

# Polimorfismos de citocinas en la tolerancia frente a la hipersensibilidad a los medicamentos

María Luisa Rivera-Reigada<sup>1</sup>, Esther Moreno<sup>2,3,4</sup>, Catalina Sanz-Lozano<sup>3,5</sup>, Ignacio Dávila<sup>2,3,4</sup>, María Isidoro-García<sup>3,6</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Análisis Clínicos. Complejo Hospitalario de Ourense.

<sup>2</sup> Servicio de Inmunoalergia. Hospital Universitario de Salamanca.

<sup>3</sup> Instituto Biosanitario de Salamanca, IBSAL.

<sup>4</sup> Departamento de Ciencias Biomédicas y del Diagnóstico. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.

<sup>5</sup> Departamento de Microbiología y Genética. Universidad de Salamanca.

<sup>6</sup> Servicio de Bioquímica Clínica. Sección de Biología Molecular y Farmacogenética. Hospital Universitario de Salamanca.

## Introducción

Se pueden considerar a las reacciones adversas por fármacos (RAM) como cualquier efecto perjudicial e indeseable producido por un fármaco, incluyéndose como tales las presentadas por los pacientes que, voluntaria o accidentalmente, sufren una sobredosis, ya que esto es un riesgo posible y previsible al prescribir un medicamento [1, 2, 3].

Sobre la base de una adaptación de Rawlins y Thompson [4], las reacciones adversas producidas por fármacos se dividen en dos grupos: las RAM de tipo A (*Augmented*), que son dependientes de la dosis, predecibles, se relacionan con la actividad farmacológica y pueden aparecer en cualquier individuo (afectan a pacientes no susceptibles). En muchos casos son inevitables, lo que obliga a sopesar las ventajas e inconvenientes de iniciar un tratamiento. Son las RAM más frecuentes y suponen hasta el 80% - 90% de las RAM [5, 6]. Se suelen descubrir antes de la comercialización del medicamento. Dentro de ellas se incluyen la sobredosis/toxicidad, los efectos colaterales, los efectos secundarios o indirectos y las interacciones farmacológicas [7, 8, 9]. Por otra parte, las RAM de tipo B (*Bizarre*) se caracterizan por que habitualmente no dependen de la dosis del fármaco, son impredecibles en su mayoría y afectan solamente a determinados individuos. La predisposición individual para presentar estas reacciones depende de características genéticas en individuos susceptibles (idiosincrasia, intolerancia) o de la posibilidad de desarrollar una respuesta inmunológica o no inmunológica (hipersensibilidad, en ocasiones también asociada a factores genéticos). Estas reacciones, en muchos casos graves, limitan el uso de fármacos que por otra parte son eficaces, y causan la retirada de fármacos tras su comercialización.

Las RAM de tipo B se pueden subdividir en idiosincrasia, intolerancia e hipersensibilidad [10, 5]. Las reacciones de hipersensibilidad son RAM (producidas por principios activos y excipientes) que se presentan clínicamente con signos y síntomas que difieren de los efectos farmacológicos del medicamento. Las reacciones de hipersensibilidad están mediadas por mecanismos inmunológicos y otros tipos de mecanismos (no inmunológicos) y solamente afectan a individuos susceptibles. Al igual que el resto de las reacciones de tipo B, habitualmente son independientes de la dosis, aunque algunas reacciones puedan tener una cierta dependencia de la dosis, como es el caso de los AINE, los anticonvulsivos y el alopurinol.

Según la WAO, las reacciones de hipersensibilidad pueden ser alérgicas y no alérgicas [11, 12]. Las reacciones de hipersensibilidad no alérgicas a fármacos se presentan clínicamente con síntomas y signos que mimetizan reacciones alérgicas [11], y en ellas están implicados mediadores liberados a partir de mecanismos no inmunológicos [13, 14]. Parece que la liberación de histamina a partir de la desgranulación de mastocitos y basófilos debida a un mecanismo no inmunológico constituye el mecanismo patogénico más frecuentemente implicado en estas reacciones, si bien existen otros mecanismos. Por su parte, las reacciones de hipersensibilidad a fármacos con base inmunológica son las reacciones alérgicas a fármacos (RAF) o alergia a fármacos (AF) [11, 15, 12]. Constituyen el 6% - 10% de todas las RAM, pero incluyen muchas de las reacciones adversas a fármacos graves, e incluso el 10% de ellas pueden ser mortales [16, 11].

### **Definición de reacción alérgica a fármacos (RAF)**

La reacción alérgica a un fármaco es una reacción inmunológicamente mediada que se caracteriza por ser específica del fármaco inductor, estar mediada por anticuerpos o linfocitos, remitir al suspender el medicamento y recurrir si el paciente se vuelve a re-exponer al fármaco [17]. El organismo se sensibiliza tras una exposición previa a ese fármaco y puede existir hipersensibilidad a otras sustancias de estructura química similar [18]. Habitualmente son impredecibles y generalmente independientes de la dosis, siguiendo las características de las RAM de tipo B. No obstante, pueden existir factores de riesgo determinantes de las RAF, que pueden depender del fármaco o del paciente [19].

### **Clasificación de las reacciones alérgicas a fármacos**

En 1966, Levine, clasificó las RAF dependiendo del tiempo de aparición de los síntomas clínicos tras la administración del fármaco en: inmediatas, aceleradas y tardías [20]. Las reacciones inmediatas ocurren en menos de 1 hora tras la toma del fármaco y pueden estar mediadas por anticuerpos IgE. Con esta cronología también se manifiestan las reacciones de hipersensibilidad a fármacos no mediadas inmuno-

lógicamente. Las reacciones aceleradas aparecen entre 6 - 48 horas y las tardías son aquellas que aparecen a partir de las 48 horas tras la administración del fármaco. En la patogenia de las reacciones tardías se ha demostrado la implicación de los linfocitos T como células efectoras. Las reacciones aceleradas son más difíciles de diferenciar, debido al solapamiento existente con los otros dos tipos de reacciones. Si bien en un principio se definió a las reacciones aceleradas como mediadas por anticuerpos IgE, los datos actuales apuntan a que la mayoría son reacciones mediadas por células T [21].

Por ello, resulta más útil diferenciar las reacciones de hipersensibilidad a fármacos como inmediatas y no inmediatas, incluyéndose en estas últimas las reacciones aceleradas y tardías [11].

Los antibióticos beta-lactámicos (BL) constituyen la causa más frecuente de reacciones de hipersensibilidad mediadas por un mecanismo inmunológico específico [22, 23].

### **Aspectos genéticos de la hipersensibilidad a los beta-lactámicos**

Las reacciones de hipersensibilidad a los beta-lactámicos constituyen una afección multifactorial, cuya gravedad depende de factores genéticos y factores ambientales. Se ha postulado que la interacción entre factores ambientales y genes específicos durante la exposición al medio ambiente en la vida temprana contribuye al posterior desarrollo de la alergia. Determinados factores como la edad, sexo, ingesta de alcohol, alteraciones preexistentes e infecciones virales pueden ser relevantes en el desarrollo de reacciones de hipersensibilidad inducidas por fármacos. Además de estos factores, la susceptibilidad genética es un probable determinante en el desencadenamiento, la gravedad y el patrón de las manifestaciones clínicas de estas reacciones [24]. Sin embargo, todavía no se conocen bien los factores genéticos subyacentes al riesgo de desarrollar reacciones de hipersensibilidad a fármacos. En los últimos años se han identificado numerosos genes relacionados con reacciones de hipersensibilidad a fármacos. Los estudios de polimorfismos en dichos genes han intentado determinar su influencia en el desarrollo de la alergia a fármacos.

Los factores genéticos implicados en el caso de mecanismos mediados por IgE han sido estudiados principalmente en la hipersensibilidad a los BL y han aparecido relacionados con polimorfismos localizados en genes del antígeno leucocitario humano (*HLA A2* y *HLA DRB3*) [25], en genes de citocinas (*IL4*, *IL13*, *IL4RA*, *IL10*, *TNFA*, *IFNG* e *IL18*) [26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40], en el gen del receptor de alta afinidad para la IgE (*FCER1B*) [41] y en los genes *NOD1* y *NOD2*, surgiendo su vinculación con los mecanismos que subyacen en el proceso inflamatorio y/o en la atopia [42]. Las reacciones de hipersensibilidad tardías mediadas por células T también han sido asociadas con variantes localizadas en genes *HLA* [25, 43].

## Material y métodos

Para este estudio se seleccionaron 202 individuos que acudieron a la consulta de Alergia del Hospital Universitario de Salamanca para realizar un estudio de alergia a los beta-lactámicos. En todos los casos los pacientes firmaron un consentimiento informado. Se recogieron de modo estandarizado los datos de la reacción. A todos los pacientes se les realizaron pruebas cutáneas intraepidérmicas con una batería adaptada de aeroalérgenos. Se incluyeron únicamente pacientes con reacciones inmediatas.

Los pacientes con un resultado positivo constituyeron el grupo activo (98 pacientes), mientras que aquellos con un estudio negativo y que toleraron una dosis completa del BL implicado constituyeron el grupo control o tolerante (104 individuos).

### Pruebas cutáneas

El estudio de alergia a los BL se basó en el protocolo del grupo ENDA [44]. Brevemente, se realizaban cutáneas intraepidérmicas; si eran negativas se realizaban pruebas intradérmicas; si a su vez eran negativas, se realizaba una prueba de tolerancia con el fármaco implicado. Si había transcurrido más de un año desde la reacción, se repetía el mismo estudio a las tres semanas. A todos los sujetos incluidos en el estudio, se les realizaron pruebas cutáneas con los siguientes reactivos:

- Bencilpeniciloil polilisina o PPL. (0,04 mg/l). DAP® penicilina, Diater Laboratorios, Madrid, España.
- DM. Determinante minoritario que contiene bencilpeniloato sódico (0,5 mg/ml). DAP® penicilina, Diater Laboratorios, Madrid, España.
- Bencilpenicilina (10.000 UI/ml) preparada, en el momento de la realización de las pruebas cutáneas, a partir de Nuvapen®, CEPA, Madrid, España.
- Amoxicilina a una concentración de 20 mg/ml obtenida a partir de Clamoxyl® 1 g en solución inyectable, Beecham, Toledo, España.
- Amoxicilina-clavulánico (20 mg/ml). Amoxicilina-clavulánico EFG, (Sandoz Farmacéutica S.A, España).
- Cefuroxima 750 mg (2 mg/ml). Cefuroxima EFG, (Laboratorio Reig Jofré, Barcelona, España).
- Meropenem 1 g EFG (1 mg/ml) (FREXENIUS KABI ESPAÑA, S.A.U, España).

En el caso de pacientes con reacciones a cefalosporinas distintas de la cefuroxima, se utilizó el antibiótico implicado en cada caso [44], a una concentración de 2 mg/ml. Para otros antibióticos BL distintos, las concentraciones utilizadas en estos casos fueron las referidas en la bibliografía especializada o si no se disponía de este dato, se realizaron utilizando cinco pacientes no alérgicos como control, en los que debían de ser negativas.

Como control positivo se utilizó fosfato de histamina (ALK-Abelló, Madrid, España) y como control negativo se usó solución salina fisiológica 0,9% (Braun, Barcelona, España). La positividad con cualquiera de los determinantes fue considerada diagnóstica de hipersensibilidad a los antibióticos BL.

### **Prueba de exposición controlada**

Se llevó a cabo mediante el método de simple ciego controlado con placebo. En la mayoría de los casos se emplearon los siguientes fármacos y pautas:

- Fenoximetilpenicilina o penicilina V: 62,5-125-250-500 mg. (Penilevel®, ERN S.A, Barcelona, España).
- Amoxicilina: 62,5-125-250-500 mg. (Clamoxyl®, Beecham, Toledo, España).
- Amoxicilina-clavulánico: 62,5-125-250-500 mg. (Britapen®, Beecham, Toledo, España).

La administración del fármaco se realizó con intervalos de 45 minutos hasta llegar a la dosis terapéutica. Cuando el antibiótico implicado fue otro diferente a los citados, se administró éste, con pauta general de 1/8-1/4-1/2-1 de la dosis completa. Si el paciente no recordaba el preparado exacto se utilizó penicilina V. Todas las pruebas de exposición se realizaron con una cuidadosa monitorización de los pacientes.

### **Determinación de IgE total e IgE específica**

A todos los individuos del estudio se les realizó una extracción de suero en un tubo sin anticoagulante, mediante punción de sangre venosa realizada según el procedimiento estándar, que fue recogida en un tubo con anticoagulante EDTA, que se mantuvo almacenado a -20°C hasta el momento de proceder a la extracción de ADN.

Los niveles de IgE total y de IgE específica para penicilina V, bencilpenicilina, amoxicilina y ampicilina se determinaron utilizando el método comercial Pharmacia CAP System RAST FEIA (ThermoFisher Scientific), de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

### **Análisis molecular**

#### **Extracción de DNA**

En primer lugar se realizó la extracción de ácidos nucleicos a partir de sangre total, *MagnaPure Compact Nucleic Acid Isolation* (Roche Applied Science, Mannheim, Alemania).

### Estudio de Genotipado

En el análisis del genotipo se utilizó el sistema “Cytokine genotyping” (Invitrogen-TM Deerbrook, Trail, USA). En la Tabla 1 se indican las citocinas y polimorfismos analizados en el estudio.

**Tabla 1. Citocinas y polimorfismos analizados en el estudio**

CITOCINAS	Identificación NCBI	NOMBRE POLIMORFISMOS
IL-1A	rs1800587	-889 C>T IL1A
IL-1B	rs 16944 rs 1143634	-511 C>T IL1B 3954 C>T IL1B (3962 IL1B)
IL-1R	rs 2234650	pst1 C>T IL1R (pst1 1970 IL1R)
IL-1RA	rs 315952	mspa1 T>C IL1RA (mspa1 11100 IL1RA)
IL-2	rs 2069762 rs 2069763	-714 T>G IL2 (-330 IL2) 114 G>T IL2 (166 IL2)
IL-4	rs 22432484 rs 2243250 rs 2070874	-1098 T>G IL4 -589 C>T IL4 (-590 IL4) -33 C>T IL4
IL-4RA	rs 1801275	Gln221Arg A>G IL4RA (1902 IL4RA)
IL-6	rs 1800795 rs 1800797	-174 G>C IL6 -597 G>A IL6 (nt565 IL6)
IL-10	rs 1800872 rs 1800871 rs 1800896	-592 C>A IL10 -819 C>T IL10 -1082 A>G IL10
IL-12B	rs 3212227	pos 1188 A>C IL12B (-1188 IL12B)
IFN-G	rs 2430561	874 A>T IFNG
TGFB1	rs 1982073 rs 1800471	869 T>C TGFB1 (codón 10 TGFB1) 915 G>C TGFB1 (codón 25 TGFB1)
TNF-A	rs 361525 rs 1800629	-238 G>A TNFA -308 G>A TNFA

La detección de los distintos SNP se realizó mediante un sistema basado en la reacción en cadena de la polimerasa con el empleo de cebadores específicos de secuencia SSP-PCR (*Sequence Specific Primers Polymerase Chain Reaction*), que permite un análisis rápido de mutaciones conocidas. Este sistema se basa en el uso de una PCR con oligonucleótidos específicos de secuencia, que sólo permite amplificar el DNA cuando la muestra incluye el alelo diana. Estos oligonucleótidos específicos de alelo tienen el nucleótido del extremo 3' complementario a una de las variantes del sitio polimórfico que se pretende analizar. Este cebador sólo podrá ser extendido eficientemente cuando su extremo 3' empareje perfectamente con el ADN molde de la muestra [45]. Para genotipar cada polimorfismo, se llevaron a cabo dos reacciones de

PCR independientes, usando en cada una un cebador específico de alelo diferente y compartiendo un cebador diseñado para unirse a una región invariable. Se diseñaron, por tanto, dos reacciones de PCR que compartían un mismo cebador común pero se diferenciaban en los cebadores específicos para cada alelo: un cebador amplificará sólo el alelo normal, el otro cebador amplificará sólo el alelo mutado. Por tanto, la obtención de amplificación pone de manifiesto la presencia en la muestra de la variante detectada por el cebador específico de alelo utilizado. La amplificación de la PCR se realizó mediante un programa ajustado respecto al recomendado por el fabricante. Los productos de PCR obtenidos fueron analizados mediante electroforesis en geles horizontales de agarosa de alta resolución al 2%. Se realizó entonces una fotografía, que se analizó utilizando el programa Adobe Photoshop CS4. En todos los casos, se aplicaron los mismos filtros de visualización para obtener una lectura homogénea en todos los pacientes sin introducir ninguna modificación. El análisis de un genotipo concreto en un locus, se llevó a cabo examinando todas las reacciones relativas a dicho locus, comprobando que fuesen concordantes y que en ninguna de ellas se hubiese obtenido un resultado no concluyente.

En lo referente al control de calidad, se siguieron todas las recomendaciones de la *European Molecular Genetics Quality Network (EMQN)* [46] en cada uno de los procedimientos analíticos realizados.

Se realizó un análisis estadístico de la población estudiada mediante el programa SPSS 18.0 (IBM, Chicago, Illinois).

## Resultados

### Controles

Se incluyeron un total de 104 individuos control, con una mediana de edad de 43 años (RI: 33) y hubo un 33 % de varones. Los niveles medios de IgE sérica total en la población control global fueron de 98,93 kUI/L (DE: 139,22). Todos ellos presentaban pruebas cutáneas negativas con la batería de determinantes de BL y habían tolerado una dosis terapéutica de un BL.

### Pacientes

Se incluyeron 98 pacientes con hipersensibilidad demostrada a fármacos beta-lactámicos, cuyas características básicas, comparadas con las de la población control, se expresan en la Tabla 2. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

Se realizó el análisis de la distribución de frecuencias alélicas y genotípicas para los 22 polimorfismos. Cuando se compararon ambas poblaciones, solamente se identificaron diferencias estadísticamente significativas en el caso del polimorfismo c25

**Tabla 2. Comparación de la población con tolerancia a los BL y de la población con hipersensibilidad inmediata a los BL**

VARIABLES CLÍNICAS (VC)	CONTROLES (N=104)	PACIENTES (N=98)	p-Valor
EDAD	Mediana: 43; RI: 33	Mediana: 49; RI: 29	0,33
SEXO	Varones: 33% Mujeres: 67%	Varones: 42% Mujeres: 58%	0,19
NIVELES DE IgE TOTAL	X: 98,94 DE: 139,22	X: 165,83 DE: 342,91	0,10
POLIPOSIS	1,7%	1,7%	0,75
ASMA	6,6%	13,6%	0,25
ATOPIA	27,3%	20,2%	0,31
MONOSENSIBILIZACIÓN <sup>a</sup>	51,9%	68,4%	0,36
POLISENSIBILIZACIÓN <sup>b</sup>	48,1%	31,6%	0,36

a. A un único grupo de aeroalérgenos: ácaros, pólenes, hongos o epitelios

b. A más de un grupo de aeroalérgenos: ácaros, pólenes, hongos o epitelios

*TGFB1* (Tabla 3). Se observó que el alelo C del polimorfismo en el codón 25 del gen *TGFB1* resultó más frecuente en los pacientes (11,8 %) que en los controles (4,5 %), con una  $p = 0,029$ ; OR: 2,84; IC 95% (1,07 – 7,51). No se observaron diferencias significativas al estudiar las frecuencias genotípicas.

**Tabla 3. Estudio comparativo en las frecuencias alélicas y genotípicas de los controles y pacientes con reacciones de hipersensibilidad a los BL. Valores de p.**

SNP	p-Valor (Alélica)	p-Valor (Genotípica)	SNP	p-Valor (Alélica)	p-Valor (Genotípica)
pst1 1970 IL1R	0,55	0,83	c25 TGFB1	0,029*	0,11
3962 IL1B	0,17	0,18	-1098 IL4	0,88	0,56
-511 IL1B	0,30	0,22	-590 IL4	0,24	0,44
-889 IL1A	0,36	0,69	-33 IL4	0,08	0,21
874 IFNG	0,33	0,49	-330 IL2	0,99	0,98
-1188 IL12	0,54	0,80	166 IL2	0,71	0,93
-1902 IL4RA	0,30	0,35	-174 IL6	0,65	0,79
1110 IL1RA	0,41	0,52	nt565 IL6	0,69	0,86
-308 TNFA	0,95	0,94	-1082 IL10	0,75	0,86
-238 TNFA	0,95	0,50	-819 IL10	0,51	0,61
c10 TGFB1	0,95	0,98	-592 IL10	0,69	0,82

\* $p < 0,05$



Al analizar los polimorfismos de citocinas en los pacientes alérgicos con pruebas cutáneas positivas con aeroalérgenos comunes en relación con los controles, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el caso de los polimorfismos *pst1 1970 IL1R* (distribución alélica,  $p=0,014$ ; distribución genotípica,  $p=0,017$ ); *874 IFNG* (distribución alélica,  $p=0,034$ ; distribución genotípica,  $p=0,43$ ); y *-33 IL4* (distribución alélica,  $p=0,004$ ; distribución genotípica,  $p=0,017$ ). Con el fin de confirmar si estas diferencias encontradas se debían a la presencia de hipersensibilidad a los BL o a la propia atopía se realizó un análisis confirmatorio dentro de los pacientes con hipersensibilidad a los BL, entre la presencia y ausencia de pruebas cutáneas positivas con aeroalérgenos. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los polimorfismos *pst1 1970 IL1R*, *874 IFNG* y *-33 IL4* (Tabla 4). También se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,007$ ) en el polimorfismo *1902 IL4RA*: el genotipo GG resultó más frecuente en los pacientes con pruebas cutáneas positivas (15,8%) que en los pacientes con pruebas cutáneas negativas (1,8%). Al ajustar mediante regresión logística por edad y sexo se mantuvo la significación, obteniéndose una  $p$  de 0,012; OR: 56,14; IC 95% (2,40 – 1131,39) (Tabla 4).

**Tabla 4. Estudio comparativo en las frecuencias alélicas y genotípicas de los pacientes con presencia y ausencia de pruebas cutáneas positivas en pacientes con hipersensibilidad a los BL**

SNP	p-Valor	FRECUENCIA (Alélica)	FRECUENCIA (Genotípica)
<b>pst1 1970 IL1R</b>	Alélica: 0,08		
	Genotípica: <b>0,024*</b>		TT: 21,1% PC+/ 8,9% PC-
<b>874 IFNG</b>	Alélica: <b>0,034*</b>	A: 65% PC+/ 44,4% PC-	
	Genotípica: 0,43		
<b>-33 IL4</b>	Alélica: <b>0,038*</b>	T: 20,4% PC-/ 5,6% PC+	
	Genotípica: 0,11		
<b>1902 IL4RA</b>	Alélica: 0,83		
	Genotípica: <b>0,007*</b>		GG: 15,8% PC+/ 1,8% PC-

\* $p < 0,05$

PC += pruebas cutáneas positivas; PC -= pruebas cutáneas negativas

## Discusión

En el presente estudio hemos encontrado escasas asociaciones entre los polimorfismos de los genes de citocinas analizados y la hipersensibilidad a los BL. Al comparar el grupo de pacientes con hipersensibilidad a los BL con el de pacientes que los toleraban, únicamente encontramos diferencias estadísticamente significativas en el SNP *c25 TGFB1*, siendo el alelo C del polimorfismo más frecuente en los pacientes (11,8 %) que en los controles (4,5 %). Este SNP conlleva un cambio de arginina por prolina en la posición 25 (R25P), que se ha asociado a una mayor expresi-

sión del TGF- $\beta$ 1 en los linfocitos [47]. En la bibliografía, este SNP se ha asociado a la hiperreactividad bronquial [48] y a la predisposición al asma [49, 50], pero no se ha descrito ninguna asociación con las reacciones de hipersensibilidad a los BL.

Por otro lado, al comparar el grupo de pacientes atópicos con alergia a los BL y los controles se observaron diferencias estadísticamente significativas en los polimorfismos 1970 *IL1R1*, 874 *IFNG*, y -33 *IL4*. Sin embargo, cuando dentro de la población de pacientes alérgicos a los BL comparamos aquellos con atopia frente a aquellos sin atopia, encontramos diferencias estadísticamente significativas en los mismos SNP y en 1902 *IL4RA*, genes todos relacionados con la atopia, lo que sugiere dos posibilidades: o bien que las diferencias radican en la atopia, que actuaría como factor de confusión, o que la atopia es un factor de riesgo implicado en las reacciones inmediatas a los BL.

### **Revisión de los estudios genéticos en las reacciones de hipersensibilidad a los beta-lactámicos**

Una revisión de las publicaciones sobre aspectos genéticos de las reacciones inmediatas a los BL indica que la mayor parte de las asociaciones encontradas están relacionadas con genes que también se han relacionado con la atopia, como se ha comentado en la introducción. Para esta revisión, se agruparán los estudios por grupos de poblaciones.

Un grupo de estudios están realizados en población de origen chino [29], [36], [51], [30], [40], [52]. En líneas generales, los pacientes de este grupo (cuyo número va incrementándose en los sucesivos estudios), se caracterizan porque una parte de ellos están diagnosticados mediante historia clínica y se mezclan reacciones inmediatas y no inmediatas. El número de pacientes y controles se va incrementando a lo largo de los estudios, aunque las muestras no son, en general, amplias. Por su parte, los controles no suelen tener comprobada la tolerancia a la penicilina, aunque tienen historia (o cuestionario), IgE específica o pruebas cutáneas negativas, según los distintos estudios. Los porcentajes de atopia no están controlados entre pacientes y controles. Los genes implicados fueron *IL4*, *IL13*, *IL4RA*, *IFNR1*, *IL18* y *STAT6*.

Otros estudios se han realizado en población coreana. En uno de ellos [53] se evaluaron distintos tipos de reacciones (urticaria, angioedema, exantema maculopapular y eritema exudativo) y diferentes antibióticos (beta-lactámicos, quinolonas y otros), procedentes de una base de datos de reacciones adversas por fármacos y los controles provenían de un estudio previo sobre el receptor de PGE2 y no están descritas sus características. En otro de ellos [54] se evaluaron pacientes expuestos a las cefalosporinas por su profesión y controles no atópicos no expuestos y con pruebas cutáneas negativas con 3 cefalosporinas frecuentemente prescritas; sin embargo, sólo cuatro pacientes referían síntomas relacionados con el trabajo y sólo un paciente presentaba pruebas cutáneas positivas con cefalosporinas. No parece que se haya tenido en cuenta la atopia. Los genes implicados fueron *FCERB1* y *CD40*.

El tercer grupo de estudios han sido realizados en población europea. Inicialmente se trataba de pacientes italianos, evaluados en colaboración con investigadores franceses [33], [38], a los que después se asocia una población española [42]. En el primero de ellos [33], los pacientes estaban diagnosticados por una historia de reacción inmediata y pruebas cutáneas o IgE específica positiva, mientras que los controles fueron seleccionados entre voluntarios pareados por edad en una consulta de un alergólogo, sobre la base de ausencia de reacciones por fármacos (no por tolerancia). Gran parte de los del segundo [38] había participado en el primero de los estudios. Por otra parte, los niveles de IgE total fueron más elevados en los pacientes que en los controles. En el estudio con pacientes italianos y españoles, en la población italiana había 210 casos de reacciones inmediatas y 158 de reacciones tardías, mientras que en la española eran todas inmediatas. Los pacientes se diagnosticaron de acuerdo a las recomendaciones del grupo ENDA y los controles provenían de una consulta de atención preventiva. En estos estudios los niveles de IgE total fueron en todos más elevados en los pacientes que en los controles. En otro estudio con pacientes españoles [34] los pacientes fueron diagnosticados mediante pruebas cutáneas positivas o prueba de tolerancia, pero los controles fueron seleccionados entre pacientes sin historia de alergia del área. También se observó un porcentaje significativamente superior de atopia en los pacientes alérgicos a los BL, en concordancia con unos niveles de IgE total significativamente más elevados que en los controles. Los genes implicados fueron *IL13* e *IL4RA*, *TNFA*, y *NOD* (*Nucleotide-binding Oligomerization Domain*).

Hay dos estudios más en población caucásica [32]; [35], pero las muestras fueron inferiores a los 50 pacientes, por lo que no se comentan.

En definitiva, del análisis de estos estudios se deduce que están realizados por un número muy limitado de grupos de investigación, estando algunas muestras poblacionales incluidas, al menos parcialmente, en varios estudios. Además, el diagnóstico no siempre se realizó mediante prueba de provocación, en algunos de ellos se han mezclado reacciones inmediatas y no inmediatas y la tolerancia no suele estar bien documentada en los pacientes no alérgicos. Finalmente, la atopia no se ha tenido en cuenta en la gran mayoría de los estudios; cuando se ha contemplado, se han observado niveles más elevados de IgE total o de atopia en los pacientes que en los controles.

Cabe, por tanto, plantearse dos posibilidades: en primer lugar si la atopia no puede ser un factor de confusión, al estar sobrerrepresentada en los pacientes alérgicos a los BL, por lo que las asociaciones fueran debidas a la atopia; de hecho, cuando se ha realizado un análisis en genoma completo con una muestra elevada de pacientes [55], los autores sólo han encontrado asociación con HLA-DR. En segundo lugar, cabe la posibilidad de que la atopia sea un factor de riesgo para el desarrollo de alergia a los BL y por eso se describan esas asociaciones genéticas, lo que se ha reflejado en algún estudio [56], pero no en otros [57].

## Agradecimientos

Este estudio fue apoyado por la Fundación de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC), la Fundación para la Investigación Caja de Burgos y el Proyecto del Instituto de Salud Carlos III PI10/01706.

## Bibliografía

1. Bates DW, Cullen DJ, Laird N, Petersen LA, Small SD, Servi D et al. *Incidence of Adverse Drug Events and Potential Adverse Drug Events. Implications for Prevention*. ADE Prevention Study Group. JAMA, 1995; **274**: p. 29-34.
2. Khan SA. *Descriptions of adverse drug events should be standardised*. BMJ, 1999; **318**(7176): p. 127.
3. Pirmohamed M, James S, Meakin S, Green C, Scott AK, Walley TJ et al., *Adverse drug reactions as a cause for admission to hospital: prospective analysis of 18 820 patients*. BMJ, 2004; **329**: p. 15-9.
4. Rawlins M, Thompson W. *Mechanisms of adverse drug reactions*. En: Davies D, ed. Textbook of adverse drug reactions. 4º ed. Oxford (England): Oxford University Press; 1991. p. 18-45.
5. Pichler WJ. Drug allergy: Classification and clinical features. En: <http://www.uptodate.com/contents/drug-allergy-classification-and-clinical-feature> (fecha consulta: 21/03/2014).
6. Caranasos, G. J., R. B. Stewart, et al., *Drug-induced illness leading to hospitalization*. JAMA, 1974. **228**(6): p. 713-7.
7. Brown, E. A., *Problems of drug allergy*. J Am Med Assoc, 1955. **157**(10): p. 814-9.
8. De Cos MA, Flórez J, Armijo JA. *Reacciones adversas a los medicamentos*. Farmacovigilancia. En: Flórez J, Armijo JA, Mediavilla A, eds. Farmacología humana. 7ª ed. Barcelona (España): Elsevier España SL; 2014. p.106-20.
9. Vervloet, D. and S. Durham, *Adverse reactions to drugs*. BMJ, 1998. **316**(7143): p. 1511-4.
10. Cortada Macías JM, López Serrano MC, Blasco Sarramián A, Mayorga C, Torres Jaén MJ. *Reacciones alérgicas inducidas por fármacos. Introducción, conceptos generales, epidemiología. Fisiopatología: los fármacos como antígenos*. En: Peláez Hernández A y Dávila González I, eds. Tratado de Alergología e Inmunología Clínica. Tomo II. Majadahonda (Madrid): Ergon; 2007. p. 1297-323.
11. Johansson SG, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF et al., *Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization*, October 2003. J Allergy Clin Immunol, 2004; **113**: p. 832-6.
12. Demoly P, Adkinson NF, Brockow K, Castells M, Chiriac AM, Greenberger PA et al., *International Consensus on drug allergy*. Allergy, 2014; **69**: p. 420-37.
13. Romano, A., M. J. Torres, et al., *Diagnosis and management of drug hypersensitivity reactions*. J Allergy Clin Immunol, 2011. **127**(3 Suppl): S67-73.
14. Kowalski, M. L., R. Asero, et al., *Classification and practical approach to the diagnosis and management of hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs*. Allergy, 2013. **68**(10): p. 1219-32.
15. Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J, Brujinzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahela T et al., *A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force*. Allergy, 2001; **56**: p. 813-24.
16. Pawankar R, Giorgio Walter Canonica GW, Holgate ST, Lockey RF. World Allergy Organization (WAO) White book on allergy 2011-2012: executive summary. En: [http://www.worldallergy.org/publications/waowhite\\_book.pdf](http://www.worldallergy.org/publications/waowhite_book.pdf) (fecha consulta: 21 de Marzo de 2014).

17. Pichler WJ. *Drug allergy*. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2001; **1**: p. 285-6.
18. Vervloet, D. and S. Durham, *Adverse reactions to drugs*. *BMJ*, 1998. **316**(7143): p. 1511-4.
19. Celik G, Pichler WJ, Adkinson F. *Drug Allergy*. En: Adkinson NF, Bochner BS, Busse WW, Holgate ST, Lemanske RF, Simons FER, eds. *Middlenton's Allergy Principles and Practice*. 7th ed. Philadelphia (USA): Mosby Elsevier Inc; 2009. p. 1205-1226.
20. Levine, B. B., *Immunologic mechanisms of penicillin allergy. A haptenic model system for the study of allergic diseases of man*. *N Engl J Med*, 1966. **275**(20): p. 1115-25.
21. Gomez, E., N. Blanca-Lopez, et al., *Induction of accelerated reactions to amoxicillin by T-cell effector mechanisms*. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2013. **110**(4): p. 267-73.
22. Dewdney JM. *Immunology of the antibiotics*. En: Sela M, ed. *The Antigens 5*. New York: Academic Press; 1977. p. 73-245.
23. Weiss ME, Adkinson NF., *Immediate hypersensitivity reactions to penicillin and related antibiotics*. *Clin Allergy*, 1988; **18**: p. 515-40.
24. Alfirevic, A. and M. Pirmohamed, *Drug-induced hypersensitivity reactions and pharmacogenomics: past, present and future*. *Pharmacogenomics*, 2010. **11**(4): p. 497-9.
25. Gueant, J. L., R. M. Gueant-Rodriguez, et al., *Pharmacogenetic determinants of immediate and delayed reactions of drug hypersensitivity*. *Curr Pharm Des*, 2008. **14**(27): p. 2770-7.
26. Marsh, D. G., J. D. Neely, et al., *Linkage analysis of IL4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations*. *Science*, 1994. **264** (5162): p. 1152-6.
27. Rosenwasser, L. J., D. J. Klemm, et al., *Promoter polymorphisms in the chromosome 5 gene cluster in asthma and atopy*. *Clin Exp Allergy*, 1995. **25 Suppl 2**:p. 74-8; discussion 95-6.
28. Hershey, G. K., M. F. Friedrich, et al., *The association of atopy with a gain-of-function mutation in the alpha subunit of the interleukin-4 receptor*. *N Engl J Med*, 1997. **337**(24): p. 1720-5.
29. Qiao HL, Yang J, Zhang YW, *Relationships between specific serum IgE, cytokines and polymorphisms in the IL-4, IL-4Ralpha in patients with penicillins allergy*. *Allergy*, 2005; **60**(8): p. 1053-9.
30. Huang, C. Z., J. Yang, et al., *Polymorphisms and haplotype analysis of IL-4Ralpha Q576R and I75V in patients with penicillin allergy*. *Eur J Clin Pharmacol*, 2009. **65**(9): p. 895-902.
31. Brugnolo, F., F. Annunziato, et al., *Highly Th2-skewed cytokine profile of beta-lactam-specific T cells from nonatopic subjects with adverse drug reactions*. *J Immunol*, 1999. **163**(2): p. 1053-9.
32. Apter, A. J., H. Schelleman, et al., *Clinical and genetic risk factors of self-reported penicillin allergy*. *J Allergy Clin Immunol*, 2008. **122**(1): p. 152-8.
33. Gueant-Rodriguez, R. M., A. Romano, et al., *Gene-gene interactions of IL13 and IL4RA variants in immediate allergic reactions to betalactam antibiotics*. *Pharmacogenet Genomics*, 2006. **16**(10): p. 713-9.
34. Cornejo-Garcia, J. A., R. M. Gueant-Rodriguez, et al., *Biological and genetic determinants of atopy are predictors of immediate-type allergy to betalactams, in Spain*. *Allergy*, 2013. **67**(9): p. 1181-5.
35. Guglielmi, L., C. Fontaine, et al., *IL-10 promoter and IL4-Ralpha gene SNPs are associated with immediate beta-lactam allergy in atopic women*. *Allergy*, 2006. **61**(8): p. 921-7.
36. Qiao, H. L., Q. Wen, et al., *Association of IL-10 level and IL-10 promoter SNPs with specific antibodies in penicillin-allergic patients*. *Eur J Clin Pharmacol*, 2007. **63**(3): p. 263-9.
37. Mäkelä MJ, Kanehiro A, et al., *IL-10 is necessary for the expression of airway hyperresponsiveness but not pulmonary inflammation after allergic sensitization*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000; **97**(11): p. 6007-12.

38. Gueant-Rodriguez, R. M., J. L. Gueant, et al., *Association of tumor necrosis factor-alpha -308G>A polymorphism with IgE-mediated allergy to betalactams in an Italian population*. Pharmacogenomics J, 2008. **8**(2): p. 162-8.
39. Gao N, Qiao HL et al., *Relationships between specific serum IgE, IgG, IFN-gamma level and IFN-gamma, IFNR1 polymorphisms in patients with penicillin allergy*. Eur J Clin Pharmacol, 2008; **64**(10): p. 971-7.
40. Ming, L., Q. Wen, et al., *Interleukin-18 and IL18 -607A/C and -137G/C gene polymorphisms in patients with penicillin allergy*. J Int Med Res, 2011. **39**(2): p. 388-98.
41. Qiao, H. L., J. Yang, et al., *Specific serum IgE levels and FcepsilonR1beta genetic polymorphism in patients with penicillins allergy*. Allergy, 2004. **59**(12): p. 1326-32.
42. Bursztejn, A. C., A. Romano, et al., *Allergy to betalactams and nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) gene polymorphisms*. Allergy, 2013. **68**(8): p. 1076-80.
43. Romano A, De Santis A, et al., *Delayed hypersensitivity to aminopenicillins is related to major histocompatibility complex genes*. Ann Allergy Asthma Immunol, 1998; **80**(5): p. 433-7.
44. Torres, M. J., M. Blanca, et al., *Diagnosis of immediate allergic reactions to beta-lactam antibiotics*. Allergy, 2003. **58**(10): p. 961-72.
45. Newton, C.R., et al., *Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS)*. Nucl. Acids. Res., 1989. **17**(7): p. 2503-2516.
46. Patton S, S.S., *Draft Best Practice Guidelines for Laboratory Internal Quality Control*. European Molecular Genetics Quality Network, 2002.
47. Awad, M.R., et al., *genotypic variation in the transforming growth factor-[beta]1 gene: Association with Transforming Growth Factor-[beta]1 Production, Fibrotic Lung Disease, and Graft Fibrosis after Lung Transplantation*. Transplantation, 1998. **66**(8): p. 1014-1020.
48. Sharma, S., et al., *Variants in TGFB1, Dust Mite Exposure, and Disease Severity in Children with Asthma*. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2009. **179**(5): p. 356-362.
49. Judith, C.W.M., et al., *Analysis of TGF- $\beta$ 1 gene polymorphisms in Hong Kong Chinese patients with asthma*. The Journal of allergy and clinical immunology, 2006. **117**(1): p. 92-96.
50. Yang, X. X., F. X. Li, et al., *Association of TGF-beta1, IL-4 and IL-13 gene polymorphisms with asthma in a Chinese population*. Asian Pac J Allergy Immunol, 2011. **29**(3): p. 273-277.
51. Yang, J., H. L. Qiao, et al., *Polymorphisms of IL-13 and IL-4-IL-13-SNPs in patients with penicillin allergies*. Eur J Clin Pharmacol, 2005. **61**(11): p. 803-9.
52. Huang CZ, Zou D, et al., *Polymorphisms of STAT6 and specific serum IgE levels in patients with penicillin allergy*. Int J Clin Pharmacol, 2012. **50** (7): p. 461-7.
53. Kim SH, Lee JE, et al., *Allelic variants of CD40 and CD40L genes interact to promote antibiotic-induced cutaneous allergic reactions*. Clin Exp Allergy, 2009. **39** (12): p. 1852-6.
54. Nam YH, Kim JE, et al., *Identifying genetic susceptibility to sensitization to cephalosporins in health care workers*. J Korean Med Sci, 2012. **27** (11):p. 1292-9.
55. Guéant JL, Romano A, et al., *HLA-DRA variants predict penicillin allergy in genome-wide fine-mapping genotyping*. J Allergy Clin Immunol, 2015. **135** (1): p. 253-9.
56. Despotović N, Bojović I, et al., *Atopy and drug allergy*. Srp Arh Celok Lek, 1994. **122** (1): p. 92-3.
57. Haddi E, Charpin D, et al., *Atopy and systemic reactions to drugs*. Allergy, 1990. **45** (3): p. 236-9.