

Imunoterapia sublingual com pêsego (Pru p 3) – Eficácia e segurança

Sublingual immunotherapy with peach (Pru p 3) – Efficacy and safety

Data de receção / Received in: 09/11/2014

Data de aceitação / Accepted for publication in: 22/12/2014

Rev Port Imunoalergologia 2015; 23 (4): 211-222

Ana Célia Costa¹, Fátima Duarte¹, Elisa Pedro¹, Alcinda Campos Melo², Manuel Pereira-Barbosa^{1,3},
Maria Conceição Pereira Santos^{2,3}

¹ Serviço de Imunoalergologia, Hospital de Santa Maria, CHLN, Lisboa

² Unidade de Imunologia Clínica, Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, Lisboa

³ Clínica Universitária de Imunoalergologia, Faculdade de Medicina de Lisboa

2.º Premio SPAIC-Bial Aristegui 2014

RESUMO

Introdução: A alergia ao pêsego é prevalente, persistente e potencialmente grave, sendo o Pru p 3 (proteína de transferência lipídica, LTP) o principal alérgeno envolvido. O elevado risco de reações graves e a possibilidade de a maioria dos doentes reagirem a outros alimentos (síndrome LTP), torna esta alergia um alvo importante para imunoterapia específica (IT). **Objetivo:** Demonstrar a eficácia e segurança da IT sublingual (SLIT) com pêsego (Pru p 3) em doentes com reações sistémicas associadas à ingestão de pêsego, através da avaliação de parâmetros clínicos e imunológicos durante 12 meses. **Métodos:** Dez doentes (8F,2M;19-41;26,2 anos) com história de alergia ao pêsego, confirmada por prova de provocação oral (PPO) ou anafilaxia, submetidos a SLIT-Pru p 3. 100% doentes: reações sistémicas (80%-anafilaxia) associadas à ingestão de pêsego (60%-sintomas com outros alimentos). Foram realizados TCP com aeroalergénios, pêsego pele e polpa, alimentos de acordo com os sintomas, Pru p 3 e Pho d 2. A SLIT-Pru p 3 consiste: fase de indução (4 dias) e fase de manutenção (3 anos). Foram efetuados doseamento de IgE, IgA e IgG4 específicas (sIgE,sIgA,sIgG4) para pêsego, Pru p 3, Pru p 4, Teste de Activação de Basófilos (TAB) com Pru p 3 em 3 concentrações (0,05, 0,5 e 5µg/mL), antes (T0), 1 (T1), 6 (T6) e 12 meses (T12) após início da SLIT; PPO com polpa de pêsego em T12. **Resultados:** T0-T12: diminuição significativa do diâmetro médio da pápula no TCP com pêsego pele e polpa (p=0,0039) e Pru p 3 (p=0,0078) e de sIgE para pêsego (p=0,0046) e Pru p 3 (p=0,0089); aumento significativo de sIgG4 (p=0,0020); sIgA para os mesmos alérgenos sem alterações; diminuição significativa da ativação

de basófilos entre os diferentes tempos e nas três concentrações; PPO com polpa de pêsego negativa em todos os doentes em T12. Durante um ano de SLIT observaram-se apenas reações locais (prurido) durante a fase de indução em 60% dos doentes, de resolução espontânea. **Conclusões:** A SLIT-Prup3 parece ser uma opção terapêutica promissora e segura em doentes com alergia grave ao pêsego.

Palavras-chave: Alergia ao pêsego, IgE específica, IgG4 específica, imunoterapia sublingual, prova de provocação oral, proteínas de transferência lipídica, Pru p 3, síndrome LTP, teste de ativação dos basófilos.

ABSTRACT

Introduction: Peach allergy is prevalent, persistent, and potentially severe. The Pru p 3 (lipid transfer protein, LTP) is the main allergen involved. The high risk of severe reactions and the possibility of the majority of patients react to other foods containing LTPs (LTP syndrome), makes this type of allergy an important target for specific immunotherapy (IT). **Aims:** Demonstrate the efficacy and safety of sublingual IT (SLIT) with peach (Pru p 3) in patients with systemic reactions (SR) associated with peach ingestion, by evaluation of clinical and immunological parameters during 12 months. **Methods:** Ten patients (8F, 2M; 19-41; 26.2 years) with a history of peach allergy, confirmed by Oral Food Challenge (OFC) or anaphylaxis symptoms, undergoing SLIT-Prup3 during 1 year. 100% patients had SR (80% anaphylaxis) associated with peach ingestion (60% symptoms with other foods containing LTPs). Patients underwent skin prick tests (SPT) with aeroallergens battery, peach extract peel and pulp, other foods according to symptoms, Pru p 3 and Pho d 2. The SLIT-Prup3 had an induction phase (4 days), followed by a maintenance phase (3 years). We performed SPT and quantified specific IgE, IgA, IgG4 for peach and Pru p 3 before (T0), 1 (T1), 6 (T6) and 12 months (T12) after SLIT initiation; Basophil Activation Test (BAT) with Pru p 3 extract in three concentrations (0.05, 0.5 and 5 µg/mL) at the same times; OFC with peeled peach at T12. **Results:** T0-T12: significant decrease of the mean wheal diameter of SPT with peel and pulp peach ($p=0.0039$), Pru p 3 ($p=0.0078$), sIgE to peach ($p=0.0046$) and Pru p 3 ($p=0.0089$); significant increase of sIgG4 ($p=0.0020$) and no changes of sIgA for the same allergens; significant decrease between time points and concentrations in BAT; negative OFC with peeled peach in all pts at T12. Local reactions (itching) occurred only during the induction phase in 60% of patients (spontaneous resolution), without other reactions along 12 months. **Conclusions:** These data suggests that SLIT-Prup3 seems to be a promising and safe therapeutic option for patients with severe peach allergy.

Keywords: Peach allergy, specific IgE, specific IgG4, sublingual immunotherapy, oral food challenge, lipid transfer proteins, Pru p 3, LTP syndrome, basophil activation test.

INTRODUÇÃO

Alergia a alimentos de origem vegetal é o tipo de alergia alimentar mais comum em adolescentes e adultos^{1,2}. Na região do Mediterrâneo, os frutos frescos (rosáceas e kiwi) e os frutos secos (avelã)

são os alimentos mais frequentemente envolvidos em reações alérgicas alimentares, sendo a sua gravidade variável, mas potencialmente fatal^{1,2}. A alergia a estes frutos é causada sobretudo por sensibilização a panalergénios como as proteínas transportadoras de lipídios (LTPs) ou as profilinas, em que os doentes podem apresentar mo-

nossensibilização ou cossensibilização a estes alérgenos^{2,3}. As LTP são panalergénos, ubiqüitárias em diversas espécies vegetais, clinicamente relevantes na alergia a frutos e vegetais, mas também têm sido descritas em pólenes²⁻⁴. As LTP partilham características estruturais, o que aumenta significativamente a probabilidade de reatividade cruzada clinicamente relevante. Por outro lado, as características moleculares das LTP diminuem a probabilidade de degradação térmica ou digestiva, aumentando assim a probabilidade de absorção sistémica e reações alérgicas graves²⁻⁵.

Deste modo, a alergia alimentar múltipla a frutos e/ou vegetais pode ser causada por sensibilização a um mesmo panalergénio, como a LTP, sendo designada por síndrome de LTP²⁻⁴. Esta síndrome pode ter vários fenótipos de gravidade variável, podendo localizar-se apenas à orofaringe (síndrome de alergia oral-SAO), pele, sistema respiratório ou gastrointestinal, ou ser generalizada (anafilaxia)²⁻⁶. Dos frutos da família das rosáceas, o pêssego é responsável pela maioria das reações alérgicas, sendo a causa mais comum de alergia alimentar a frutos em Portugal, Espanha e Itália, principalmente devido à sensibilização primária à LTP do pêssego (Pru p 3)⁴⁻⁶.

Atualmente, o tratamento da alergia alimentar limita-se à dieta de evicção estrita, de modo a evitar a exposição ao alérgeno e terapêutica de emergência aquando da ocorrência de reações, incluindo a anafilaxia. No entanto, existem situações em que a prevenção se torna mais difícil. Alérgenos não declarados em produtos transformados representam um grande problema de saúde para indivíduos sensibilizados.

A alergia ao pêssego é uma alergia alimentar predominante, persistente ao longo da vida e potencialmente grave, em que a evicção nem sempre é fácil, uma vez que a LTP (Pru p 3) está presente numa grande variedade de alimentos processados e os doentes podem sofrer reações acidentais graves. Além disso, a maioria destes doentes, para além do pêssego, são também alérgicos a outros frutos frescos, secos e/ou vegetais. Dada a sua gravidade, persistência e dificuldade na manutenção da dieta de exclusão com impacto

económico, familiar e social, este tipo de alergia tem sido considerada um alvo importante para imunoterapia (IT)^{7,8}.

Os autores pretendem demonstrar a eficácia e segurança da imunoterapia sublingual (SLIT) com pêssego (Pru p 3) em doentes com reações sistémicas associadas à ingestão de pêssego através da avaliação de parâmetros clínicos e imunológicos ao longo de 12 meses.

MATERIAL E MÉTODOS

Desenho do estudo

Trata-se dum estudo clínico exploratório realizado num serviço de imunoalergologia em Portugal. Foram incluídos dez doentes com alergia ao pêssego, IgE-mediada. O tratamento ativo consiste em extrato alérgénico de pêssego contendo Pru p 3 nativo na concentração de 50 µg/ml.

A eficácia clínica foi avaliada através da prova de provocação oral (PPO) com pêssego antes (T0) e 12 meses (T12) após o início da SLIT-Pru p 3.

As alterações imunológicas foram avaliadas através da determinação da reatividade cutânea nos testes cutâneos por picada (TCP) e do doseamento sérico das imunoglobulinas IgE, IgA e IgG4 específicas para pêssego e Pru p 3 e avaliação, por citometria de fluxo, da expressão de CD63 nos basófilos ativados do doente após estimulação com Pru p 3 (teste de ativação dos basófilos, TAB). Estas avaliações foram efetuadas antes (T0), um mês (T1), seis (T6) e 12 (T12) meses após o início da imunoterapia.

A tolerância foi avaliada através de um criterioso registo de todas as reações adversas ocorridas durante o período reportado de tratamento.

Este estudo clínico foi aprovado pela Comissão de ética e foi realizado de acordo com a Declaração de Helsínquia, a boa prática clínica e os regulamentos locais. Todos os doentes assinaram o consentimento informado.

População

Incluímos 10 doentes (8 do sexo feminino e 2 do sexo masculino, com uma média de idades de 26,2 anos; idades

compreendidas entre 19 e 41 anos) com história de dois ou mais episódios sugestivos e reprodutíveis de reações adversas imediatas após a ingestão de pêssego.

Todos os doentes tiveram reações sistémicas, dos quais 80% anafilaxia, associadas à ingestão de pêssego; 60% sintomas com outros alimentos com LTP, nomeadamente frutos secos, sementes e kiwi.

Os critérios de inclusão foram: idade compreendida entre 18 e 65 anos, reação imediata após ingestão de pêssego mediada por IgE, confirmada por positividade do TCP (> 3 mm) com extrato de pêssego (Bial-Aristegui®, Bilbao, Espanha e ALK-Abelló, S.A Madrid, Espanha), da IgE específica (Phadia, Thermofisher, Upsala, Suécia) e da PPO com pêssego (que não foi realizada em doentes com história de anafilaxia e evidência de sensibilização ao pêssego por TCP e IgE específica). Os critérios de exclusão foram: história de alergia ao látex, imunoterapia com polénes nos 2 anos anteriores ao estudo e qualquer condição médica que seja contraindicação para imunoterapia de acordo com as recomendações da EAACI⁹. Os doentes incluídos no estudo cumpriram todos os critérios de inclusão e não apresentavam nenhum critério de exclusão. O estudo foi realizado com a aprovação da comissão de ética hospitalar e o consentimento informado dos doentes.

Avaliação clínica

A avaliação clínica incluiu um questionário padronizado (idade, sexo, tipo de reação com pêssego; alergia a outros alimentos ou látex; antecedentes pessoais e familiares) e uma história clínica completa para caracterização das reações relatadas induzidas por pêssego (síndrome de alergia oral, urticária generalizada e/ou angioedema, queixas respiratórias e gastrointestinais e anafilaxia).

A reatividade clínica ao pêssego foi avaliada por PPO, realizada de acordo com as orientações da EAACI¹⁰ em Hospital de Dia de Imunoalergologia, exceto naqueles doentes que tiveram TCP e IgE específica positivos para pêssego e uma história convincente de anafilaxia imediatamente após a ingestão de pêssego durante o ano anterior ao estudo.

A reatividade ou tolerância a outros alimentos do síndrome LTP foi cuidadosamente revisto na história clínica e, quando necessário, confirmada por provas de provocação oral.

Protocolo da imunoterapia (SLIT – Pru p 3)

O tratamento foi administrado por via sublingual (técnica sublingual 2 minutos – cospir) e inclui 4 concentrações 0,05, 0,5, 5 e 50 µg/ml de Pru p 3 (Bioportugal®, ALK-Abelló, S.A Madrid, Espanha). A preparação da SLIT – Pru p 3 fez-se a partir do frasco 4 de concentração máxima (50 µg/ml de Pru p 3), de acordo com as instruções do fabricante.

O protocolo de dessensibilização da imunoterapia sublingual com extrato de pêssego (Pru p 3) é constituído por:

- Fase de indução ou fase rápida, durante 4 dias, em Hospital de Dia de Imunoalergologia, com doses crescentes (Quadro 1);

Quadro 1. Descrição da fase de indução do protocolo de dessensibilização com SLIT – Pru p 3

Dia	Frasco	Gotas
1.º dia (Administração com 15 minutos de intervalo)	Frasco 1 (0,05 µg/ml) Etiqueta cinzenta: 1/1000	1 10
	Frasco 2 (0,5 µg/ml) Etiqueta verde: 1/100	1 10
2.º dia (Administração com 15 minutos de intervalo)	Frasco 3 (5 µg/ml) Etiqueta amarela: 1/10	1 10
3.º dia (Administração com 15 minutos de intervalo)	Frasco 4 (50 µg/ml) Não diluído Etiqueta vermelha	1 2 5 10
4.º dia (Dose única)	Frasco 4 (50 µg/ml) Não diluído Etiqueta vermelha	20

– Fase manutenção, a partir do 5.º dia durante 3 anos, em ambulatório, 5 gotas/dia do frasco 4 (10 µg/dia, 7x/semana).

Foram entregues aos doentes diários clínicos, diários, para registo de qualquer evento adverso. Durante a fase de manutenção, os doentes foram mensalmente ao serviço de imunologia para devolver os diários clínicos e os frascos vazios da SLIT para monitorização da segurança e adesão à imunoterapia.

Testes cutâneos

Todos os doentes foram submetidos a TCP com extrato comercial (Bial-Aristegui[®], Bilbao, Espanha) de polpa e pele de pêssego, polpa e pele de maçã, pera, ameixa, cereja, alperce, damasco, morango, amêndoa, kiwi, banana, abacate, manga, laranja, amendoim, avelã, nozes, castanha, pinhão, aipo, melão, ervilha, cenoura, ananás, tomate, soja, látex, ácaros do pó doméstico (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Euroglyphus maynei*, *Blomia tropicalis*), ácaros de armazenamento (*Lepidoglyphus destructor*), *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus* e mistura de pólenes de gramíneas, *Phleum pratense*, *Parietaria judaica*, *Artemisia vulgaris*, *Olea europea*, *Plantago lanceolata*, *Betula verrucosa*, *Platanus acerifolia* e *Chenopodium album*, LTP do pêssego (Pru p 3) e profilina de palmeira (Pho d 2).

Foram também realizados TCP com extrato de pele e polpa de pêssego e de SLIT-Pru p 3 na concentração de 50 µg/ml (Alk-Abelló, Madrid, Espanha) em T0, T1, T6 e T12.

Os testes foram efetuados de acordo com as recomendações da Academia Europeia da Alergologia e Imunologia Clínica¹¹. Foi utilizado soro fisiológico como controlo negativo e fosfato de histamina (10 mg/ml) como controlo positivo. A leitura foi realizada após 15 minutos, sendo consideradas reações positivas as que tinham uma pápula com diâmetro médio superior a 3 mm em relação à reação do controlo negativo.

Prova de provocação oral com pêssego

A PPO com polpa de pêssego foi efetuada antes do início do estudo, exceto se história de anafilaxia (T0) e

12 meses (T12) após o início da SLIT-Pru p 3, no Hospital de Dia de Imunologia, fora da estação polínica e de acordo com as recomendações da EAACI¹⁰. Até sete doses, foram administradas com intervalos de 30 minutos e após a última dose o doente permaneceu em observação durante duas horas e meia. O protocolo de provocação consistiu na administração de doses crescentes de polpa de pêssego até uma dose cumulativa de 200 g (cerca de 1,5 pêssegos de tamanho médio), que corresponde a cerca de 3249 µg de Pru p 3¹². As provocações foram interrompidas aquando do aparecimento dos primeiros sintomas objetivos ou após três doses consecutivas com SAO. Este último critério foi incluído para segurança dos doentes, visto que os doentes alérgicos ao pêssego frequentemente apresentam SAO como única manifestação clínica, tentando-se evitar uma reação sistémica (RS) potencialmente grave que pode aparecer com doses mais elevadas de pêssego. A reação foi classificada em local (RL, se os sintomas fossem restritos à pele ou mucosas após contacto direto com o alérgeno, como a SAO, ou queixas digestivas isoladas) e sistémica-RS (envolvendo órgãos distantes do local de contacto inicial com o alérgeno, exigindo absorção e disseminação, ou seja, urticária e/ou angioedema, sintomas respiratórios, anafilaxia).

Parâmetros laboratoriais

Foi colhida uma amostra de sangue periférico a todos os doentes, em T0, T1, T6 e T12, para doseamento sérico de anticorpos IgE, IgA e IgG4 específicos para pêssego e Pru p 3 e teste de ativação dos basófilos (TAB).

Doseamento sérico de anticorpos específicos IgE, IgA e IgG4

Antes do início da imunoterapia com pêssego SLIT-Pru p 3 foram determinadas as concentrações séricas dos anticorpos específicos IgE para pêssego, rPru p1, rPru p3, rPru p4, em todos os doentes, e o doseamento sérico de IgE, IgA e IgG4 específicos para pêssego e Pru p 3 em T0, T1, T6 e T12 por imunoensaio ImmunoCAP 100™ (Phadia, Thermofisher, Upsala, Suécia), de acordo com as instruções do fabricante

O teste foi considerado positivo para valores superiores a 0,10 kUA/L.

Teste de ativação dos basófilos (TAB)

A expressão de CD63, marcador de superfície dos basófilos ativados, foi quantificada por citometria de fluxo pelo método Flow2 CAST® (Bühlmann, Suíça), de acordo com as instruções do fabricante. Utiliza um controlo positivo, o FMLP, que consiste em pequenos péptidos que induzem a libertação de histamina pelos basófilos, e um controlo negativo (solução tampão). Os 100 µl de sangue total heparinizado foi incubado com o fator de estimulação IL-3 e extrato estandarizado de alergénio – Pru p 3 do pêsego em 3 concentrações: 0,05, 0,5 e 5 µg/ml, em T0, T1, T6 e T12. Efetuou-se uma dupla marcação das células com os anticorpos monoclonais (anti-IgE/CD63) marcados com fluorocromos.

A aquisição foi realizada num citómetro FACSCalibur (BD – Biosciences, São José, EUA) nas duas horas após a preparação da amostra. Os resultados foram considerados positivos quando se verificou uma percentagem de ativação superior a 5 % com índice de estimulação igual ou superior a dois.

Análise estatística

Para a análise estatística foi utilizado o *software* GraphPad Prism versão 5.00 (Graphpad Software Inc., San Diego, EUA). Os dados foram testados para existência de distribuição gaussiana (com $p > 0,05$ em todas as variáveis numéricas). Na comparação entre dois grupos foi usado o teste t de Student emparelhado ou não emparelhado, conforme a situação. Para avaliar a presença de diferenças estatisticamente significativas entre três grupos foi utilizado o teste ANOVA. Foram considerados como significativos valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

População de estudo

Aquando da análise descrita, 10 doentes, 8 do sexo feminino e 2 do sexo masculino, com uma média de idades

de 26,2 anos (idades compreendidas entre 19 e 41 anos) tinham completado pelo menos 12 meses de imunoterapia com SLIT-Pru p 3. Seis (60%) apresentavam sintomas com outros alimentos relacionados com síndrome-LTP, nomeadamente frutos secos, sementes e kiwi. Não havia história de alergia a alimentos de outros grupos.

Eficácia

Prova de provocação oral com polpa de pêsego

A prova de provocação oral com polpa de pêsego, em T12, foi negativa nos 10 doentes a fazerem SLIT-Pru p 3 por um período de 12 meses.

Resposta ao extrato de pêsego pele e polpa e de Pru p 3 nos TCP (Figura 1)

Na população estudada, o diâmetro médio da pápula no TCP diminuiu significativamente ($p=0,0039$), de uma média de 8,1 (6-12 mm) com pele e 5,2 mm (4-8 mm) com polpa de pêsego em T0 para 4 mm (0-8 mm) e 0,6 mm (0-3 mm), respetivamente ao fim de 12 meses de SLIT-Pru p 3. Nos TCP com Pru p 3 observou-se, igualmente, uma diminuição significativa ($p=0,0078$) do diâmetro médio das pápulas, de 11,2 mm (7-25 mm) em T0 para 7 mm (4-10 mm) em T12.

Quantificação de IgE específica para extrato de pêsego e Pru p 3 (Figura 2)

Na população estudada, ao fim de 12 meses de SLIT-Pru p 3 foi verificada uma diminuição significativa de IgE específica para pêsego ($p=0,0046$) e Pru p 3 ($p=0,0089$) quando comparada com o valor de T0.

Quantificação de IgG4 específica para extrato de pêsego e Pru p 3 (Figura 3)

Na população estudada, ao longo dos 12 meses de imunoterapia com SLIT-Pru p 3 foi observado um aumento significativo de IgG4 específica para pêsego ($p=0,0020$) e Pru p 3 ($p=0,0020$) quando comparado com o valor basal. Este aumento foi demonstrado de uma forma significativa logo a partir do primeiro mês (T1) de imunote-

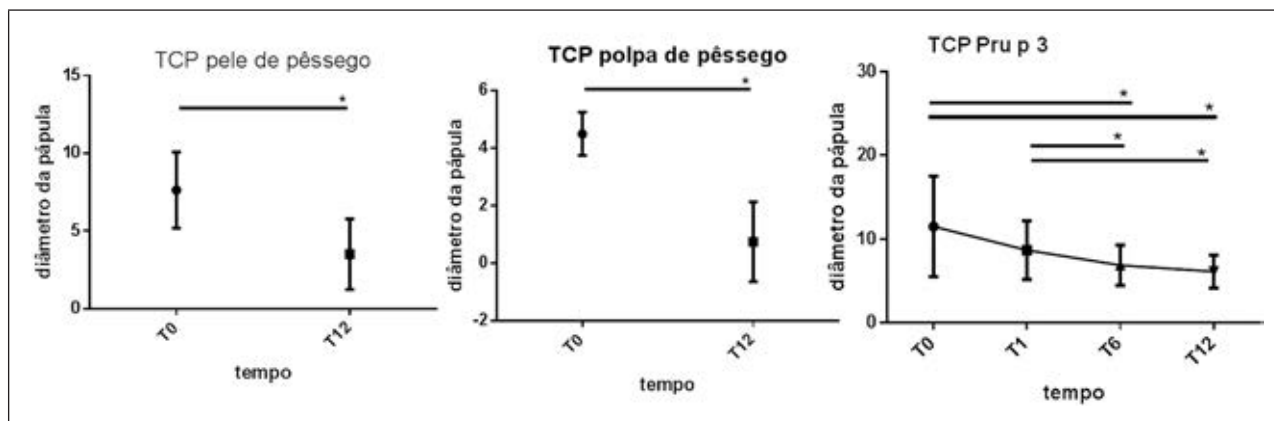


Figura 1. Comparação da reatividade cutânea com extratos de pêsego (pele e polpa) e Pru p 3 antes(T0) e ao fim de 12 meses(T12) de SLIT – Pru p 3

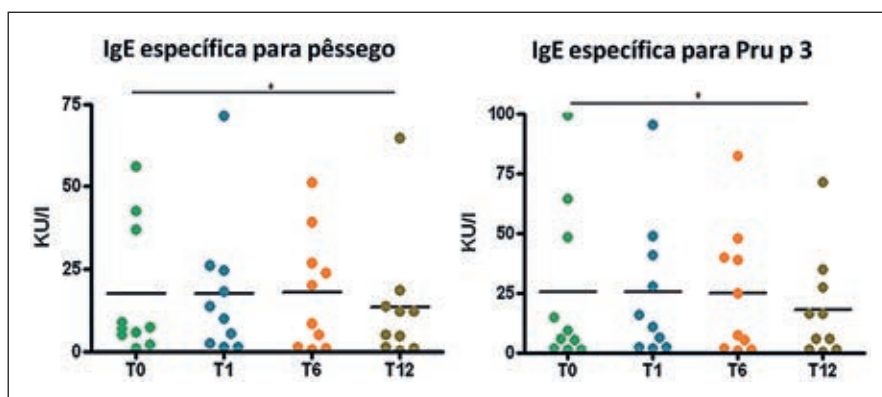


Figura 2. Comparação do valor de IgE específica (KU/L) para pêsego e Pru p 3, antes (T0), ao fim de 1 (T1), 6 (T6) e 12 (T12) meses de SLIT – Pru p 3

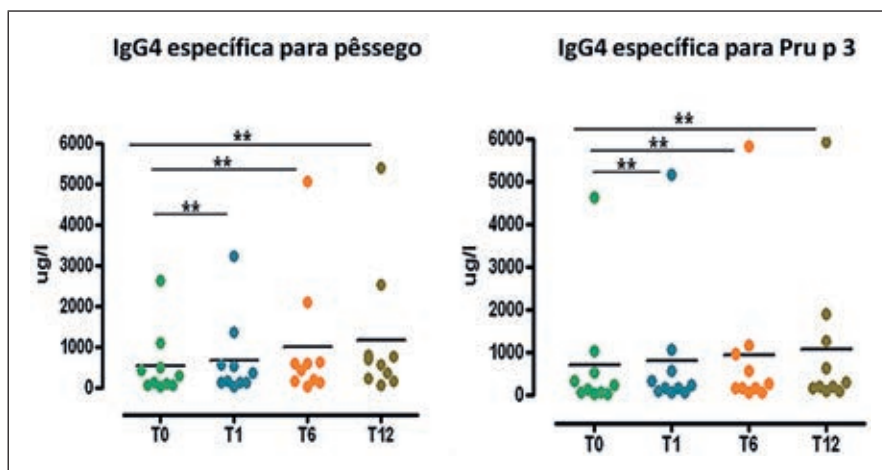


Figura 3. Evolução do doseamento de IgG4 específica (KU/L) para pêsego e Pru p 3, antes (T0), ao fim de 1 (T1), 6 (T6) e 12 (T12) meses de SLIT – Pru p 3

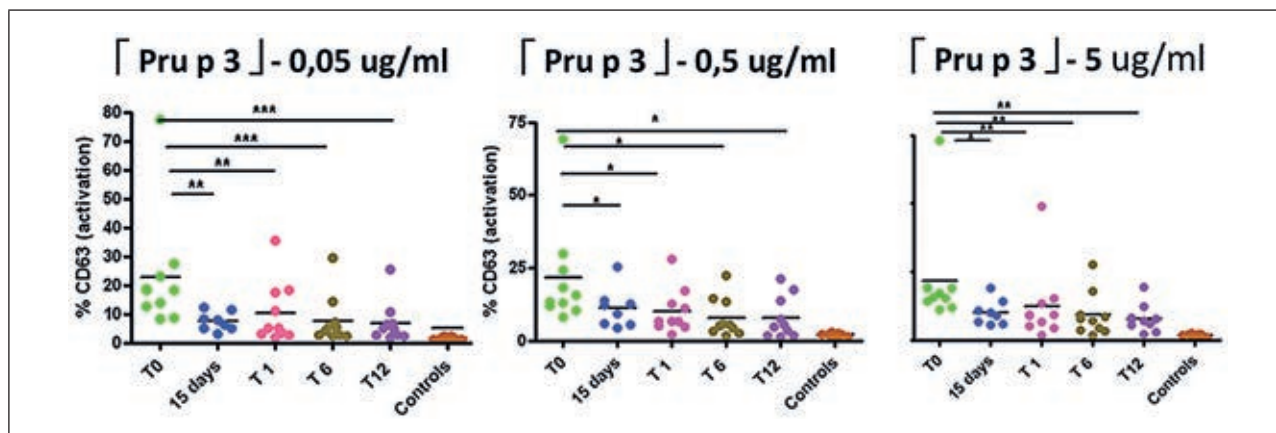


Figura 4. Evolução da expressão de CD63 nos basófilos ativados por Pru p 3 em três concentrações antes (T0), ao fim de 1 (T1), 6 (T6) e 12 (T12) meses de SLIT – Pru p 3

rapia, quer para extrato de pêssego ($p=0,0078$), quer para Pru p 3 ($p=0,0039$), mantendo esta evolução crescente em T6 para pêssego ($p=0,0020$) e Pru p 3 ($p=0,0020$).

Quantificação de IgA específica para extrato de pêssego e Pru p 3

Na população estudada, não foram observadas alterações dos valores de IgA sérica específica para pêssego (pele e polpa) e Pru p 3 ao longo dos 12 meses de imunoterapia com pêssego.

Teste de ativação dos basófilos (Figura 4)

Na população estudada, ao longo dos 12 meses de imunoterapia com SLIT-Pru p 3, foi observado uma diminuição significativa da expressão de CD63 nos basófilos ativados nas 3 concentrações de Pru p 3 (0,05, 0,5 e 5 $\mu\text{g/ml}$) e entre os diferentes tempos. Esta diminuição foi significativa desde o primeiro mês de imunoterapia, com maior impacto na concentração de 5 μg de Pru p 3 ($p<0,001$).

Segurança

Durante os 12 meses de SLIT-Pru p 3, todos os doentes mostraram uma boa adesão à vacina, cumprindo integralmente o protocolo definido. Foram apenas registadas reações locais ligeiras (prurido orofaríngeo) em

60% dos doentes durante a fase de indução, de resolução espontânea. Não ocorreram reações sistémicas.

DISCUSSÃO

A alergia alimentar é a primeira causa de anafilaxia na comunidade, havendo um risco elevado de reações adversas graves (cerca de 15-20 % por ano) por alérgenos ocultos, apesar das dietas de eviçao restritas¹. Nos últimos anos, a alergia aos frutos frescos tem sido alvo de investigação crescente, dada a sua elevada prevalência, potencial gravidade e persistência. Na área mediterrânica, a alergia ao pêssego é uma boa expressão das alergias alimentares relacionadas com LTP, pela sua prevalência, persistência e potencial gravidade. A presença oculta de Pru p 3 em produtos alimentares manufacturados pode desencadear reações acidentais graves, incluindo anafilaxia e a sensibilização primária ao LTP do pêssego pode associar-se a alergia a múltiplos alimentos (frutos frescos e secos e vegetais) que contêm LTP, tornando difícil a eviçao alimentar, com um importante impacto económico, familiar e social. Neste contexto, a alergia ao pêssego tem sido considerada como um alvo na procura de um tratamento eficaz²⁻⁶.

Este é o seguimento do primeiro estudo clínico de imunoterapia para alergia ao pêssego numa população de 10 doentes adultos publicado em Portugal. Neste estudo, os autores pretenderam avaliar se a dose e o esquema utilizados na imunoterapia com Pru p 3 administrada por via sublingual teria eficácia clínica, sem comprometer a segurança do tratamento. Foi estudada uma população de doentes portugueses com manifestações sistémicas, incluindo anafilaxia em 80% dos casos, de alergia ao pêssego. Verificámos que todos os doentes tratados com a SLIT-Pru p 3 durante 12 meses passaram a tolerar polpa de pêssego na dose cumulativa de 200 g, o que corresponde a 1,5 pêssegos de tamanho médio. Em paralelo com a eficácia clínica, observámos em todos os doentes alterações imunológicas subjacentes ao mecanismo de atuação da imunoterapia, nomeadamente diminuição da ativação dos mastócitos cutâneos, traduzida pela diminuição significativa da reatividade cutânea com os 3 extratos – pele e polpa de pêssego e Pru p 3; aumento significativo de IgG4, observada desde o primeiro mês de imunoterapia; diminuição da ativação dos basófilos circulantes, traduzida pela diminuição significativa da expressão de CD63 também desde o primeiro mês de tratamento. A eficácia clínica acompanhou-se duma elevada segurança, em que observámos apenas reações locais ligeiras de prurido orofaríngeo em 60% dos doentes, exclusivamente na fase de indução.

A imunoterapia a alergénios (ITA) ou vacina anti-alérgica (ou dessensibilização) é o único tratamento capaz de atuar sobre a causa e não apenas sobre os sintomas da alergia, modelando a resposta imunitária com capacidade de alterar a história natural da doença alérgica¹³. A ITA consiste na administração de doses pequenas de alérgeno até à dose de manutenção ao longo de um determinado período de tempo, de modo a induzir tolerância clínica e imunológica a esse alergénio, que se traduz pelo aumento de linfócitos T reguladores que suprimem os linfócitos Th2, mastócitos, basófilos, eosinófilos e a produção de IgE específica e induzem a produção de IgG4 específica de alergénio.

A utilização de imunoterapia nas doenças alérgicas mediadas por IgE foi reportada pela primeira vez em 1911 por Leonhard Noon e John Freeman, no tratamento da rinite polínica através da via subcutânea. Posteriormente, surgiram as vias sublinguais e epicutâneas.

Para além dos mecanismos referidos, a eficácia da SLIT resulta, primordialmente, da interação do alérgeno com as células de Langerhans na mucosa oral, cruciais na indução de tolerância aos antígenos, levando à diminuição da resposta alérgica¹³⁻¹⁵. Os benefícios a longo prazo da SLIT, em doses ótimas, estão já bem demonstrados. Mesmo após descontinuação, durante 1 e 2 anos, foi evidente a indução de remissão da doença, incluindo modificação do seu perfil, aspetos consistentes com a indução de tolerância específica ao alergénio¹³⁻¹⁵. Além disso, os dados obtidos a partir de biópsias indicam claramente que a fisiopatologia da mucosa bucal desempenha um papel fundamental na indução de tolerância ao alérgeno administrado por via sublingual, em indivíduos tratados com SLIT em altas doses¹³⁻¹⁵. Para o tratamento da asma e rinite alérgica, a SLIT tem demonstrado eficácia clínica e um perfil de segurança favorável^{14,16}. Os primeiros relatos publicados de SLIT para alergia alimentar surgiram há mais de uma década, em 2003, quando um caso de sucesso de SLIT para alergia a kiwi foi descrito numa doente com uma história de múltiplas reações anafiláticas ao fruto, mantendo-se a eficácia da dessensibilização mesmo após suspensão da SLIT^{17,18}. Seguiram-se diversos protocolos sublinguais ou orais-sublinguais não estandardizados na alergia ao leite, ovo e amendoim e um estudo duplo-cego controlado com placebo de SLIT com avelã^{15,19-22}.

Aquando da submissão deste trabalho, existiam na literatura apenas 4 artigos publicados (três séries do mesmo grupo de trabalho espanhol e 1 caso clínico português) sobre a SLIT com extrato de pêssego usando Pru p 3 nativo. Nesses estudos, os autores demonstraram eficácia clínica e imunológica com aumento da tolerância ao pêssego e num caso a outros alimentos da síndrome LTP, mas os trabalhos referem-se a períodos curtos (6 meses) e, no

máximo de 12 meses, no caso isolado português^{7,8,23,28}. Em Portugal, existe apenas um caso reportado, em 2010, por Pereira C *et al*⁷, que descreveu uma doente de 40 anos que desde os 36 tinha sintomas sistémicos com múltiplos frutos/vegetais, nomeadamente frutos frescos da família das rosáceas, frutos secos, legumes, cereais e especiarias. Foi submetida a uma SLIT (BialAristegui®) com extrato nativo de Pru p 3 (40 µg/ml), cujo protocolo incluía uma fase rápida ao longo de 1 dia, iniciada por 1 gota até 5 gotas, e uma fase de manutenção que consistia em 5 gotas/dia, 5 dias/semana (dose cumulativa 200 µg Pru p 3/mês). Os resultados descritos referem-se a um período de 12 meses, sendo que 4 meses após o início do tratamento foi observada uma diminuição da reatividade cutânea, sem alterações relevantes nos valores séricos de IgE, IgG, IgG1 e IgG4 específicas para Pru p 3, embora com PPO para pêssigo negativa, em que a doente já não tinha grandes restrições alimentares, com exceção de nozes e pimenta. Três estudos randomizados, duplo-cegos, controlados por placebo com SLIT de pêssigo (Pru p 3) realizados conjuntamente em dois centros de alergologia em Espanha, foram publicados em 2009, 2010 e em 2014^{8,23,28}. Foram avaliados os parâmetros segurança e eficácia clínica através de realização de PPO em dupla ocultação controlada por placebo, TCP, doseamento de IgE e IgG4 e no estudo mais recente também TAB. Em comparação com o grupo placebo, os doentes alérgicos ao pêssigo submetidos a tratamento ativo com SLIT-Pru p 3 durante 6 meses conseguiram tolerar uma quantidade de pêssigo tripla da inicial, apenas com reações locais. Paralelamente, os autores verificaram uma diminuição da reatividade cutânea para pêssigo e elevação significativa de sIgG4, mas sem alterações significativas da sIgE, incluindo para outros alérgenos purificados (rMal d 1, rMal d 4 e nArt v 3) e sem aparecimento de novas sensibilizações.

O presente estudo reporta um período superior ao descrito, nomeadamente 12 meses, onde foi possível documentar não só eficácia clínica e segurança mas, também, alterações imunológicas sustentadas, que podem, eventualmente, antever uma eficácia a longo prazo, mesmo

após a descontinuação da imunoterapia. Ao fim de 12 meses de imunoterapia, em paralelo com a eficácia clínica demonstrada em PPO negativa com polpa de pêssigo, observámos alterações imunológicas subjacentes à eficácia da ITA idênticas às descritas na literatura, nomeadamente diminuição significativa da reatividade cutânea, aumento significativo dos anticorpos específicos protetores da resposta alérgica – IgG4 e diminuição significativa da resposta IgE específica, não só para Pru p 3 mas, também, para pêssigo. Uma diminuição da ativação dos basófilos, específica de alérgénio, tem sido demonstrada após imunoterapia subcutânea. No entanto, poucos estudos avaliaram como a SLIT com inalantes ou alimentos atua nos basófilos e/ou nos seus mediadores. Além disso, esses estudos são difíceis de comparar devido à sua heterogeneidade²⁴⁻²⁷. Num trabalho publicado recentemente pelos autores referidos, com SLIT de pêssigo (dose de manutenção de 10 µg Pru p 3, 3x/semana, ou seja, 30µg Pru p 3 / semana), houve uma maior percentagem de basófilos ativados após a estimulação com pêssigo pele e polpa e, também, com rPru p 3 ao fim de 1 e 6 meses de SLIT²⁸. No presente estudo, observámos uma diminuição significativa da percentagem de basófilos ativados quantificada pela expressão de CD63 após estimulação com Pru p 3 nas três concentrações utilizadas (0,05, 0,5 e 5 µg/mL) logo a partir do primeiro mês de tratamento. Este achado resulta provavelmente de uma maior dose de manutenção da vacina utilizada (70 µg/semana), em comparação com o estudo publicado.

Por outro lado, observámos reações adversas (apenas reações locais ligeiras e resolução espontânea em 60% dos doentes) numa percentagem inferior à dos outros estudos publicados (98,8%) e não ocorreu nenhuma reação sistémica, incluindo nos doentes com história de anafilaxia.

CONCLUSÕES

Neste estudo, a SLIT com Pru p 3 parece ser uma opção terapêutica promissora, segura e capaz de modi-

ficar a reatividade clínica, tendo sido bem tolerada em doentes com alergia grave ao pêssigo.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Bioportugal[®] e à Themofisher Scientific[®] a ajuda financeira para a concretização deste trabalho.

Contacto

Ana Célia Costa
 Serviço de Imunoalergologia, Hospital de Santa Maria,
 Centro Hospitalar Lisboa Norte
 Av. Prof. Egas Moniz,
 1649-035 Lisboa
 E-mail: anaceliacosta@sapo.pt

REFERÊNCIAS

- Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 133: 291-307.
- Van Winkle RC, Chang C. The biochemical basis and clinical evidence of food allergy due to lipid transfer proteins: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunology* 2014; 46: 211-24
- Pascal M, Munõz-Cano R, Reina Z, Palacín A, Vilella R, Picado C, et al. Lipid transfer protein syndrome: clinical pattern, cofactor effect and profile of molecular sensitization to plant-foods and pollens. *Clin Exp Allergy* 2012; 42: 1529-39.
- Rossi RE, Monasterolo G, Canonica GW, Passalacqua G. Systemic reactions to peach are associated with high levels of specific IgE to Pru p 3. *Allergy* 2009; 64: 1795-1798.
- Fernández-Rivas M, González-Mancebo E, Rodríguez-Pérez R, Benito C, Sánchez-Monge R, Salcedo G, et al. Clinically relevant peach allergy is related to peach lipid transfer protein, Pru p 3, in the Spanish population. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112: 789-95.
- Rodrigues-Alves R, Lopes A, Pereira-Santos MC, Lopes-Silva S, Spínola-Santos A, Costa C, et al. Clinical, anamnestic and serological features of peach allergy in Portugal. *Int Arch Allergy Immunol* 2009;149: 65-73.
- Pereira C, Bartolomé B, Asturias JA, Ibarrola I, Tavares B, Loureiro G, et al. Specific sublingual immunotherapy with peach LTP (Pru p 3). One year treatment: a case report. *Cases Journal* 2009;2: 6553.
- Fernandez-Rivas M, Fernandez SG, Nadal JA, Díaz de Durana MD, García BE, González-Mancebo E, et al. Randomized double-blind, placebo-controlled trial of sublingual immunotherapy with a Pru p 3 quantified peach extract. *Allergy* 2009; 64: 876-83.
- Alvarez-Cuesta E, Bousquet J, Canonica GW, Durham SR, Malling HJ, Valovirta E. EAACI, Immunotherapy Task Force. Standards for practical allergen-specific immunotherapy. *Allergy* 2006; 61(Suppl 82):1-20.
- Bindslev-Jensen C, Ballmer-Weber BK, Bengtsson U, Blanco C, Ebner C, Hourihane J, et al. Standardization of food challenges to foods – position paper from reactions to foods- position paper from European Academy of Allergology and clinical Immunology. *Allergy* 2004; 59: 690-97.
- Heinzerling L, Mari A, Bergmann KC, Bresciani M, Burbach G, Darso U, et al. The skin prick test – European standards. *Clinical and Translational Allergy* 2013; 3:1-10.
- Duffort OA, Polo F, Lombardero M, Díaz- Perales A, Sánchez-Monge R, García-Casado G. Immunoassay to quantify the major peach allergen Pru p 3 in foodstuffs. Differential allergen release and stability under physiological conditions. *J Agric Food Chem* 202; 50:7738-41.
- Casale TB, Stokes JR. Immunotherapy: What lies beyond. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133:612-9.
- Canonica GW, Cox L, Pawankar R, Baena-Cagnani CE, Blaiss M, Bonini S, et al. Sublingual immunotherapy: World Allergy Organization position paper 2013 update. *World Allergy Organization Journal* 2014; 7:1-52.
- Jones SM, Burks AW, Dupont C. State of the art on food allergen immunotherapy: Oral, sublingual, and epicutaneous. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133: 318-23.
- Horak F, Ziegelmayer P, Ziegelmayer R, Lemell P, Devillier P, Montagut A, et al. Early onset of action of a 5-grass-pollen 300-IR sublingual immunotherapy tablet evaluated in an allergen challenge chamber. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124:471-7.
- Mempel M, Rakoski J, Ring J, Ollert M. Severe anaphylaxis to kiwi fruit: Immunologic changes related to successful sublingual allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:1406-9.
- Kerzl R, Simonowa A, Ring J, Ollert M, Mempel M. Life-threatening anaphylaxis to kiwi fruit: protective sublingual allergen immunotherapy effect persists even after discontinuation. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 507-8.
- Keet CA, Frischmeyer-Guerrero PA, Thyagarajan A, Schroeder JT, Hamilton RG, Boden S, et al. The safety and efficacy of sublingual and oral immunotherapy for milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:448-55.
- Kim EH, Bird JA, Kulis M, Laubach S, Pons L, Shreffler W, et al. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: clinical and immunologic evidence of desensitization. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:640-6.
- Enrique E, Pineda F, Malek T, Bartra J, Basagana M, Tella R, et al. Sublingual immunotherapy for hazelnut food allergy: a randomized,

- double-blind, placebo controlled study with a standardized hazelnut extract. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116: 1073-9.
22. Moran TP, Vickery BP, Burks AW. Oral and sublingual immunotherapy for food allergy: current progress and future directions. *Curr Opin Immunol* 2013; 25: 781–87.
 23. García BE, González-Mancebo E, Barber D, Martín S, Tabar AI, Díaz de Durana AM, *et al.* Sublingual immunotherapy in peach allergy: Monitoring molecular sensitizations and reactivity to apple fruit and platanus pollen. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2010; 20:514-20.
 24. Van Overtvelt L, Baron-Bodo V, Horiot S, Moussu H, Ricarte C, Horak F, *et al.* Changes in basophil activation during grass-pollen sublingual immunotherapy do not correlate with clinical efficacy. *Allergy* 66:1530-7.
 25. Kucera P, Cvackova M, Hulikova K, Juzova O, Pacht J. Basophil activation can predict clinical sensitivity in patients after venom immunotherapy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2010; 20:110-6.
 26. Mikkelsen S, Bibby BM, Dolberg MKB, Dahl R, Hoffmann HJ. Basophil sensitivity through CD63 or CD203c is a functional measure for specific immunotherapy. *J Clinical and Molecular Allergy* 2010; 8:1-9.
 27. Zitnik SE, Vesel T, Avcin T, Silar M, Kosnik M, Korosec P. Monitoring honeybee venom immunotherapy in children with the basophil activation test. *Pediatr Allergy Immunol* 2012;23:166-72.
 28. Garrido-Fernández S, García BE, Sanz ML, Echechipía S, Lizaso MT, Tabar AI. Are basophil activation and sulphidoleukotriene determination useful tests for monitoring patients with peach allergy receiving sublingual immunotherapy with a Pru p 3-Enriched Peach Extract? *J Investig Allergol Clin Immunol* 2014; 24:106-13.