



REVISIÓN

Principales técnicas de diagnóstico de las reacciones alérgicas a fármacos

Ángel San Miguel^{a,*}, Francisco Javier Martín Gil^a, Alicia Armentia Medina^b y B. Martín Armentia^a

^aServicio de Análisis Clínicos, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España

^bSección de Alergia, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España

Recibido el 16 de septiembre de 2009; aceptado el 16 de marzo de 2010

PALABRAS CLAVE

Alergia a medicamentos;
Leucotrienos;
Fármacos

KEYWORDS

Adverse drug reactions;
Leukotrienes;
Drugs

Resumen

Las reacciones anafilácticas por relajantes musculares y otros fármacos inductores de sensibilidad mediada por inmunoglobulina E (IgE) presentan una prevalencia alta. Debido a la concurrencia de falsos positivos y falsos negativos en los ensayos cutáneos y a la ausencia de ensayos de provocación con algunos fármacos (p. ej., anestésicos generales), el diagnóstico resulta, a veces, difícil. Una solución es acudir a la determinación de leucotrienos, que son unos mediadores químicos que también contribuyen a la inflamación en el asma y en la rinitis alérgica. En esta breve revisión describimos el ensayo de estimulación por antígenos celulares conocido como CAST (una prueba para péptido-sulfuro-leucotrienos, rápida y sencilla de llevar a cabo) en comparación con los ensayos tradicionales.

© 2009 Academia de Ciencias Médicas de Bilbao. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

The main diagnostic techniques in drug-induced allergic reactions

Abstract

Anaphylactic reactions due to muscle relaxants and other drugs that induce IgE-mediated sensitivity are highly prevalent. Because of false-positive and false-negative results in skin tests and the lack of provocation tests with some drugs (e.g., general anesthetics), diagnosis is often difficult. An alternative is to assay leukotrienes, which are chemical mediators that also contribute to inflammation in asthma and allergic rhinitis. In this brief report, we describe the cellular antigen stimulation test (CAST), a quick and easy to perform assay for peptide-sulfido-leukotrienes and compare this test with traditional *in vitro* assays.

© 2009 Academia de Ciencias Médicas de Bilbao. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: asanmiguel@hurh.sacyl.es (A. San Miguel Hernández).

HITZ GAKOAK

Botika-alerxia;
Leukotrienoak;
Farmako

Teknika nagusiak botikek sortutako erreakzio alergikoak diagnostikatzeko**Laburpena**

Erreakzio anafilaktikoek prebalentzia handia dute erlaxatzaile muskularrek eragindakoak direnean eta IgE antigorputzen bitartekaritaz sentikortasuna sortzen duten beste botika batzuek sortutakoak direnean. Batzuetan zail izaten da diagnostikoa egitea, larruazal-probetako positibo faltsuen eta negatibo faltsuen konkurrentziagatik, eta probokazio-probarik egiten ez delako zenbait botikarekin (anestesiko orokorrak, adibidez). Leukotrienoak aztertzea irtenbide bat izan daiteke; asman eta errinitis alergikoan inflamazioa ere eragiten duten bitartekari kimikoak dira. Azalpen labur honetan, CAST izeneko testa deskribatuko dugu, zelula-antigeno bidezko estimulazio-testa (peptido-sulfuro-leukotrienoetarako proba, erraza eta azkarra ohiko saiakuntzekin konparatuz gero).

© 2010 Academia de Ciencias Médicas de Bilbao. Argitaratzailea: Elsevier España, S.L.

Eskubide guztiak gordeta.

Introducción

Los leucotrienos LTE₄, LTD₄ y LTC₄ son derivados del ácido araquidónico debido a la transformación por la glutatión transferasa y la 5-lipooxigenasa. Estos leucotrienos son sintetizados por un elevado número de células, entre las que destacan eosinófilos, basófilos, macrófagos y células mesangiales renales, y desempeñan un papel importante en diversas patologías, pero uno de los más importantes es la intervención en reacciones alérgicas mediadas por la inmunoglobulina E (IgE).

En el caso de alergia con aumento de la IgE, los basófilos, en respuesta a los alérgenos, generan estos leucotrienos e histamina, aunque la generación de los leucotrienos no corre paralela a la generación de histamina.

Dado que los leucotrienos pueden ser producidos por otras células inflamatorias como los basófilos, es frecuente que durante otros procesos inflamatorios en los cuales están implicadas reacciones mediadas por la IgE puedan contribuir a la producción de leucotrienos. Esto constituye una ventaja a la hora del diagnóstico, dado que diversas reacciones pseudoalérgicas, como la hipersensibilidad a algunos fármacos, y que no son dependientes de IgE conducen a la formación de leucotrienos.

Ruta de síntesis y metabolización de los leucotrienos

El leucotrieno principal es el LTC₄, producido por un elevado número de células comentadas con anterioridad. Una vez sintetizado pasa a los fluidos biológicos, donde rápidamente es metabolizado a LTD₄. Con posterioridad, es metabolizado a LTE₄, que es la forma más estable y la que aparece de manera habitual en orina.

Mecanismo de desarrollo de la alergia

El sistema inmunitario consta de una serie de elementos caracterizados por mantener la integridad de nuestro organismo frente a cualquier tóxico o microorganismo que lo ponga

en peligro. El funcionamiento de este complejísimo sistema puede fallar y el exceso de respuesta frente a diversos antígenos es la base de la llamada alergia o reacciones de hipersensibilidad.

Muchos fármacos, como las cefalosporinas y otros betalactámicos, son capaces de producir alergia. Se trata de sustancias de bajo peso molecular (generalmente inferior a 1.000 Daltons) que, a menudo, no actúan como antígenos, ni inducen la formación de anticuerpos, pero conjugadas con otras sustancias pueden adquirir propiedades antigénicas y provocar la formación de anticuerpos. Estos fármacos actúan como antígenos incompletos y reciben el nombre de haptenos.

Quando los haptenos se conjugan con péptidos y proteínas de las membranas celulares provocan la activación de los linfocitos T e hipersensibilidad.

La reacción alérgica producida por fármacos puede ser de varios tipos:

- Inmediata o de tipo anafiláctico: se trata de una alergia rápida y brusca que está mediada por anticuerpos de las inmunoglobulinas de la clase E (IgE).
- Reacciones pseudoalérgicas: no están mediadas por un mecanismo inmunológico conocido. Se cree que pueden deberse a una activación directa del complemento debido a un efecto agonista o antagonista en las células efectoras.

Un estudio epidemiológico donde se evalúen este tipo de reacciones es complicado, dado que en la mayoría de las ocasiones son infravaloradas, ya que en un elevado número de casos no son bien diagnosticadas. Por ejemplo, según los diferentes estudios realizados, el rango de porcentaje de alergia a la penicilina varía entre el 0,7 y el 10% (tabla 1).

Prueba de estimulación de antígenos celulares (CAST) (fig. 1)

En esta prueba los leucocitos procedentes de la sangre del paciente son procesados simultáneamente con interleucina (IL) 3 y estimulados con alérgenos. Las células basófilas ge-

neran el mediador alérgico LTC₄ y sus metabolitos principales (LTD₄ y LTE₄). En los procesos pseudoalérgicos la formación de LTC₄ puede ser dependiente o no de la IgE. La medida de la producción de leucotrienos tras el aislamiento de células tisulares específicas, como pueden ser los leucocitos, tras la exposición a agentes capaces de estimular su producción, como alérgenos, anticuerpos anti-IgE, permite establecer cuál puede ser el parámetro más directamente relacionado con los síntomas clínicos, de igual forma que lo puede ser la detección de anticuerpos específicos contra un alérgeno.

Cuando un paciente se va a someter a esta prueba, es conveniente que en los días anteriores no tome fármacos antialérgicos, como antihistamínicos, corticoides, indometacina y otras sustancias que pueden alterar la prueba. La sangre se debe recoger en tubos de EDTA y a la hora de realizar la prueba debe estar a temperatura ambiente.

Consta de tres pasos principales:

- Aislamiento de leucocitos: para aumentar la viscosidad sanguínea se añade dextrano y tras 60-90 min a temperatura ambiente se produce una sedimentación de los eritrocitos, mientras que los leucocitos permanecen en la fracción plasmática. Con posterioridad, el sobrenadante se transfiere con cuidado a otros tubos y los leucocitos se sedimentan por centrifugación. El sobrenadante se desecha y los leucocitos se resuspenden en un tampón estimulante que contiene IL-3.
- Estimulación celular: como ya se ha comentado, los leucocitos se resuspenden en un *buffer* o tampón de estimulación y la suspensión celular se alícuota en diferentes tubos con el fin de ensayar los posibles alérgenos. Además, se deben medir los valores basales de cada paciente y los valores tras la estimulación con IgE. La estimulación se realiza a 37° C durante 1 h.
- Determinación de leucotrienos: la determinación de leucotrienos se realiza por una técnica ELISA y para cada paciente se suelen realizar dos controles normales, dos controles estimulados y dos determinaciones con cada alérgeno. Una vez realizado un ELISA normal, la absorbancia se lee a 405 nm con un espectrofotómetro.

Los anticuerpos monoclonales usados en la prueba ELISA pueden dar reactividad cruzada con: tromboxano B₂, glutatión, L-cisteína, prostaglandina D₂, prostaglandina E₂, prostaglandina F₂, 6-ceto-prostaglandina F₁, etc.

Otras pruebas de diagnóstico de la alergia

Pruebas in vitro

Ensayos de alteración de mediadores

Es uno de los ensayos más clásicos para el diagnóstico de las alergias medidas por fármacos. Un aumento en los valores de histamina aparece en la mayoría de las alergias, incluidas aquellas que no están mediadas por la IgE.

La valoración de la IgE también es muy útil, pero hay casos en los que hay un bajo grado de hipersensibilidad y de IgE específica para el fármaco. La IgE se trata de un sustrato humoral, con hipersensibilidad inmediata a determinados alérgenos, que puede determinarse por RIA y se encuentra

Tabla 1 Principales fármacos productores de reacciones cutáneas

Fármacos que producen reacciones exantemáticas	
Tiouracilos	Carbamazepina
Tiacidas	Sulfonamidas
Captopril	Benzodiazepinas
Ampicilinas	AINE
Fármacos que producen reacciones eritrodérmicas	
Alopurinol	Sulfonamidas
Isoniacida	Clorpromacina
Cloroquina	Carbamazepina
Barbitúricos	Captopril
Fármacos que producen reacciones liquenoides	
Tiacidas	Metildopa
Bloqueadores beta	Penicilamina
Cloroquina	Clorpromacina
Quinina	Mepacrina
Fármacos que producen reacciones fotosensibles	
Clorpromacina	Tetraciclinas
Amiodarona	Trimepracina
Furosemida	Prometacina
Sulfonamidas	Fenotiacinas
Fármacos que producen urticaria	
Penicilina	Nitrofurantoina
Fenitiacina	Tiouracilos
Fármacos que producen pénfigo	
Rifampicina	Penicilamina
Captopril	Ibuprofeno

AINE: antiinflamatorios no esteroideos.

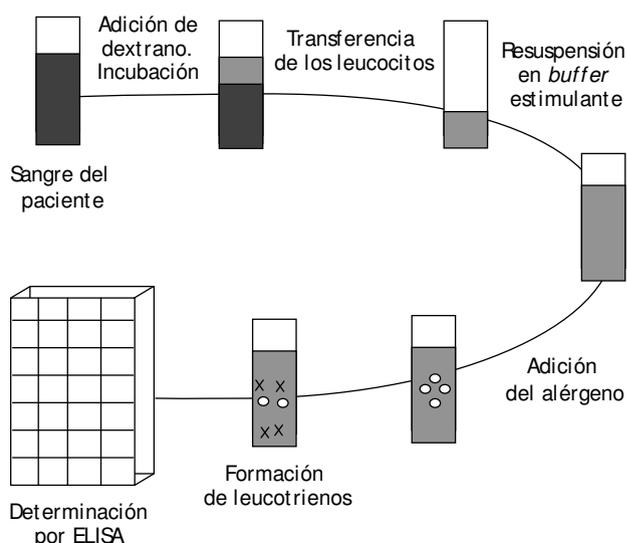


Figura 1 Principales pasos de las prueba CAST.

elevada en determinadas afecciones, como dermatitis atópica o rinitis alérgica. A pesar de todo, no se trata de un hallazgo específico y puede aumentar en determinadas patologías no alérgicas, como parasitosis, enfermedad de Hodgkin, etc.

Prueba RAST para anticuerpos frente a la inmunoglobulina E

Se trata del ensayo más utilizado en las reacciones de tipo alérgico inmediato. Se basa en el cálculo de la susceptibilidad a la interferencia de IgE específica y la desaparición de esta inmunoglobulina de la sangre tras la exposición al antibiótico.

Se marca el antígeno específico con un radioisótopo, se pone en contacto con el suero que supuestamente posee IgE reactiva frente a ese antígeno y se mide la proporción de IgE específica.

Prueba de transformación de linfocitos

Esta prueba está basada en la estimulación de los linfocitos por el alérgeno y la medida de la incorporación de la timidina tritiada al ADN. Se trata de una prueba muy larga que necesita un período de incubación de 7 días y además no permite distinguir los diferentes tipos de alergia.

Prueba de desgranulación de basófilos

Se basa en la incubación de una muestra de sangre enriquecida en basófilos, con los alérgenos problema; si los anticuerpos poseen anticuerpos IgE fijados, se provoca una desgranulación por liberación de histamina.

Pruebas in vivo

Pruebas de reacción cutánea y oral. Prueba de provocación
No ofrece lugar a dudas que las pruebas cutáneas con los diferentes fármacos son de gran valor en el diagnóstico de las reacciones alérgicas, pero no dejan de ser perjudiciales para el paciente. Tras la aplicación local de alérgenos se valora el eritema y/o el edema a los 20 min de la punción. Una prueba negativa hace poco probable la naturaleza alérgica del fármaco ensayado.

Esta prueba puede fallar en numerosos casos, como cuando se administra el hapteno solo o cuando ha transcurrido mucho tiempo desde la última reacción alérgica. Otro inconveniente es la hipersensibilidad tardía y que aparece entre las 24 y 48 h tras la inyección y no se trata de una reacción de tipo humoral mediada por la IgE, sino que se trata de una respuesta celular mediada por los linfocitos T, generalmente, aparecen cuando no ha existido un contacto previo con el antígeno ensayado.

Aunque también se utilizan, las pruebas de administración oral son peligrosas y pueden resultar muy dañinas para el paciente y se deben aplicar bajo una supervisión médica muy estricta.

Prueba de Prausnitz-Kústner

Es una prueba en desuso que se usaba antiguamente. Se basaba en la transferencia, por vía intradérmica, de anticuerpos del sujeto que se explora a un sujeto sano. Pasado un tiempo (normalmente 24 h), se inyecta el alérgeno sospechoso y si este sujeto ha desarrollado anticuerpos, se provoca eritema y edema local. Se trata de una prueba con carácter específico.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses.

Bibliografía general

- Balcells A. La clínica y el laboratorio. 15.ª ed. Barcelona: Masson-Salvat; 1991.
- Chaabane A, Aouam K, Boughattas NA, Chakroun M. Allergy to betalactams: Myth and realities. *Med Mal Infect.* 2009;39: 278-87.
- Christie PE, Smith CM, Thien F. Urinary leukotriene E4 concentrations increase after aspirin challenge in aspirin-sensitive asthmatic patients. *Am Rev Respir Dis.* 1991;143:1025-9.
- De Weck AL. Cellular allergen stimulation test (CAST). A new dimension in allergy diagnostics. *Allergy Clin Immunol News.* 1993;5:9-14.
- Fall BI, Niessner R. Detection of known allergen-specific IgE antibodies by immunological methods. *Methods Mol Biol.* 2009;509:107-22.
- Halevy S, Grossman N. Multiple drug allergy in patients with cutaneous adverse drug reactions diagnosed by in vitro drug-induced interferon-gamma release. *Isr Med Assoc J.* 2008;10:865-8.
- Iten A, Plojoux J, Taramarcz P. Allergy to penicillins and to cephalosporins: should we fear cross-reactivity? *Rev Med Suisse.* 2007;3:2339-40.
- Khalil G, El-Sabban M, Al-Ghadban S, Azzi S, Shamra S, Khalifé S, et al. Cytokine expression profile of sensitized human T lymphocytes following in vitro stimulation with amoxicillin. *Eur Cytokine Netw.* 2008;19:131-41.
- Khalimova ZA, Esedov EM, Ashurbekova LB. Diagnostic value of leukocytic alteration test (in vitro) for drug-induced allergy in a therapist's practice. *Klin Lab Diagn.* 2008;12:23-4, 32-3.
- Leppard B, Dakin MC. Tratamiento en dermatología. 1.ª ed. Oxford: Radcliffe Medical Press Ltd.; 1994.
- Maltby NH, Ritter JM, Moore K, Fuller RW, Dollery CT. Leukotriene C4 elimination and metabolism in man. *J Allergy Clin Immunol.* 1990;85:3-9.
- Mita H, Yui Y, Yasueda H, et al. Allergen-induced histamine release and immunoreactive leukotriene C4 generation from leukocytes in mite sensitive asthmatic patients. *Prostaglandins.* 1986;31:869-86.
- Pebelo Gomes E, Fonseca J, Araujo L, Demoly P. Drug allergy claims in children: from self-reporting to confirmed diagnosis. *Clin Exp Allergy.* 2008;38:191-8.
- Reinke M, Hoppe U, Röder T, et al. A monoclonal antibody against the sulfidopeptide leukotrienes LTC4, LTD4 and LTE4. *Biochem Biophys Acta.* 1991;1081:274-8.
- Rodríguez-Trabado A, Cámara-Hijón C, Ramos-Cantariño A, et al. Basophil activation test for the in vitro diagnosis of nonsteroidal anti-inflammatory drug hypersensitivity. *Allergy Asthma Proc.* 2008;29:241-9.
- Sala A, Murphy MC. Leukotriene E4 elimination and metabolism in normal human subjects. *J Biol Chem.* 1990;265:21771-8.
- Sanz ML, Gamboa PM, De Weck AL. Cellular tests in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Curr Pharm Des.* 2008;14:2803-8.
- Schleimer RP, et al. Inflammatory mediators and mechanism of release from purified human basophils and mast cells. *J Allergy Clin Immunol.* 1984;74:473-81.
- Skazik C, Grannemann S, Wilbers L, Merk HF, Coenraads PJ, Breuer S, Blömeke B. Reactivity of in vitro activated human T lymphocytes to p-phenylenediamine and related substances. *Contact Dermatitis.* 2008;59:203-11.
- Stephan CH, Sauvé S, Fournier M, Brousseau P. Use of proliferation tests to evaluate the effects of complexing agents on beryllium toxicity. *J Appl Toxicol.* 2009;29:27-35.
- Trcka J, Schmidt C, Seitz CS, Bröcker EB, Gross GE, Trautmann A. Anaphylaxis to iodinated contrast material: nonallergic hypersensitivity or IgE-mediated allergy? *AJR Am J Roentgenol.* 2008;190:666-70.