores que superen el número de seis, se debe listar los primeros tres y agregar et al. *Obsérvense los signos de puntuación.*

- *Formato para artículos:* Parkin DM, Clayton D, Black RJ, et al. Título completo del artículo. Revista año; volumen: página de inicio-página de fin.
- *Formato para libros:* Ringsven MD, Bond D. Título del libro, edición, ciudad de edición; editorial; año.
- *Formato para capítulos:* Phillips SJ, Wishnant JP. Título del capítulo. En: Título del Libro subrayado, editores del libro en formato similar a los autores, edición, ciudad de edición: editorial; año: página de inicio-página de fin.
- *Formato para páginas Web:* Autores si los hubiere. Título o nombre de la página. Dirección completa de acceso al navegador precedida por <http://...>, mes y año de revisión.

Tablas. Formato permitido: tablas tipo Word. Las tablas deben completar y no duplicar el texto. Deben estar presentadas en páginas separadas, una tabla por página. Deben entenderse fácilmente. Se numerarán en números arábigos según el orden de mención. Se le colocará un epígrafe breve a cada tabla y se aclararán todas las abreviaturas en forma de pie de página, al final de la tabla. No serán aceptadas fotografías de tablas ni reducciones. Tendrán que estar en idioma español.

Gráficos. Los gráficos (barras o tortas) en blanco y negro deben ser legibles y claros, deberán estar realizados en formato Excel, independientemente de que se agreguen al texto del manuscrito. Las etiquetas de valores y las leyendas deben ser fácilmente legibles. Preferentemente se deben utilizar fuentes tipo Times New Roman o Arial (12 pts o más). Se prefieren etiquetas directamente en la gráfica más que en la leyenda. La primera letra debe ir en mayúsculas y el resto en minúsculas, no se aceptará todo en mayúsculas. El relleno de los gráficos de barra o de torta debe ser distintivo, evitando los sombreados. Los gráficos en tres dimensiones solo estarán reservados para cuando el gráfico presente tres coordenadas (x, y, z). Si

se utilizan más de dos barras en un mismo gráfico, utilizar rellenos con líneas para un contraste adecuado. Si no se cuenta con originales generados por computadora, se puede enviar un juego de fotografías digitales.

Figuras. Un número razonable de figuras en blanco y negro serán publicadas libre de costo para el autor. Se deberán hacer arreglos especiales con el editor para figuras en color o tablas elaboradas. Las fotografías se deberán enviar en formato digital de 5 megapíxeles mínimo con nombre de archivo “figura” seguido del número correlativo de aparición en el texto, con extensión JPG (p. ej.: figura1.jpg) Se prefiere formato TIFF, independientemente que se agreguen al texto del manuscrito. Las figuras escaneadas deben ser realizadas con una definición de 300 dpi. Las figuras deben citarse en el texto y se numerarán en números arábigos según el orden de mención. El epígrafe deberá figurar en el cuerpo del texto al final del texto o de las tablas.

Las tablas, gráficos y figuras que se envíen en archivo aparte deberán tener como nombre de archivo la palabra “tabla”, “gráfico” o “figura” según corresponda.

B. ARTÍCULOS ORIGINALES

Deben describir totalmente, pero lo más concisamente posible los resultados de una investigación clínica o de laboratorio que sea original. Todos los autores deben haber contribuido en grado suficiente para responsabilizarse públicamente del artículo. El artículo deberá estar organizado de la siguiente manera:

Página del Título. El título debe ser conciso pero informativo. A continuación debe figurar el título en idioma inglés. Debe figurar el nombre y apellido de cada autor como así también el nombre de departamento e institución y los grados académicos. Debe constar la declaración de descargo de responsabilidad si las hubiere. Se debe explicitar el nombre, dirección, teléfono, fax y e-mail del autor que se encargará de la correspondencia y las separatas. Procedencia del apoyo recibido (becas, equipos, medicamentos, etc.). En la última línea de la página debe figurar un titulillo que no debe superar los 40 caracteres.

Página de Resumen (Abstract) y Palabras clave (Keywords). Tendrá una extensión máxima de 250 palabras. Se evitarán las abreviaturas a menos que sean de uso extendido en la especialidad (p. ej.: ICAM-1, IgE). Dada la importancia que tienen los resúmenes de los trabajos para su difusión nacional e internacional, los mismos se presentarán de manera estructurada que contendrá:

Los fundamentos o antecedentes (en inglés, background), son una puesta al día del estado actual del problema o sea, cuál es el problema que lleva al estudio. El objetivo (en inglés, objective), define cuál es el propósito del estudio. El lugar de aplicación o marco de referencia (en inglés, setting), delimita el entorno de realización. El diseño (en inglés, design), es el tipo de estudio realizado. La población (pacientes o partici-

pantes) (en inglés, population), conforma el material. El método (en inglés, methods), es la forma en que se realizó el estudio. Los resultados (en inglés, results), deben incluir los hallazgos más importantes. Las conclusiones (en inglés, conclusion), deben estar avaladas por los resultados. Se debe hacer hincapié en aspectos u observaciones nuevas.

En atención a la brevedad del resumen, se escribirá en forma puntual más que narrada.

A continuación deben figurar de 3 a 10 palabras clave o frases cortas clave con el fin de facilitar la inclusión del artículo en el repertorio nacional o internacional de bibliografía médica. Se pueden utilizar los términos de la lista MeSH (Medical Subject Headings) disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=mesh>. En hoja aparte se deberá adjuntar un resumen en idioma inglés (abstract) siguiendo los mismos lineamientos que para el realizado en español. Se sugiere un apoyo especial para aquellos que no dominen adecuadamente este idioma para no incurrir en errores gramaticales.

Abreviaturas y símbolos. Serán aclaradas la primera vez que se expresen en el texto. Los símbolos se anotarán, preferentemente, según las recomendaciones del Sistema Internacional. Cuando se escriban números enteros no se debe utilizar puntuación para indicar los millares, sino un espacio entre ellos. La puntuación se utilizará exclusivamente para la expresión de decimales.

Texto.

Introducción. Se debe expresar el propósito del estudio (objetivos) y el resumen del fundamento lógico. No se deben incluir datos ni conclusiones.

Métodos. Se debe describir claramente la selección de los sujetos y sus características epidemiológicas. Identificar los métodos, aparatos (nombre y dirección del fabricante) y procedimientos que permitan reproducir los resultados. Proporcionar referencias de métodos acreditados incluidos los estadísticos. Describir brevemente los métodos no bien conocidos o aquellos que han sido modificados.

Se debe nombrar la autorización del comité de ética institucional que aplique y la concordancia con la Declaración de Helsinki en su última adaptación.

En el caso de ensayos con medicamentos, se debe aclarar la aplicación del ICH (International Conference in Harmony) y de la resolución ANMAT vigente a la fecha de realizado el estudio. Si se trata de animales, nombrar si se cumplieron normas institucionales, de consejos nacionales o de leyes nacionales que regulen el cuidado y uso de animales de laboratorio. Describir los métodos estadísticos para verificar los datos presentados. Describir todos los procedimientos: aleatorización, abandono de protocolos, software (ej.: epi info).

Resultados. Se cuantificarán y presentarán con indicadores apropiados de error (ej.: intervalos de confianza). No depender sólo de p. Se debe seguir una secuencia lógica de los resultados obtenidos. No repetir en el texto los datos de cuadros ni ilustraciones. Limitar su número a las estrictamente

necesarias Solo destacar o resumir las observaciones importantes. Evitar el uso no técnico de términos estadísticos (ej: muestra, azar, normal, significativo, etc.).

Discusión. Hacer hincapié en los aspectos nuevos e importantes del estudio y en las conclusiones que se derivan de ellos o pertinentes para la investigación futura. No repetir lo expresado en otras secciones. Establecer nexos entre objetivos y resultados. Relacionar con los resultados de otros trabajos si se considera necesario. Explicitar las debilidades del trabajo.

Agradecimientos. Se incluirán aquellas instituciones o personas que han sido esenciales por su ayuda técnica, por apoyo financiero o por conflicto de intereses.

C. COMUNICACIONES RÁPIDAS

El Consejo Editor considerará artículos de no más de 5 hojas y dos tablas o figuras resumiendo resultados experimentales de excepcional importancia o urgencia, que requieran una rápida publicación. Los autores deberán identificar y justificar estos artículos en la carta de pedido de evaluación. El formato y características serán idénticos a los artículos originales. Si son aceptados, serán publicados a la brevedad. Los editores pueden elegir (luego de notificarlo) considerar estos artículos para su publicación regular.

D. COMUNICACIONES BREVES Y REPORTES DE CASOS

Casos interesantes por su rareza o comunicaciones científicas breves serán considerados para esta sección. Estos artículos deben contar con un título corto en español e inglés, no exceder las tres páginas y una tabla o figura. No deberán contar con más de 10 referencias que sean relevantes. No requiere resumen o abstract.

E. CARTAS AL EDITOR

Cartas cortas referidas a artículos publicados recientemente en AAIC y otros aspectos de particular interés para la especialidad, serán evaluados por el Consejo Editorial. Tendrá un pequeño título en español e inglés. Será precedida por el encabezado "Sr. Editor:" y deben contar con menos de 500 palabras, incluyendo datos breves en formato de tabla. Contará con un máximo de 5 referencias bibliográficas.

Si la carta es aceptada, en todos los casos el Consejo Editorial enviará copia de la carta al autor del artículo referido, dando oportunidad en el mismo número de edición de la carta, de contestar o comentar la consulta y/u opinión del autor de la carta, con las mismas limitaciones de extensión.

F. ARTÍCULOS DE REVISIÓN

Se aceptarán los artículos de revisión de temas concernientes a Alergia e Inmunología o a cualquier tema relacionado con la especialidad. Estos serán solicitados por el Consejo Editorial a autores específicos. Se otorgará prioridad a las revisiones relacionadas con aspectos controvertidos o relacionados con pro-

gramas de Educación Médica Continua. Deben contar con menos de 20 carillas y con el número de referencias adecuadas para la importancia del tema. Se debe aclarar la metodología para localizar, seleccionar, extraer y sintetizar los datos.

El formato será similar a la de los artículos originales, excepto que no contará con Material y Métodos ni Resultados. Se pueden utilizar subtítulos para lograr una mejor presentación didáctica.

G. ARTÍCULOS DE OPINIÓN

Los artículos de Opinión serán solicitados exclusivamente por el Consejo Editorial a autores específicos sobre temas de particular interés y/o debate.

H. CESIÓN DE DERECHOS

Modelo de Transferencia de derechos de autor

El/los autor/es transfieren la propiedad intelectual del artículo a *Archivos de Alergia e Inmunología Clínica* en el caso de que el manuscrito sea publicado. El/los abajo firmante/s declaran que el artículo es original, que no infringe ningún derecho de propiedad intelectual u otros derechos de terceros, que no se encuentra bajo consideración de otra publicación y que no ha sido previamente publicado. El/los autor/es confirman que han revisado y aprobado la versión final del artículo.

I. LISTA DE CONTROL

- Carta de solicitud de presentación con la transferencia de los derechos
- Carta en caso de existir Conflicto de Intereses
- Manuscrito en formato Word
- Números de página en extremo superior derecho
- Doble espacio
- Nombre completo de los autores y sus grados académicos
- Afiliaciones institucionales y recursos de fondos (sponsorización)
- Dirección del Autor encargado de la Correspondencia (incluyendo e-mail)
- Titulillo (frase de menos de 40 caracteres que resuma al título)
- Resumen y Abstract (no más de 250 palabras)
- Lista de palabras clave y de Keywords
- Lista de abreviaturas y acrónimos
- Secciones iniciadas en páginas separadas
- Referencias a doble espacio en página separada, respetando formato
- Epígrafes a doble espacio en páginas separadas
- Figuras y fotos en formato digital compatible
- Tablas a doble espacio
- Nota de copyright

J. DECLARACIÓN DE PRIVACIDAD

Los nombres y direcciones de correo introducidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines declarados por esta revista y no estarán disponibles para ningún otro propósito u otra persona.