



ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL  
DE LA USC

María Teresa  
Blanco Ramos

Tesis doctoral

Factores genéticos y epidemiológicos que influyen en la gravedad de las reacciones sistémicas alérgicas por veneno de himenópteros

Santiago de Compostela, 2025



ESCOLA DE DOUTORAMENTO INTERNACIONAL  
(EDIUS)

**Tesis Doctoral**

**Factores genéticos y epidemiológicos que influyen en la  
gravedad de las reacciones sistémicas alérgicas por  
veneno de himenópteros**

**María Teresa Blanco Ramos**

**Directora: Carmen Vidal Pan**

ESCOLA DE DOUTORAMENTO INTERNACIONAL  
PROGRAMA DE DOUTORAMENTO  
EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA EN MEDICINA

SANTIAGO DE COMPOSTELA



2025



## **ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES**

Los estudios de la presente tesis fueron revisados y aprobados por el Comité Regional de Ética (Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia / Comité de Ética de la Investigación Santiago-Lugo), código CEIC 2016-464 (adjunto como Anexo).

## **FINANCIACIÓN**

Los trabajos de la presente tesis fueron financiados por La Fundación de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica, por el Instituto de Salud Carlos III mediante el proyecto PI019/01023 y fondos propios del Servicio de Alergología del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela.

## **CONFLICTOS DE INTERESES**

La autora y la directora de esta tesis declaran no tener conflictos de interés en relación con los contenidos de la presente tesis doctoral.



## AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer profundamente a todas las personas que han hecho posible el desarrollo de este trabajo. A mis pilares académicos y a mis raíces.

En primer lugar, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la Dra. Carmen Vidal, por haberme aconsejado a la hora de elegir esta especialidad que tanto me apasiona y por haber sido el motor que ha hecho posible este trabajo. Gracias por tu apoyo constante, por acompañarme desde el inicio de mi trayectoria en medicina, y por compartir generosamente tu conocimiento y tu tiempo. Tu implicación ha sido un verdadero apoyo a lo largo de estos años. Siempre serás para mí un referente.

Agradezco profundamente a Raquel Cruz, miembro del equipo de Medicina Xenómica, por su constante disponibilidad y por su valiosa ayuda en el desarrollo de esta tesis. Su claridad y paciencia al explicarme los análisis estadísticos y genéticos han sido esenciales para avanzar en este proyecto.

A la Fundación Pública de Medicina Xenómica, al Servicio de Alergología del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela y al Servicio de Secuenciación de ADN de la Universidad de Salamanca, gracias por su colaboración en el procesamiento de las muestras y por facilitar cada paso técnico del trabajo.

Al Servicio de Alergología del Hospital Universitario Puerta de Hierro donde tuve el privilegio de iniciar mi carrera como médico, formarme como alergóloga y adquirir gran parte de mi conocimiento que hoy define mi práctica profesional. Gracias por tantos buenos recuerdos vividos durante la etapa de la residencia. En especial gracias a Antonio, Marta López, María y Paloma.

También quiero expresar mi agradecimiento a los pacientes, los verdaderos protagonistas de nuestro trabajo y de este proyecto de investigación.

A mis padres, Juan y Bebé, mis referentes vitales y profesionales. Siempre he admirado vuestra capacidad para combinar la excelencia académica con la cercanía y la humildad. Me habéis enseñado que el valor de una persona se mide más por lo humano que por lo profesional, y que el esfuerzo, la constancia y la humildad son las verdaderas bases del éxito. Podéis sentir este “éxito” como vuestro, porque es el reflejo de parte de todo el esfuerzo que habéis hecho por mí.

A mi marido y a mi hijo, Miguel y Miguelito, mi mayor motivación y compañía constante. Gracias por vuestro apoyo incondicional, a pesar del tiempo compartido que a menudo he tenido que restar por este y otros proyectos. Gracias por caminar a mi lado en cada una de las decisiones importantes de mi vida, por animarme cuando me faltaban las fuerzas y por no dejarme abandonar incluso en los momentos de mayor cansancio. GRACIAS.

A mis hermanos, Juanito y Beatriz, por estar siempre presentes y por haber sido fundamentales en momentos clave de este camino. Siempre habéis sido y seréis un apoyo imprescindible.

A Diego y María, quienes me orientaron incluso antes de comenzar a preparar el MIR, y especialmente a Diego, por guiarme en esta especialidad tan bonita que hoy compartimos.

A mis amigas que han sido siempre apoyos fundamentales. En especial a mi amiga María, quien sabe de buena mano lo que supone un trabajo como este y no ha dejado de darme ánimos para terminarlo. Mi amiga Inés por su admiración constante hacia mi trabajo y por valorarme profesionalmente mucho más de lo que yo lo hago. A mi prima Ros, que ha estado a mi lado durante toda mi trayectoria y me ha acompañado en mi recorrido profesional desde nuestros inicios.

Y, por último, a mis abuelos, en particular a mi abuelo Pepe, cuya ausencia siento especialmente al terminar este proyecto. Estoy segura de que le hubiese hecho mucha ilusión verme cerrar esta etapa.

A todos, siempre ¡muchas gracias!

## ESTRUCTURA GENERAL DE LA TESIS Y ROL DE LA DOCTORANDA

Todos los estudios se realizaron en el Servicio de Alergología del Complejo Hospitalario de Santiago con participación de la Fundación Pública de Medicina Xenómica y del Servicio de Secuenciación de ADN (Servicio de apoyo a la investigación-Nucleus), de la Universidad de Salamanca. Los estudios contaron con financiación de la Fundación de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica, siendo la investigadora principal la directora de esta Tesis y participando la doctoranda como investigadora colaboradora.

La doctoranda ha sido la responsable directa de la información y análisis de los datos de los estudios realizados así como su interpretación.



## RESUMEN

### Introducción.

Las reacciones sistémicas alérgicas por veneno de himenópteros son un problema de salud relevante, con potencial para provocar anafilaxias graves. Aunque los mecanismos inmunológicos subyacentes han sido bien caracterizados, existen factores genéticos y epidemiológicos cuya influencia en la gravedad de estas reacciones no se conoce en profundidad. En los últimos años, el desarrollo de estudios de asociación genética de todo el genoma (GWAS) ha permitido aclarar el papel de la genética en algunas enfermedades pero, hasta ahora, no han tenido como objetivo la anafilaxia frente al veneno de los himenópteros o posibles trastornos mastocitarios relacionados.

### Objetivo general.

Investigar las posibles variaciones génicas asociadas a la predisposición a padecer anafilaxia grave tras picadura de himenópteros, mediante un estudio de asociación de genoma completo (GWAS) realizado en pacientes gallegos, tratando de detectar marcadores genéticos relacionados con la presencia de posibles síndromes de activación mastocitaria o de hiperalfatriptasemia. El estudio también analizó factores epidemiológicos, niveles de triptasa y uso de adrenalina en relación con la gravedad de la reacción, así como la influencia del tipo de himenóptero implicado.

### Pacientes y Métodos.

Estudio transversal de identificación de polimorfismos genéticos asociados a gravedad en las reacciones alérgicas por la sensibilización al veneno de los himenópteros. Se incluyeron un total de 288 pacientes adultos diagnosticados de reacción sistémica por alergia al veneno de himenópteros, clasificados según la gravedad de la reacción mediante la clasificación de Brown. Se recopilaron datos clínicos, demográficos, analíticos e inmunológicos. A nivel genético, se llevó a cabo un estudio de asociación de genoma completo (GWAS) en los pacientes gallegos que estaban siendo tratados por esta patología en el Servicio de Alergología del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, y se determinó la presencia de H $\alpha$ T mediante análisis del número de copias del gen TPSAB1 en los pacientes con cifras de triptasa basal igual o superior a 8 ng/mL, tratando de relacionar los resultados del número de copias con los hallazgos del GWAS. El análisis estadístico se basó en modelos de regresión logística multivariante.

### Resultados.

En la cohorte de pacientes estudiada, el estudio de GWAS permitió identificar un polimorfismo de nucleótido único (SNP) sugestivo de hiperalfatriptasemia familiar (H $\alpha$ T), concretamente los SNPs rs72775463 y rs1223887, localizados en el cromosoma 16, en pacientes con anafilaxia de grados 2 y 3 y niveles basales de triptasa iguales o

superiores a 8 ng/mL. En este subgrupo, se confirmó la presencia de H $\alpha$ T en el 38,7% de los casos, observándose una correlación significativa entre la alteración genética y los SNPs identificados. Desde el punto de vista clínico, las reacciones sistémicas más graves fueron más frecuentes en varones, pacientes de edad avanzada, personas en tratamiento con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) o  $\beta$ -bloqueantes, y en quienes presentaban un consumo habitual elevado de alcohol. Además, se observó que la mayoría de las reacciones se producían en los primeros 15 minutos tras la picadura, y que los pacientes con mayor gravedad presentaban niveles basales de triptasa significativamente más elevados. En cuanto al tratamiento, el uso de adrenalina se correlacionó estrechamente con la gravedad del episodio: fue administrada en el 58,9% de las reacciones de grado 3, frente al 25,1% y 1,2% en los grados 2 y 1, respectivamente. Finalmente, el tipo de himenóptero también influyó en la gravedad, siendo las picaduras por *Vespa velutina* responsables de reacciones más graves que aquellas causadas por *Vespula* spp. o por *Apis mellifera*.

### **Conclusión general.**

El estudio de asociación de genoma completo ha permitido identificar un SNP asociado a hiperalfatriptasemia familiar en pacientes con anafilaxia grave y triptasa basal elevada. La H $\alpha$ T se confirma como un marcador genético de riesgo en este contexto, presente en más de un tercio de los pacientes con dichas características clínicas. Además, factores como la edad, el sexo masculino, ciertos tratamientos farmacológicos, el consumo de alcohol y la especie del himenóptero implicado, influyen significativamente en la gravedad de la reacción. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de una evaluación multidimensional del riesgo anafiláctico que integre factores clínicos, analíticos y genéticos, con implicaciones para la prevención y el manejo personalizado de los pacientes.

### **Palabras clave**

Anafilaxia; síndrome de activación mastocitaria; mastocitosis; hiperalfatriptasemia familiar (H $\alpha$ T); triptasa, asociación del genoma completo (GWAS); TPSAB1

## INDICE

<b>Aspectos éticos, financiación y conflictos de interés de la autora</b>	<b>III</b>
<b>Agradecimientos</b>	<b>V</b>
<b>Estructura general de la tesis y rol de la doctoranda</b>	<b>VII</b>
<b>Resumen</b>	<b>IX</b>
<b>Índice</b>	<b>XI</b>
<b>Índice de Figuras</b>	<b>XIII</b>
<b>Índice de Tablas</b>	<b>XIV</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Los himenópteros como agentes responsables de reacciones alérgicas</b>	<b>2</b>
1.1.1. La sensibilización al veneno de los himenópteros	4
1.1.2. Características de las reacciones por el veneno de los himenópteros	4
1.1.3. Factores de riesgo asociados a una mayor gravedad de reacción alérgica	7
<b>1.2. La predisposición genética en la alergia</b>	<b>11</b>
<b>1.3. Mastocitos y triptasa, dos agentes importantes en la anafilaxia</b>	<b>12</b>
1.3.1. Mastocitos	12
1.3.2. Triptasa	15
<b>1.4. Cuando los mastocitos y/o la triptasa están alterados</b>	<b>17</b>
1.4.1. Mastocitosis	17
1.4.2. Síndromes de activación mastocitaria (MCAS de sus siglas en inglés)	19
1.4.3. Alfa-hipertriptasemia familiar (HaT)	23
<b>2. Justificación</b>	<b>26</b>
<b>3. Objetivos</b>	<b>28</b>
<b>4. Métodos</b>	<b>30</b>
4.1. Diseño, ámbito y población del estudio	31
4.2. Determinaciones y procesamiento de muestras	33
4.3. Cálculo del tamaño muestral	36
4.4. Análisis estadísticos	37
4.5. Aspectos éticos y financiación	38
<b>5. Resultados</b>	<b>40</b>
5.1. Características de los pacientes en función del grado de anafilaxia	41

---

5.2. Distribución de la puntuación REMA en la población de casos	41
5.3. Triptasa basal y REMA	43
5.4. Estudio hematológico en los pacientes con REMA $\geq 2$	43
5.5. Pacientes con triptasa basal con un valor superior a 8 ng/mL	43
5.6. GWAS de la población de pacientes con anafilaxia por veneno de himenóptero con respecto a la población control	44
5.7. GWAS de la población de casos en función del grado de anafilaxia	45
5.8. Índice de Riesgo Poligénico para mastocitosis	50
5.9. Análisis del número de copias de $\alpha$ y $\beta$ triptasa en los pacientes con triptasa basal igual o superior a 8 ng/mL	52
5.10. Correlación GWAS y análisis de copias	54
<b>6. Discusión</b>	<b>56</b>
6.1. Contextualización de los resultados	57
6.2. Limitaciones, fortalezas y líneas futuras de investigación	66
<b>7. Conclusiones</b>	<b>70</b>
<b>8. Bibliografía</b>	<b>72</b>
<b>9. Anexos</b>	<b>81</b>
<b>Anexo I: Vía rápida para anafilaxia por veneno de himenópteros</b>	<b>82</b>
<b>Anexo II: Consentimiento informado</b>	<b>84</b>
<b>Anexo III: Cuaderno de Recogida de Datos (CRD)</b>	<b>86</b>
<b>Anexo IV: Autorización del Comité Ético de Investigación de Galicia</b>	<b>91</b>
<b>Anexo V: Listado de Verificación STROBE</b>	<b>94</b>

---

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Principales especies de himenópteros implicadas en la sensibilización alérgica.	<b>2</b>
<b>Figura 2.</b> Representación de la inmunoglobulina E (IgE), responsable de las reacciones de alergia.	<b>4</b>
<b>Figura 3.</b> Reacción local normal tras la picadura, en este caso, de una abeja.	<b>5</b>
<b>Figura 4.</b> Reacción local aumentada normal a los 27 minutos de la picadura de una abeja.	<b>6</b>
<b>Figura 5.</b> Imagen de dos mastocitos en la médula ósea (x1000).	<b>13</b>
<b>Figura 6.</b> Activación del mastocito tras el contacto del alérgeno con dos moléculas de IgE ancladas en su superficie a través del receptor FCεRI.	<b>14</b>
<b>Figura 7.</b> Imagen de β-triptasa humana.	<b>17</b>
<b>Figura 8.</b> Genotipos de triptasa en pacientes sanos y con α-triptasemia hereditaria.	<b>24</b>
<b>Figura 9:</b> Porcentaje de pacientes que, teniendo un valor de triptasa ≥ o < de 8 ng/mL, presentaron una anafilaxia de grado similar.	<b>44</b>
<b>Figura 10.</b> Manhattan plot de los resultados del GWAS (Genome-wide association) de los casos respecto a controles	<b>45</b>
<b>Figura 11.</b> Manhattan plot con los resultados del GWAS de riesgo de anafilaxia de grado 2 y 3 respecto a anafilaxia de grado 1.	<b>46</b>
<b>Figura 12.</b> Manhattan plot del GWAS de riesgo de anafilaxia de grados 2 y 3 respecto a anafilaxia de grado 1, ajustando para covariables (género, edad y componentes principales) y niveles de triptasa basal.	<b>47</b>
<b>Figura 13.</b> Manhattan plot del GWAS de riesgo de anafilaxia de grados 2 y 3 respecto a anafilaxia de grado 1, ajustando para covariables (género, edad y componentes principales) cuando la triptasa se dicotomiza en función del punto de corte 8 ng/mL sugerido para la búsqueda de HxT.	<b>48</b>
<b>Figura 14.</b> Regional plot en torno SNP de TPSG1.	<b>49</b>
<b>Figura 15.</b> Imagen de MAGMA con identificación a nivel de gen para TPSG1.	<b>50</b>
<b>Figura 16.</b> Índice de riesgo poligénico de mastocitosis calculado según Galatá et al., 2021 en función de los valores de triptasa basal dicotomizada con punto de corte en 8 ng/mL (A) o en función de un REMA <2 o ≥2 (B).	<b>51</b>
<b>Figura 17.</b> Índice de riesgo poligénico de mastocitosis calculado según Galatá et al., 2021 en función del grado de anafilaxia.	<b>51</b>
<b>Figura 18.</b> Índice de riesgo poligénico de mastocitosis calculado según Galatá et al., 2021 en función del sexo.	<b>52</b>
<b>Figura 19.</b> Distribución de los fenotipos del SNP ch16:1223887:G:t_T en los grupos definidos en función del test de triptasa	<b>54</b>

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Relación de alérgenos identificados en los venenos de <i>Apis mellifera</i> , <i>Vespula vulgaris</i> y <i>Polistes dominula</i> .	<b>3</b>
<b>Tabla 2.</b> Clasificación de Brown de las reacciones sistémicas de acuerdo con su gravedad	<b>7</b>
<b>Tabla 3.</b> Principales mediadores mastocitarios que están implicados en los síntomas más comunes de los síndromes de activación mastocitaria	<b>15</b>
<b>Tabla 4.</b> Clasificación de la mastocitosis según Valent et al, 2024	<b>18</b>
Tabla 5. Criterios diagnósticos de mastocitosis sistémica. Para su diagnóstico deben estar presentes 1 criterio mayor y 1 criterio menor o, al menos, 3 criterios menores.	<b>19</b>
<b>Tabla 6.</b> Riesgo de progresión y riesgo de anafilaxia en función del tipo de mastocitosis (WHO).	<b>19</b>
<b>Tabla 7.</b> Sintomatología sugestiva de activación mastocitaria que deben presentar los pacientes en los que se establezca la sospecha de un síndrome de activación mastocitaria de acuerdo con el Consenso de Viena del año 2012 y reconfirmados en el 2019.	<b>20</b>
<b>Tabla 8.</b> Cálculo del riesgo de padecer un síndrome de activación mastocitaria clonal según REMA.	<b>23</b>
<b>Tabla 9.</b> Características de la población de estudio incluida dentro del grupo de casos.	<b>32</b>
<b>Tabla 10.</b> Rasgos diferenciales epidemiológicos de los pacientes con reacción anafiláctica en función del grado de anafilaxia.	<b>42</b>
<b>Tabla 11.</b> Distribución de la población de casos de acuerdo con el estadiaje REMA.	<b>42</b>
<b>Tabla 12.</b> Distribución de la población de casos de acuerdo con el estadiaje REMA en función del grado de anafilaxia.	<b>43</b>
<b>Tabla 13.</b> Lead SNPs que sobrepasan el umbral de $5 \times 10^{-5}$ en la población de casos con anafilaxia de grados 2 y 3 respecto a casos con anafilaxia de grado 1.	<b>46</b>
<b>Tabla 14.</b> Lead SNPs que sobrepasan el umbral de $5 \times 10^{-5}$ y $5 \times 10^{-8}$ en la población de casos con anafilaxia de grados 2 y 3 respecto a casos con anafilaxia de grado 1 en función del valor de triptasa basal $>8$ ng/mL.	<b>49</b>
<b>Tabla 15.</b> Resultado pormenorizado del número de copias en los pacientes con triptasa basal igual o superior a 8 ng/mL.	<b>53</b>
<b>Tabla 16.</b> Relación de los resultados obtenidos en GWAS respecto a la alteración que define H $\alpha$ T en la que se observa la relación significativa entre el SNP sugestivo detectado en GWAS y la H $\alpha$ T.	<b>54</b>
<b>Tabla 17.</b> Resumen de los principales hallazgos del estudio alineados con sus objetivos	<b>57</b>

Todas las Tablas han sido elaboración propia de la autora de la tesis, indicando, cuando fue necesario, la fuente origen.

## 1. INTRODUCCIÓN



## 1.1. Los himenópteros como agentes responsables de reacciones alérgicas

Los himenópteros son insectos capaces de inyectar el veneno que contienen en su saco y provocar, en pacientes sensibilizados, una reacción alérgica que puede ser, potencialmente, mortal. Para ello, las hembras transforman su aparato ovopositor con un aguijón que clavan en la piel como mecanismo de defensa, inoculando el veneno contenido en su saco [Ruiz-León, 2021]. Las especies de mayor interés alergológico son Apidae, Vespidae y Formicidae, si bien estas últimas incluyen varias especies de hormigas que suelen ser inofensivas y sin aguijón. La familia Apidae está constituida por abejas (*Apis*) y abejorros (*Bombus*). En el caso de las abejas, son las obreras o polinizadoras las que contienen veneno. De esta familia las responsables de la mayoría de las picaduras, en Europa, son las abejas de la miel (*Apis mellifera*) [Fernández et al., 2005; Pérez Pimiento, 2019]. La familia Vespidae consta de las avispas (género *Vespula*, *Dolichovespula* y *Polistes*) y los avispones (género *Vespa*), existiendo diferencias en la especie implicada en función de su distribución geográfica. Así, por ejemplo, para el género *Polistes*, las llamadas “avispas papeleras”, la especie más frecuente en la Península Ibérica es *Polistes dominula*. Dentro del género *Vespa* destacan *Vespa crabro* o avispón europeo (es la especie autóctona más grande del continente) y la especie invasora *Vespa velutina* o avispón asiático que ha cobrado cierta relevancia en varios países de Europa y en la comunidad autónoma de Galicia en los últimos años debido al gran aumento de prevalencia de reacciones alérgicas que provocan [Fernández et al., 2005; Pérez-Pimiento, 2019; Rolera Caragata & Viejo Montesinos, 2020; Ruiz León, 2021; Vidal et al., 2021; Vidal, 2022]. En la Figura 1 se presenta una fotografía de las principales especies implicadas en la patología alérgica.



**Figura 1.** Principales especies de himenópteros implicadas en la sensibilización alérgica. (1) *Apis mellifera*; (2) *Bombus* spp; (3) *Vespula* spp; (4) *Polistes dominula*; (5) *Vespa crabro* y (6) *Vespa velutina nigrithorax*. Imagen original de Xesús Feás Sánchez.

De especial relevancia es la *Vespa velutina*, especie invasora que, además de los problemas de salud que conllevan sus picaduras, suponen una grave amenaza para las poblaciones de *Apis mellifera* y otros himenópteros en Europa [Monceau et al., 2014; Rolera Caragata & Viejo Montesinos, 2020] a las que atacan al entrar o salir de la colmena pues constituyen una fuente de alimentos para sus larvas [Monceau et al., 2013; Monceau et al., 2014; Rolea-Caragata & Viejo-Montesinos, 2020]. Esto supone, aparte de los efectos ecológicos que causa, un impacto económico, social y sanitario al implicar un importante aumento en el gasto público para controlar su extensión mediante campañas específicas como las que se llevan a cabo en Galicia.

El veneno de los himenópteros está formado por péptidos de bajo peso molecular, proteínas de alto peso molecular y otros componentes que actúan como enzimas, toxinas y alérgenos, pudiendo desencadenar reacciones adversas tóxicas y alérgicas tras sus picaduras [Barbet-Massin et al., 2020; Herrera et al., 2020; Rojas-Nossa et al., 2021].

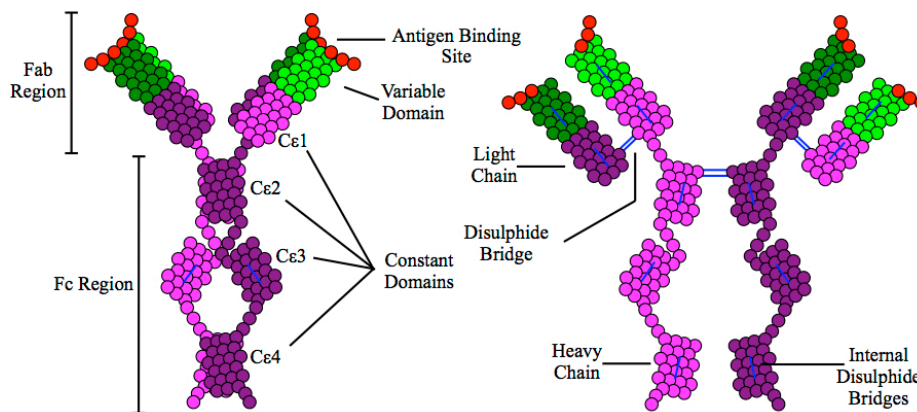
Los principales alérgenos de los venenos de himenópteros se recogen en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Relación de los principales alérgenos identificados en los venenos de *Apis mellifera*, *Vespula vulgaris* y *Polistes dominula*.

ESPECIE	ALÉRGENO	kDa	PROTEÍNA
<b><i>Apis mellifera</i></b>	Api m 1	16	Fosfolipasa A2
	Api m 2	39	Hialuronidasa
	Api m 3	43	Fosfatasa ácida
	Api m 4	3	Melitina
	Api m 5	100	Dipeptilpeptidasa IV
	Api m 6	8	Inhibidor de proteasa
	Api m 7	39	Serina proteasa con dominio CUB
	Api m 8	70	Carboxiesterasa
	Api m 9	60	Carboxipeptidasa
	Api m 10	55	Proteína rica en carbohidratos (CRP)/ icarpina
	Api m 11	60	Proteína prinicoal de la jalea real (MRJP)
	Api m 12	200	Vitelogenina
<b><i>Vespula vulgaris</i></b>	Ves v 1	38	Fosfolipasa A1
	Ves v 2	38	Hialuronidasa
	Ves v 3	100	Dipeptilpeptidasa IV
	Ves v 4	33	Proteasa
	Ves v 5	23	Antígeno 5
	Ves v 6	200	Vitelogenina
<b><i>Polistes dominula</i></b>	Pol d 1	34	Fosfolipasa A1
	Pol d 2	38	Hialuronidasa
	Pol d 4	33	Proteasa
	Pol d 5	23	Antígeno 5

### 1.1.1. La sensibilización al veneno de los himenópteros: primer paso necesario para explicar la reacción alérgica

El sujeto alérgico reacciona ante la picadura de un himenóptero por presentar inmunoglobulina E (IgE) (Figura 2) específica frente a alguno de los componentes del veneno. Para ello es necesario que exista una primera fase de sensibilización en la que se produce IgE específica frente al alérgeno con el que se ha contactado. De acuerdo con la clasificación de las reacciones de hipersensibilidad, se corresponde con una reacción de tipo I y precisa de la existencia de un perfil de citosinas de tipo 2 que sea favorable para el cambio de isotipo de la inmunoglobulina hacia la IgE [Schiener et al., 2017]. Tras el contacto, habitualmente en el caso de los himenópteros, por vía parenteral (secundario a la picadura e inyección del veneno en la piel), las células dendríticas presentadoras de antígeno, recogerán los alérgenos y en un ambiente favorable con IL-4, IL-9, IL-13 entre otras, facilitará el cambio a la IgE. Una vez existe ya IgE específica frente al alérgeno, éste se va a localizar en la superficie de las células efectoras permaneciendo unida al receptor de alta afinidad hasta el contacto con el alérgeno que activará la respuesta alérgica. En la Figura 2 se muestra la estructura de la IgE.



**Figura 2.** Representación de la inmunoglobulina E (IgE), responsable de las reacciones de alergia. "IgE" por SariSabban con licencia Creative Commons BY-SA 3.0.

### 1.1.2. Características de las reacciones provocadas por el veneno de los himenópteros en relación con su sensibilización

Las picaduras por himenópteros son muy comunes con datos que indican que el 56.6%-94.5% de la población general ha sido picada en algún momento de su vida [Antonicelli et al., 2002; Sturm et al., 2018; Kačar et al., 2023]. Además, los insectos son la tercera causa de anafilaxia precedida por los alimentos y los medicamentos [Beyer et al., 2012]. La prevalencia de la sensibilización asintomática (indicada por una prueba cutánea positiva o la detección de IgE específica en pacientes sin antecedentes) se estima en

entre el 9.3% y el 28.7% en la población adulta. Parece lógico pensar que, entre otros factores, exista una relación directa entre la capacidad de sensibilización y el grado de exposición a las picaduras [Charpin et al., 1994; Antonicelli et al., 2002].

Se estima que estas picaduras pueden producir una reacción local extensa en el 2.3% a 18.6% de la población, y aunque las reacciones sistémicas graves en Europa son poco frecuentes (tiene una tasa de prevalencia del 0.4-0.8% en niños y del 0.3-8.9% en adultos, aumentando hasta el 42% entre apicultores), se trata de una enfermedad potencialmente mortal. La mortalidad por picadura de himenópteros puede estar subestimada en la población debido a que, en muchos casos, son muertes en el exterior en las que no se identifica un agente responsable [Antonicelli et al., 2002; Sturm et al., 2018; Feás et al., 2022].

La reacción local que se produce en la zona de la picadura se debe considerar normal y es debida a los componentes vasoactivos del veneno que provocan una reacción inflamatoria transitoria con eritema, edema, que se puede acompañar de dolor y prurito debido a las propiedades del veneno inyectado (Figura 3). Esta clínica suele remitir de forma espontánea en 24-48 horas pero puede persistir más tiempo, particularmente, si se complican con una sobreinfección [Golden, 2005; Ruiz León, 2021].



**Figura 3.** Reacción local normal tras la picadura, en este caso, de una abeja. Fotografía bajo licencia de Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0.

En el contexto de reacciones consideradas como anormales y, a modo de resumen, se consideran tres tipos de reacciones clínicas:

- (i) *Reacción local extensa.* Es el tipo de reacción más frecuente y consiste en un habón localizado de más de 10 cm de diámetro o que alcance, al menos, dos articulaciones (Figura 4). En general, son reacciones que persisten más allá de 24 horas. Varios estudios confirman que este tipo de reacciones tienen un riesgo bajo de desarrollar una reacción sistémica tras una nueva picadura: entre el 5 y

el 10% en adultos y el 2% en niños [Mauriello et al., 1984; Fernández, 1999; Antonicelli et al., 2002; Biló et al., 2005; Kačar et al., 2023;].



**Figura 4.** Reacción local aumentada normal a los 27 minutos de la picadura de una abeja. Aunque la reacción no es, aparentemente, de gran tamaño, se observa que afecta a dos articulaciones por lo que adquiere la denominación de “aumentada”. Fotografía bajo licencia de Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0.

- (ii) *Reacción sistémica.* Se considera sistémica cualquier reacción que se extiende más allá del lugar de la picadura original. Puede afectar a entre el 0,4 y el 3,3% de los pacientes y su gravedad es variable, ya que puede ser exclusivamente cutánea (considerándose leves) o afectar a varios órganos pudiendo provocar la muerte. Para estratificar este tipo de reacciones se emplean diversas clasificaciones: clasificación de Brown (empleada en el presente estudio y detallada en la Tabla 2), clasificación de Müller o la reciente Clasificación de la Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica (EAACI) en la que además se incluyen las reacciones locales [Mueller, 1966; Muraro et al., 2018]. La clasificación de Müller se divide en cuatro grados. **Grado I:** urticaria generalizada, prurito, malestar, inquietud. **Grado II:** angioedema o reacciones anteriores más 2 de las siguientes: constricción pulmonar, náuseas, diarrea, vértigo, dolor abdominal. **Grado III:** disnea, broncoespasmo, estridor o reacciones anteriores más 2 de las siguientes: disfagia, disartria, ronquera, debilidad, confusión. **Grado IV:** reacciones anteriores más 2 de las siguientes: hipotensión, colapso, inconsciencia, incontinencia de esfínteres, cianosis [Mueller, 1966].

En la Clasificación de la EAACI encontramos 3 grados. **Grado 1:** reacción alérgica local restringida a la piel o la mucosa que contacta con el alérgeno. **Grado 2:** reacción alérgica con afectación de piel en zona alejada del lugar de contacto con el alérgeno, de vía respiratoria superior y/o de tracto digestivo. **Grado 3:** reacción

alérgica grave, con potencial compromiso vital, con síntomas o signos de afectación cardiovascular, neurológica, bronquial y/o laríngea [Fernández, 1999; Muraro et al., 2018; Kačar et al., 2023]. Las reacciones anafilácticas potencialmente mortales tienen una tasa de recurrencia del 26.5% al 54%. [Kačar et al., 2023].

- (iii) *Reacción retardada*. Se trata de las reacciones más raras y tardías en la que los pacientes presentan manifestaciones de vasculitis, glomerulonefritis e, incluso, polirradiculitis [Pérez-Pimiento, 2019].

**Tabla 2.** Clasificación de Brown de las reacciones sistémicas de acuerdo con su gravedad

<b>Grado I. Leve</b>
Afectación cutánea en forma de eritema, urticaria y/o angioedema con malestar general sin datos objetivos de afectación de otros órganos.
<b>Grado II. Moderada</b>
Afectación respiratoria (disnea, estridor, sibilancias), cardiovascular (mareo, sudoración, opresión torácica) y/o gastrointestinal (vómitos, diarrea, dolor abdominal).
<b>Grado III. Grave</b>
Presencia de cianosis, saturación de O <sub>2</sub> por debajo del 92%, hipotensión, confusión, hipotonía y/o pérdida de conocimiento.

### 1.1.3. Identificación de los factores de riesgo asociados a una mayor gravedad de reacción alérgica

El riesgo de presentar una reacción sistémica dependerá del paciente, la frecuencia de exposición al himenóptero, del tipo de reacción sufrida en picaduras previas y el tratamiento administrado. Además, existen una serie de factores que se asocian a una mayor gravedad y por tanto a un mayor riesgo de muerte:

- i) Género.* Es un hecho que se repite en la mayoría de los estudios epidemiológicos relacionados con la alergia al veneno de los himenópteros, las reacciones ocurren con más frecuencia en los hombres que en las mujeres, llegando a ser de una proporción 2:1 o, incluso, superior [Antonicelli et al., 2002; Fenger et al., 2012; Stoevesandt et al., 2020; Ruiz León, 2021]. No es solo más frecuente, si no también, potencialmente más grave [Ruëff et al., 2009a; Stoevesandt et al., 2020] y, por tanto, con un mayor riesgo de muerte [Simon & Mulla, 2008; Xu et al., 2014; Jerschow et al., 2014; Mullins et al., 2016; Stoevesandt et al., 2020]. Por ello este parámetro se incluye como factor predictivo de la clonalidad de mastocitos en la puntuación REMA (escala propuesta por la Red Española de Mastocitosis con el objetivo de realizar un despistaje de pacientes con el fin de determinar la necesidad de una biopsia de médula ósea) [Álvarez-Twose et al., 2010; Álvarez-Twose et al., 2012] y que se

comentará posteriormente. Sin embargo, no queda claro hasta qué punto se puede considerar como una patología con mayor riesgo en los hombres ligado al sexo y sí estar sesgado porque los hombres presentan un mayor grado de exposición que justificaría una mayor probabilidad de sufrir picaduras (mayor número de hombres respecto a mujeres que realizan actividades laborales o recreativas en entornos donde habitan estos insectos) [Ruëff et al., 2009a; Jerschow et al., 2014; Stoevesandt et al., 2020].

**ii) Edad.** La edad avanzada es un factor de riesgo para las reacciones anafilácticas graves en general [Brown et al., 2013; R. V. Fenger et al., 2012; Stoevesandt et al., 2020]. Al igual que se ha descrito una predisposición dependiente de la edad en otros tipos de alergia como es el caso de la alergia a los alimentos, en las reacciones inducidas por veneno de himenópteros los resultados más graves son más frecuentes en los ancianos [Turner et al., 2015, Turner et al., 2017; Stoevesandt et al., 2020]. Este aumento de riesgo con respecto a la población infantil puede estar relacionado con las comorbilidades como las que se indican en el apartado siguiente.

**iii) Comorbilidades.** La enfermedad cardiovascular ha sido tradicionalmente relacionada con una mayor gravedad de las reacciones anafilácticas, independientemente de la causa que las provoque [Mueller, 2007]. En un estudio retrospectivo realizado en EE.UU., en el que se incluyeron 38695 pacientes atendidos en servicios de urgencias por reacciones de anafilaxia en un año, se encontró una asociación entre la enfermedad cardíaca y la gravedad de la reacción, con una mayor necesidad de ingreso hospitalario, tratamiento en unidades de cuidados intensivos o intubación [Motosue et al., 2017; Stoevesandt et al., 2020]. Además, los pacientes con antecedentes cardiovasculares tienden a presentar más frecuentemente anafilaxia con síntomas cardiovasculares asociados, como hipotensión brusca o shock distributivo [Muraro et al., 2007; Muraro et al., 2018; Stoevesandt et al., 2020].

Sin embargo, algunos estudios contradicen esta relación. Por ejemplo, en el análisis de niveles de triptasa en pacientes con síndrome coronario agudo, se concluyó que la activación de mastocitos en arterias coronarias probablemente no sea suficiente para elevar la triptasa a nivel sistémico [Fenger et al., 2012]. Otros estudios tampoco identificaron las comorbilidades cardiovasculares como un factor de riesgo significativo para reacciones sistémicas graves tras picaduras de himenópteros [Stoevesandt et al., 2012; Sturm et al., 2024].

Existe una entidad clínica, descrita en el año 1991 por Kounis y Zavras, denominada síndrome de Kounis [Kounis & Zavras, 1991] que consiste en la presencia de anafilaxia y eventos coronarios agudos de forma simultánea. Existen tres variantes descritas de este síndrome (angina alérgica vasoespástica,

infarto de miocardio alérgico sobre un paciente con factores de riesgo cardiovascular y trombosis de *stent* con trombo oclusivo). En las tres variantes intervienen los mediadores inflamatorios. Se debe recordar que el corazón es un órgano rico en mastocitos y es de esperar que, ante mastocitos revestidos de IgE específica cercanos a los vasos coronarios y miocitos, la liberación de mediadores que sigue a la interacción con el alérgeno, sea capaz de provocar sintomatología cardíaca y/o coronaria. En procesos coronarios, el número de mastocitos aumenta y consecuencia de su degranulación, provoca una liberación de mediadores (histamina, leucotrienos, prostaglandina D2 y el factor activador de plaquetas) que generan vasoconstricción coronaria y desencadenan eventos como taquicardia o arritmias cardíacas. Los fármacos que inhiben la degranulación de los mastocitos pueden ser eficaces para prevenir los episodios coronarios y cerebrovasculares agudos del síndrome de Kounis [Kounis, 2013; Muraro et al., 2018; Stoevesandt et al., 2020].

Por último, la atopia podría considerarse un factor de riesgo grave en los apicultores, ya que el riesgo de una reacción sistémica tras una picadura de abeja es cuatro veces mayor en apicultores atópicos que en no atópicos [Charpin et al., 1994; Annila et al., 1996; Antonicelli et al., 2002; Stoevesandt et al., 2020].

**iv) Medicación empleada por los pacientes.** Dos grupos de fármacos se han identificado en muchas series de pacientes con una mayor gravedad de reacciones alérgicas: fármacos betabloqueantes e inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA). Los efectos perjudiciales de los betabloqueantes en la anafilaxia se atribuyen a la inhibición de la adrenalina y a una mayor liberación de mediadores mastocitarios [Nassiri et al., 2015; Stoevesandt et al., 2020]. En el caso de los IECA, a una alteración de la degradación de la bradisinina y una interacción directa con los mastocitos [Nassiri et al., 2015]. Sin embargo, a pesar de que existen varias publicaciones que confirman un mayor riesgo de anafilaxia en pacientes que están en tratamiento con betabloqueantes o IECA [Stoevesandt et al., 2020] o incluso en combinación de ambos [Worm et al., 2018; Stoevesandt et al., 2020] existe una importante limitación en estos estudios que es la coexistencia de la enfermedad cardiovascular, pudiendo ser este el verdadero factor de riesgo [Lee et al., 2013; Worm et al., 2018]. Por otra parte, es importante diferenciar riesgo de anafilaxia con gravedad de la anafilaxia sufrida y los estudios no llegan a aclarar si lo que aumenta es el riesgo de padecer una anafilaxia en sí misma o de que, en caso de producirse, la gravedad de esta sea mayor. De hecho, recientes estudios demuestran una ausencia de relación entre el uso de medicación antihipertensiva y una mayor gravedad de las reacciones por picadura [Stoevesandt et al., 2020; Sturm et al., 2021; Sturm et al., 2024].

**v) Ejercicio físico.** Al igual que ocurre en otras reacciones alérgicas el ejercicio físico vigoroso realizado antes de presentar una anafilaxia reduce el umbral y aumenta la gravedad del episodio, actuando como cofactor. A diferencia de lo que sucede en otras reacciones alérgicas como es el caso de la alergia a los alimentos, tanto la ingesta de alcohol como el empleo de medicamentos del grupo de los antiinflamatorios no esteroideos (ácido acetilsalicílico, entre ellos) no se han identificado como cofactores en la alergia a himenópteros. [Worm et al., 2018; Stoevesandt et al., 2020;].

**vi) Tipo de insecto y número de picaduras.** El tipo de insecto implicado en la picadura puede influir en la gravedad de esta. Las reacciones suelen ser más graves a las picaduras de vespídos en comparación con las de abejas [Antonicelli et al., 2002; Stoevesandt et al., 2020]. La gravedad de la reacción previa padecida es uno de los factores de riesgo más importantes para la reaparición de reacciones sistémicas. Cuanto más graves sean los síntomas de la primera reacción, más probable es que la reacción sistémica reaparezca y lo haga con una gravedad similar o incluso mayor [Antonicelli et al., 2002; Stoevesandt et al., 2020]. Además, el tiempo transcurrido entre una picadura de insecto y el inicio de la anafilaxia es un indicador importante de gravedad y debería tenerse en cuenta en la historia clínica de pacientes alérgicos a venenos. Un intervalo de tiempo inferior a 5 minutos entre una picadura de insecto y la primera aparición de síntomas predice una anafilaxia grave [Stoevesandt et al., 2012; Stoevesandt et al., 2020].

Un gran número de picaduras simultáneas (>50) puede sensibilizar e inmediatamente ser seguidas por una anafilaxia en la primera picadura; sin embargo, la mayoría de las personas que desarrollan una reacción a la primera picadura no suelen tener factores de riesgo de alergia. Este tipo de picaduras suponen solamente un 5% de todas las muertes por picadura de himenópteros y suelen ser por la toxicidad del veneno más que por una reacción anafiláctica por sensibilización mediada por IgE. [Charpin et al., 1994; Antonicelli et al., 2002; Stoevesandt et al., 2020].

**vii) Tratamiento administrado en el momento de la reacción anafiláctica.** El tratamiento de elección de la reacción anafiláctica es la adrenalina; sin embargo, en muchas ocasiones, no se administra en tiempo y forma este tratamiento a los sujetos con síntomas evidentes de anafilaxia [Vidal et al., 2021; Cardona et al., 2022]. La administración de adrenalina en sí mismo no es un factor de riesgo para el desarrollo de anafilaxia, pero el retardo en su administración una vez que ya se ha producido, se ha relacionado con una mayor probabilidad de desarrollar complicaciones graves y por tanto ser un factor de riesgo para una anafilaxia grave. Es por ello que en las guías de manejo de anafilaxia se recomienda siempre administrar inmediatamente este fármaco [Antonicelli et al., 2002; Alrasbi & Sheikh, 2007; Simons et al., 2014; Kraft et al., 2020; Stoevesandt et al., 2020; Ruiz

León et al., 2021; Cardona et al., 2022; Muraro et al., 2022; Kačar et al., 2023]. Llama la atención que, a pesar de ser una recomendación generalizada por las Guías y Consensos internacionales, el porcentaje real de pacientes tratados recogidos en los registros europeos es muy bajo, alrededor del 27% y esta cifra incluye el tratamiento con adrenalina autoadministrado por los pacientes con sus autoinyectores [Dhami et al., 2014; Song et al., 2014; Grabenhenrich et al., 2018]. Es de destacar que, en el área sanitaria de Santiago de Compostela y Barbanza, las cifras de empleo de adrenalina durante la reacción anafiláctica en el tratamiento de la alergia al veneno de los himenópteros son sensiblemente más alta, llegando a superar el 50% y sobrepasar el 60% en aquellos casos tratados en el hospital [Santana et al., 2025].

## 1.2. La predisposición genética en la alergia

La atopia se define como la predisposición genética al desarrollo de enfermedades alérgicas y se tiende a identificar en estudios epidemiológicos por la presencia de una IgE total elevada (tras haber descartado otras causas de la misma como, por ejemplo, las parasitosis) y/o pruebas cutáneas positivas a aeroalérgenos ambientales habituales o alimentos comunes como leche y huevo [Johansson et al., 2001]. Estudios realizados en la población general arrojan valores de alrededor de un 25-30% de sensibilizaciones alérgicas marcadoras de atopia, entendida por la presencia de pruebas cutáneas positivas frente a aeroalérgenos ambientales habituales [Vidal et al., 2004].

La búsqueda de variantes genéticas que puedan modular las respuestas a la IgE ha sido, y sigue siendo, intensa. Existe una predisposición familiar en el desarrollo de la sensibilización atópica lo que sugiere factores genéticos. Un factor evidente es la capacidad global para desarrollar el isotipo IgE: cuanto más alta la concentración de IgE en sangre, mayor es la probabilidad de que el individuo se vuelva atópico lo que ha llevado a incluir como criterio de atopia la presencia de valores altos de esta inmunoglobulina en sangre. La mayoría de los genes implicados en los niveles de IgE sérica se encuentran en el brazo largo del cromosoma 5 y la mayoría de ellos están directamente implicados en la síntesis de citocinas que, a su vez, intervienen en la síntesis de IgE. Los polimorfismos comunes de estos genes y su interacción con el ambiente podrían explicar la variabilidad de los niveles de IgE en la población [Howard et al., 2003; Vercelli, 2005]. En relación a la posible influencia genética en el desarrollo de asma bronquial, enfermedad muy ligada a la alergia respiratoria, varios estudios demuestran que muchos genes distintos (ADAMS 33, DPP10, NPSR1, PCDH1...) contribuyen al desarrollo de asma, aunque ninguno de ellos por sí mismo es un factor predisponente [Cookson & Moffatt, 2004]. A pesar de todo esto, la relación entre atopia y algunas enfermedades alérgicas como la alergia a los medicamentos o a los venenos de los himenópteros no es definitiva [Delves et al., 2013]. Se considera a la alergia y la

atopia como una más de las enfermedades complejas en las que existe una predisposición genética que se va a ver influenciada por factores ambientales.

La elevada incidencia de la alergia a los himenópteros en ciertas familias podría ser el resultado casual de un estilo de vida compartido que expone a sus miembros a repetidas picaduras [Charpin et al., 1994] o a la existencia de algún rasgo genético como puede ser la presencia de alfatriptasemia hereditaria (cromosoma 16) [Lyons et al., 2017]. Aunque se han identificado varios genes que se cree que pueden aumentar el riesgo de desarrollar alergia estos insectos, actualmente se defiende que la predisposición genética no es responsable del desarrollo de alergia al veneno de los himenópteros, ya que se trata de una reacción multifactorial. En los siguientes apartados analizaremos en detalle algunas de estas entidades que han sido la razón principal de los estudios planteados en la presente tesis doctoral.

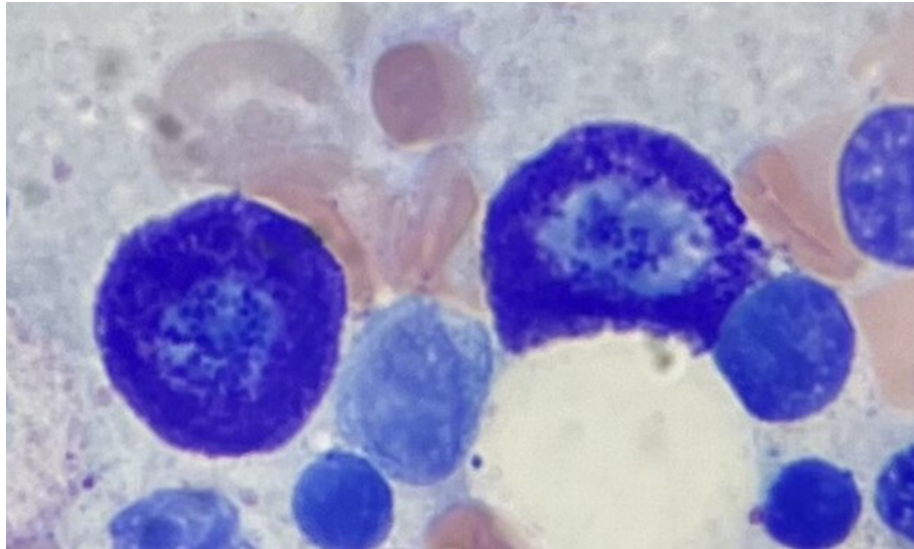
### **1.3. Mastocitos y triptasa, dos agentes importantes en la anafilaxia**

#### **1.3.1. Mastocitos**

Los mastocitos, o células cebadas, son células efectoras granuladas del tejido conjuntivo originadas por células mesenquimatosas a partir de un precursor hematopoyético CD34+ que se encuentra en la médula ósea, sangre periférica y cordón umbilical [Escribano et al., 1998; Varricchi & Marone, 2020]. Dicho precursor expresa los antígenos de superficie CD34, CD13 y el receptor del factor formador de colonias c-KIT (CD117), este último permanece en el mastocito maduro siendo fundamental para su proliferación, diferenciación y activación; mientras que los otros dos se pierden. La maduración de los mastocitos ocurre en órganos extramedulares, donde adquieren características fenotípicas específicas relacionadas con su estado de maduración y activación, así el tejido en el que se localiza. A pesar de estos cambios, mantienen su capacidad de proliferación [Escribano et al., 1998; González de Olano et al., 2016]. Se encuentran en todos los tejidos vascularizados, preferentemente en tejido conectivo siendo más numerosos en zonas de contacto con antígenos: dermis, mucosa y submucosa del tubo digestivo, conjuntiva, corazón, alvéolos pulmonares y vías respiratorias. Secretan mediadores proinflamatorios y vasoactivos que contribuyen en procesos fisiológicos y al mantenimiento de la homeostasis celular [Castells, 2006; González de Olano et al., 2016; Varricchi & Marone, 2020; Gülen et al., 2021].

Las características definitivas de los mastocitos varían en función del tejido en el que hayan completado su maduración y los mediadores que contengan. Los del tejido conjuntivo de piel y submucosa intestinal, tendrán gránulos con triptasa, quimasa y carbopeptidasa, mientras que los de las mucosas de los alveolos pulmonares y mucosa intestinal, tendrán gránulos con únicamente triptasa. Estos últimos dependen de linfocitos T para su fenotipo celular [Weidner & Austen, 1993; González de Olano et al.,

2016; Gülen et al., 2021]. En la Figura 5 se muestra el aspecto de los mastocitos en la médula ósea.

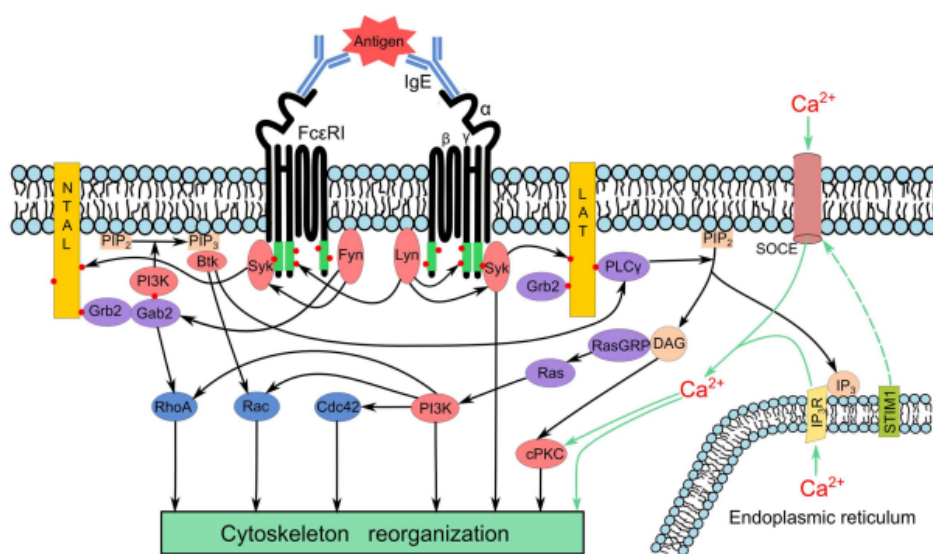


**Figura 5.** Imagen de dos mastocitos en la médula ósea (x1000). Imagen con licencia Creative Commons Attribution-Share Alike 4.0

Los mastocitos pueden activarse por diversos estímulos, como son: la IgE por medio del receptor de alta afinidad FcεRI, sustancias biológicas, productos de la activación del complemento [C3 (C3aR) y C5 (CD88)], citocinas, antígenos químicos, estímulos físicos, factor de crecimiento nervioso (NGF), inmunoglobulina G (IgG) por medio del receptor FcγR o por receptores de tipo Toll involucrados en la inmunidad innata [Rivera & Gilfillan, 2006; Álvarez-Twose et al., 2010; González de Olano et al., 2016; Gülen et al., 2021]. En el caso de las reacciones alérgicas, la activación del mastocito se produce tras su unión con el alérgeno. Para ello el alérgeno se une a las moléculas de IgE ya unidas a la superficie del mastocito a través de sus receptores. Una vez que se produce esta reacción y se conjugan, al menos, dos moléculas de IgE con el alérgeno, se inicia una cadena de transmisión de señales que finaliza con la liberación de los mediadores situados en gránulos en su citoplasma [González de Olano et al., 2016].

La biogénesis de los gránulos secretores de los mastocitos se inicia en el trans-Golgi, unas estructuras tubulares que forman parte del aparato de Golgi, de donde salen unas pequeñas vesículas llamadas progránulos. Una vez se encuentran en el citoplasma se unen con otras y se forman los gránulos inmaduros. A continuación, los gránulos van madurando adquiriendo un núcleo denso e incorporando proteasas, aminas vasoactivas y citocinas. La maduración de los gránulos depende en gran medida de la presencia de proteoglicanos de tipo serglicina. Mientras tanto, en la superficie del mastocito, la IgE se encuentra unida a su receptor que es una estructura tetramérica formada por una

subunidad  $\alpha$  de unión al antígeno, una subunidad  $\beta$  que contiene un motivo de activación basado en la tirosina del inmunorreceptor (ITAM) y dos subunidades  $\gamma$  unidas por puente disulfuro que también contienen ITAM. Cuando las moléculas de IgE asociadas a Fc $\epsilon$ RI se unen al alérgeno, los receptores Fc $\epsilon$ RI se agregan y se produce la fosforilación del motivo ITAM y la activación de tirosina-proteína quinasas adicionales (FYN y SYK). Tras una serie de pasos encadenados se forma inositol-1,4,5-trisphosphate (InsP3) que interacciona con su receptor en el retículo endoplásmico y se libera calcio. El calcio intracitoplasmático activa la protein-quinasa que de una manera directa favorece PKC (protein quinasa C) y actúa directamente favoreciendo la degranulación y la salida al exterior de los mediadores (Figura 6) [Dráber et al., 2012; Wernersson & Pejler, 2014a].



**Figura 6.** Activación del mastocito tras el contacto del alérgeno con dos moléculas de IgE ancladas en su superficie a través del receptor Fc $\epsilon$ RI. Imagen de Dráber P et al, 2012 con licencia Creative Commons. [Dráber et al., 2012]

Los mediadores que contienen los mastocitos se dividen en 3 grandes grupos: mediadores preformados (histamina, triptasa, quimasa y proteoglicanos), que son los que se encuentran en el interior de los gránulos citoplasmáticos; los mediadores de *novo* (prostaglandina D2, leucotrienos y factor activador de plaquetas), generados por la activación celular tras la liberación y metabolización del ácido araquidónico que está presente en la membrana mastocitaria; y los mediadores de secreción tardía (citocinas: TNF $\alpha$ , IL-1 o IL-6), estos requieren la activación de RNA mensajero y la traducción de aminoácidos a proteínas [Picard et al., 2013; González de Olano et al., 2016]. Cada mediador liberado presenta en el paciente unas características clínicas determinadas (Tabla 2). La cuantificación de algunos de estos mediadores (triptasa y metilhistamina en orina de 24 horas) se incluye como parte de los criterios diagnósticos de las enfermedades que cursan con activación mastocitaria [Wernersson & Pejler, 2014b]. Los principales mediadores de los mastocitos se recogen en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Principales mediadores mastocitarios que están implicados en los síntomas más comunes de los síndromes de activación mastocitaria. [Picard et al., 2013; González de Olano et al., 2016].

Mediador	Características clínicas
Histamina	Cefalea, hipotensión, prurito, urticaria, angioedema, diarrea, anafilaxia
Triptasa	Inflamación
Quimasa	Arritmias cardíacas, infarto agudo de miocardio
Proteoglicanos (heparina)	Diátesis hemorrágica
Factor de agregación plaquetaria (PAF)	Dolor abdominal, edema pulmonar, urticaria, broncoconstricción, hipotensión, anafilaxia
Prostaglandinas D2	Rubefacción (flushing), broncoconstricción, inestabilidad vascular, cefalea, secreción de moco
Leucotrienos (LTC4, LTD4, LTE4)	Broncoconstricción, inestabilidad vascular, secreción de moco
Citoquinas (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF-)	Astenia, mialgias, inflamación
Renina	Arritmias cardíacas, infarto agudo de miocardio

### 1.3.2. Triptasa

La triptasa, es una proteína de 110-130 kDa producida principalmente por células mastocitarias en tejidos y almacenada junto con otros mediadores preformados en gránulos secretorios [Lobbes et al., 2020]. Su valor medio normal es de 4 ng/mL en adultos y 6 ng/mL en niños. La activación de estas células y la liberación de mediadores contribuyen a procesos inmunológicos, trastornos de células mastocitarias clonales y en las reacciones alérgicas [Sprinzl et al., 2021].

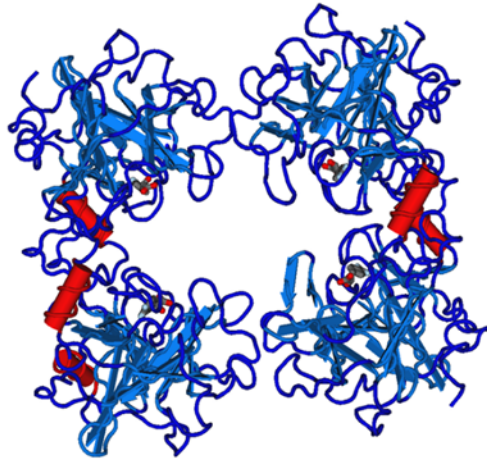
Pocos minutos después de los síntomas iniciales de la anafilaxia, se puede detectar triptasa en sangre liberada por, principalmente, mastocitos y, en menor medida, por basófilos, reflejando de esta forma la degranulación de estos. Este aumento es transitorio, pudiendo elevarse de los 15 a los 180 minutos, con un pico máximo a los 60 minutos y generalmente se resuelve en 24 a 48 horas. Es por ello por lo que, según la Guía Galaxia de Actuación en Anafilaxia [Cardona et al., 2022] se debe solicitar de forma obligada ante la sospecha clínica de una anafilaxia y se requieren un mínimo de 3 muestras seriadas: la primera tras la instauración del tratamiento, la segunda a las 2 horas del comienzo de la crisis y la tercera a las 24 horas con el objetivo de obtener una triptasa basal [Brown et al., 2004; Cardona et al., 2022]. Se mide por inmunoanálisis, y en la anafilaxia los valores de triptasa basales suelen duplicarse. Para considerar que se ha producido un aumento significativo de la triptasa, se debe constatar un incremento respecto al valor basal  $\times 1,2+2$ . Además, aumentos por encima del rango considerado normal (11,4 ng/mL) aunque no se haya duplicado el valor basal indican activación aguda

de mastocitos y basófilos [Schwartz, 2006; Borer-Reinhold et al., 2011; Castells, 2017; Pérez-Pimiento, 2019]. A diferencia de lo que ocurre en la anafilaxia, en la mastocitosis, la elevación de esta proteína es persistente. Un valor basal superior a 20 ng/mL es un criterio que obliga descartar una mastocitosis sistémica. Existen otras situaciones en las que pueden detectarse niveles de triptasa basal por encima del límite establecido como son los síndromes hematológicos (encontrándose hasta en un 30% de los pacientes con leucemias mieloides o síndromes mielodisplásicos), algunas enfermedades infecciosas (infecciones por helmintos), disfunciones orgánicas como son la insuficiencia renal crónica y la enfermedad coronaria [Sperr et al., 2001; Pérez-Pimiento, 2019].

Debido a que la triptasa sérica es un biomarcador esencial para la confirmación diagnóstica de la anafilaxia, en la comunidad autónoma de Galicia, se ha implementado el Plan de Asistencia a la Anafilaxia, denominado Código Anafilaxia, el cual se encuentra actualmente en funcionamiento y constituye una iniciativa pionera a nivel nacional, siendo Galicia la única región que dispone de un protocolo específico de estas características. Este plan establece un marco de actuación homogéneo y basado en la evidencia científica para la identificación precoz y el manejo integral de la anafilaxia en los diferentes niveles asistenciales, con el objetivo de optimizar la respuesta clínica, reducir la morbimortalidad y mejorar el pronóstico de los pacientes. En el contexto de la aplicación de este protocolo, se establece la obligatoriedad de solicitar la determinación de triptasa sérica en todos los casos sospechosos de anafilaxia, garantizando así un abordaje diagnóstico y terapéutico más preciso y eficaz. El Código Anafilaxia está disponible en: [https://www.sergas.es/Asistencia-sanitaria/Documents/1396/2804\\_Plan\\_asistencia\\_C%C3%B3digo\\_Anafilaxia\\_cas.pdf](https://www.sergas.es/Asistencia-sanitaria/Documents/1396/2804_Plan_asistencia_C%C3%B3digo_Anafilaxia_cas.pdf)

La síntesis de triptasa se encuentra determinada, genéticamente, a través de 4 genes: TPSG1, TPSB2, TPSAB1 y TPSD1 y se encuentran en la región subtelomérica (p13.3) del cromosoma 16 [Michalska-Krzanowska, 2012; Kačar et al., 2023]. La que es activa biológicamente se deriva principalmente de dos genes, TPSB2 (que codifica la  $\beta$ -triptasa que es la que se eleva, principalmente, en el contexto de la anafilaxia y cuya estructura se puede ver en la Figura 7) y TPSAB1 (que codifica  $\alpha$ - o  $\beta$ -triptasa) [González-Quintela et al., 2010; Sprinzl et al., 2021].

El aumento de los niveles de triptasa sérica se relaciona con una mayor gravedad de la anafilaxia padecida, siendo esta asociación especialmente relevante en las reacciones por picadura de himenópteros [O'Connell & Lyons, 2020; Couto et al., 2023; Kačar et al., 2023] La enfermedad mastocitaria ha demostrado ser causa de la elevación de triptasa sérica y de la anafilaxia inducida por el veneno de himenópteros pudiendo ser éste muchas veces el síntoma de presentación de esta patología [O'Connell & Lyons, 2020].



**Figura 7.** Imagen de  $\beta$ -triptasa humana. Licencia Creative Commons Attribution-Share Alike 4.0

#### **1.4. Cuando los mastocitos y/o la triptasa están alterados y pueden cambiar el curso de una anafilaxia**

La primera muerte por anafilaxia tras la picadura de un himenóptero en un paciente con mastocitosis se describió en 1979 [Brouet, 1979]. Según varios estudios, la prevalencia estimada de anafilaxia por veneno de himenóptero en pacientes con mastocitosis oscila entre el 5% y el 20%. Además, la mastocitosis sistémica indolente es la patología mastocitaria más común en estos pacientes, y los episodios son más frecuentes en aquellos que no presentan lesiones cutáneas asociadas. Por lo tanto, en pacientes con anafilaxia grave, particularmente si no presentan lesiones cutáneas tras una picadura de himenóptero, debe sospecharse la posibilidad de una mastocitosis y realizar los estudios pertinentes que permitan confirmarla o descartarla [González de Olano et al., 2007; Brockow et al., 2008; Álvarez-Twose et al., 2014].

En las próximas líneas nos aproximaremos al diagnóstico e importancia de la mastocitosis, síndromes de activación mastocitaria e hiper-alfa-triptasemia (H $\alpha$ T) como potenciales factores agravantes y de confusión en el contexto de la anafilaxia.

##### **1.4.1 Mastocitosis**

El término mastocitosis se utiliza para designar a un grupo de enfermedades hematológicas caracterizadas por la expansión y acumulación focal de mastocitos en uno o más órganos incluyendo la piel, la médula ósea, el tubo digestivo, bazo y/o hígado. Si bien se puede presentar a cualquier edad, las formas infantiles son, con mayor frecuencia, limitadas a la piel mientras que la aparición en la edad adulta suele tener una afectación sistémica.

Debido a las dificultades diagnósticas al tratarse de una enfermedad con una expresión clínica tan variable, dos grupos de expertos en Europa y en Estados Unidos, llevan

trabajando en una posible clasificación y criterios diagnósticos desde el año 2000, dando lugar a un numeroso número de publicaciones [Valent et al., 2001; Escribano et al., 2002; Valent et al., 2004; Valent et al., 2007; Arock & Valent, 2010; Valent et al. 2017; Akin et al., 2017; Hartmann, et al., 2017; Trizuljak et al., 2020; Valent et al., 2021 Khoury et al., 2022; Valent et al., 2023; Akin, et al., 2023; Valent et al, 2023; Sotlar, et al., 2023].

En la revisión más reciente, publicada en 2024, la clasificación de la mastocitosis se estableció, por consenso, tal y como aparece en la Tabla 4 [Valent et al., 2024].

**Tabla 4.** Clasificación de la mastocitosis según Valent et al., 2024.

**Mastocitos cutánea**

**Mastocitosis sistémica no avanzada**

Mastocitosis en la médula ósea

Mastocitosis indolente

Mastocitosis latente

**Mastocitosis avanzada**

Mastocitosis agresiva

Mastocitosis con neoplasia hematológica (mieloide o linfoide)

Leucemia de mastocitos

**Sarcoma de mastocitos**

Mastocitoma extracutáneo

En función del tipo de mastocitosis, así se modifican los criterios diagnósticos y la gravedad de la enfermedad de forma que, mientras la mastocitosis cutánea es una enfermedad propia de los primeros años de la vida y que cursa de forma favorable, las formas de mastocitosis más agresivas conllevan un mal pronóstico en los pacientes afectados.

Para el diagnóstico de la mastocitosis sistémica existen unos criterios diagnósticos concretos que corresponden al campo de la especialidad de Hematología y que se resumen, de forma simplificada en la Tabla 5.

El conocimiento de los distintos tipos de mastocitosis es relevante por el diferente riesgo de padecer anafilaxia que tienen cada uno de ellos. La Organización Mundial de la Salud establece diferentes valores pronósticos y riesgo de anafilaxia de acuerdo con lo que se recoge en la Tabla 6.

**Tabla 5.** Criterios diagnósticos de mastocitosis sistémica. Para su diagnóstico deben estar presentes 1 criterio mayor y 1 criterio menor o, al menos, 3 criterios menores.

<b>Criterio mayor</b>
Infiltrados densos multifocales de mastocitos (más de 15 mastocito por foco) en médula ósea o tejidos extracutáneos.
<b>Criterios menores</b>
Más de 25% de los mastocitos son atípicos (tipos I o II) o con morfología anormal en la médula ósea o en tejidos extracutáneos.
Mutación activadora en c-KITM en el codón 816 en tejido o en sangre periférica.
Expresión de CD2 o CD25 en los mastocitos.
Triptasa sérica basal mayor de 20 ng/mL

**Tabla 6.** Riesgo de progresión y riesgo de anafilaxia en función del tipo de mastocitosis (WHO).

Variante de mastocitosis	Riesgo de progresión	Riesgo de anafilaxia
<b>Mastocitosis cutánea</b>		
Forma máculo-papular	Muy bajo	Intermedio
Forma difusa	Muy bajo	Alto
Mastocitoma	Muy bajo	Bajo
<b>Mastocitosis sistémica</b>		
Limitada a médula ósea	Muy bajo	Alto
Indolente	Bajo	Intermedio-alto
Latente	Intermedio	Intermedio
Con neoplasia hematológica	Alto	Bajo
Agresiva	Alto	Bajo
Leucemia de mastocitos	Intermedio	Bajo
<b>Sarcoma de mastocitos</b>	Muy alto	Bajo

#### 1.4.2. Síndromes de activación mastocitaria (MCAS de sus siglas en inglés)

Los síndromes de activación mastocitaria (MCAS) engloban un conjunto diverso de enfermedades que se caracterizan por la presencia de síntomas sistémicos graves, incluidos aquellos propios de la anafilaxia, debido a la liberación de mediadores mastocitarios. Estas enfermedades pueden estar asociadas o no a un desencadenante conocido, pueden presentar o no anticuerpos IgE específicos frente a dicho

desencadenante, y tener niveles basales de triptasa normales o elevados [González de Olano et al., 2016; Gülen et al., 2021].

Los síntomas que se presentan con mayor frecuencia son el prurito (que puede ser generalizado), y rubefacción facial (*flushing*) que puede ir acompañado de malestar general, palpitaciones, opresión torácica y cefalea... Los cuadros que cursan con anafilaxia o el colapso vascular con riesgo vital se presentan en el 50% de los adultos aproximadamente siendo más frecuente en pacientes que no presenten lesiones cutáneas [Castells & Austen, 2002].

Se establecen en el año 2012, los criterios de consenso de Viena por un grupo de expertos clínicos de diversas áreas y disciplinas, y se reconfirmaron en 2019 con modificaciones menores [Akin et al., 2010; Valent et al., 2012; Gülen et al., 2021]. La definición de síndrome de activación mastocitaria según el consenso de Viena se basa en tres criterios clínicos diagnósticos que deben cumplirse en su totalidad antes de establecer su diagnóstico (Peter Valent, Akin, et al., 2019; Peter Valent et al., 2012)

- (i) Síntomas clínicos típicos relacionados con la activación de células mastocitarias y por tanto secundarios a la liberación de mediadores con afectación de, al menos, dos órganos. Los síntomas más característicos se recogen en la Tabla 7. Estos síntomas se deben presentar de forma repetida o recurrente a lo largo del tiempo.

**Tabla 7.** Sintomatología sugestiva de activación mastocitaria que deben presentar los pacientes en los que se establezca la sospecha de un síndrome de activación mastocitaria de acuerdo con el Consenso de Viena del año 2012 y reconfirmados en el 2019. [Valent et al., 2012; Valent et al, 2019].

Datos clínicos
<b>Cardiovascular:</b> Hipotensión, taquicardia.
<b>Gastrointestinal:</b> Diarrea, dolor abdominal.
<b>Piel:</b> Rubefacción ( <i>flushing</i> ), prurito, urticaria o angioedema.
<b>Naso-ocular:</b> Prurito, congestión nasal.
<b>Respiratorio:</b> Sibilancias, odinofagia.
<b>Otros:</b> Cefalea, síntomas neurológicos (menos sugestivos)

- (ii) Un aumento en los niveles séricos de mediadores de los mastocitos, siendo la triptasa el considerado más relevante. Una elevación de la triptasa basal individual (sBT), según la fórmula:  $sBT \times 1,2$  de  $sBT + 2$  ng/mL, es indicativa de activación del mastocito, con independencia del valor basal de la triptasa. Otros

mediadores que se podrían utilizar son la histamina, prostaglandina D2 y el leucotrieno B4, si bien son menos específicos que la triptasa.

- (iii) Respuesta a medicamentos dirigidos contra el mastocito o contra la producción de los mediadores de mastocitos de forma que la enfermedad quede controlada total o parcialmente. Entre ellos se encontraría el cromoglicato disódico o los antihistamínicos.

En función de los estudios inmunohistoquímicos y genéticos o la presencia de sensibilización alérgica, los síndromes de activación mastocitaria se clasifican en 3 categorías [Akin et al., 2010; Valent et al., 2012]:

- (i) **Primarios.** Cumplen los 3 criterios exigidos y se acompañan de clonalidad (CD25+ y/o expresión positiva para c-KITD816V). La expresión de CD25+ es patognomónico de la mastocitosis y se trata de un receptor de alta afinidad para la IL-2 que provocará alteraciones relacionadas con la adhesión, activación celular y transducción de señales en esta patología. En este grupo se encuentran, por tanto, la mastocitosis (mastocitosis sistémica indolente con lesiones cutáneas asociadas o sin ellas) y los síndromes de activación mastocitaria clonal o monoclonal.
- (ii) **Secundarios.** Cumplen los criterios establecidos pero el paciente presenta una activación que es dependiente de la presencia de una IgE específica frente a un alérgeno o frente a agentes identificados como activadores potenciales de ellos mastocitos (enfermedades autoinmunes, infecciones bacterianas o reacciones adversas a medicamentos).
- (iii) **Idiopáticos.** A pesar de que el paciente cumple los 3 criterios obligados, no es posible demostrar o identificar el factor desencadenante de dicha activación mastocitaria.

El hecho diferenciador entre un MCAS y otro es el criterio molecular de presencia de mastocitos clonales. Pacientes con afectación cutánea sugerente de mastocitosis y clínica de liberación de mediadores es muy probable que presente mastocitos clonales. Pero existen pacientes que no presentan afectación cutánea y pueden presentar clonalidad positiva (mastocitosis sistémica indolente sin afectación cutánea o MCAS clonal o monoclonal) o clonalidad negativa (MCAS no clonal). Es por ello por lo que es muy importante conocer si un paciente presenta o no mastocitos clonales [Álvarez-Twose et al., 2010; Álvarez-Twose et al., 2012; Álvarez-Twose et al., 2014].

La REMA (Red Española de Mastocitosis) propone el año 2010 un sistema de puntuación sencillo con alta sensibilidad (0,92) y especificidad (0,81) que permite identificar a los pacientes con alta sospecha de MCAS en pacientes que no presenten lesiones cutáneas propias de mastocitosis, ya que esta herramienta descarta o confirma la clonalidad evitando de esta forma la realización de biopsias de médula ósea innecesarias. Se recomienda este sistema de puntuación a modo de despistaje de MCAS y actualmente,

debido a su utilidad se encuentra incluido por la red europea de mastocitosis dentro del algoritmo diagnóstico de sospecha de mastocitosis (Tabla 4) [Álvarez-Twose et al., 2010; Alvarez-Twose et al., 2012; Valent et al., 2019; Akin, et al., 2019].

Ante una sospecha de mastocitosis en pacientes sin lesiones cutáneas y tras la aplicación del sistema REMA de puntuación (Tabla 8) podemos obtener 2 resultados:[Álvarez-Twose et al., 2010; González de Olano et al., 2016]:

- (i) **Puntuación REMA <2:** Pacientes con baja probabilidad de presentar mastocitos clonales o patológicos por lo que no será necesario realizar en ellos estudios de médula ósea. Se controlará la sintomatología con el tratamiento antimedador adecuado y se realizará un seguimiento (realización periódica de triptasa, seguimiento clínico y pruebas de imagen en caso de ser necesario).
  
- (ii) **Puntuación REMA  $\geq$ 2:** Pacientes con elevada probabilidad de presentar mastocitosis o síndrome de activación mastocitaria. En estos casos lo que se hace es analizar la triptasa basal (parámetro útil ya que en pacientes con valores bajos el porcentaje de mastocitos en médula ósea es muy pequeño implicando eso un menor número de agregados mastocitarios):
  - a. **Triptasa <20:** Se controlará la sintomatología, se realizará ecografía abdominal, densitometría y seguimiento clínico y analítico periódico y en caso de sospechar progresión (elevación de triptasa o aparición de organomegalias) se realizará aspirado o biopsia de médula ósea.
  - b. **Triptasa  $\geq$ 20:** Se realizará directamente aspirado o biopsia de médula ósea (citología, histología con detección de inmunohistoquímica de la triptasa y el c-KIT, inmunofenotipo por medio de citometría de flujo y mutaciones en c-KIT.

Es importante destacar que la ausencia de urticaria/angioedema en la anafilaxia se asocia con niveles aumentados de triptasa [Potier et al., 2009; Stoevesandt et al., 2012; Stoevesandt et al., 2020], considerándose esto un factor de predicción de la clonalidad de mastocitos mayor que la propia elevación de triptasa [Zanotti et al., 2015]. La puntuación REMA (Red Española de Mastocitosis) [Álvarez-Twose et al., 2010] incluye, por tanto, este factor al igual que la elevación de triptasa [Stoevesandt et al., 2020]. En contra de lo que se podría pensar, los niveles de IgE ni total ni específica para el caso de la alergia al veneno de los himenópteros no son de utilidad para identificar un tipo determinado de reacción o la gravedad de la anafilaxia, en caso de producirse [Antonicelli et al., 2002].

**Tabla 8.** Cálculo del riesgo de padecer un síndrome de activación mastocitaria clonal según REMA. [Álvarez-Twose et al., 2010; Álvarez-Twose et al., 2012].

<b>Puntuación REMA de predicción de clonalidad</b>	
Variable	Puntuación
Género:	
Hombre	<b>+1</b>
Mujer	<b>- 1</b>
Sintomatología:	
Ausencia de urticaria / angioedema	<b>+1</b>
Presencia de urticaria y/o angioedema	<b>- 2</b>
Presíncope o síncope	<b>+3</b>
Triptasa en suero:	
< 15 ng/mL	<b>-1</b>
> 25 ng/mL	<b>+2</b>

En caso de puntuación global inferior a 2, la probabilidad de padecer un MCAS es baja. En caso de que la puntuación global sea igual o superior a 2, se considera que existe una alta probabilidad de padecer un MCAS.

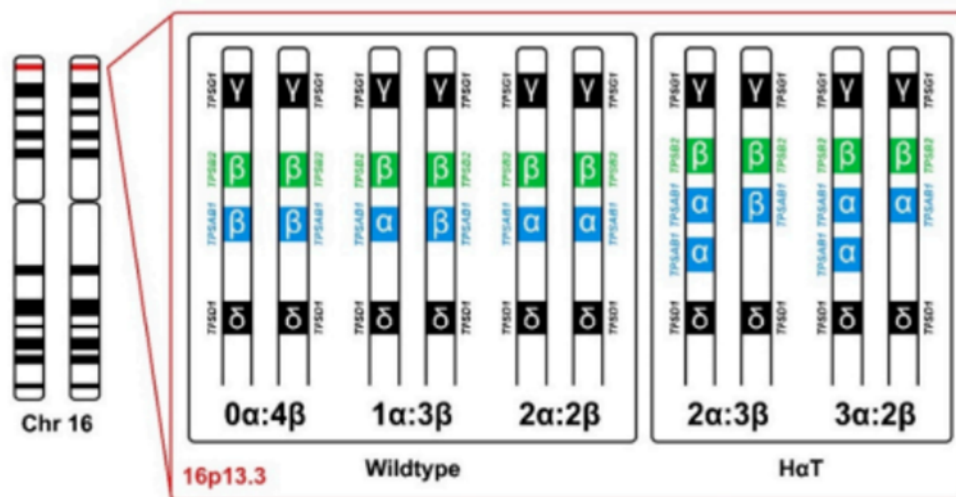
### 1.4.3. Alfa-hipertriptasemia familiar (H $\alpha$ T)

En el año 2016, el equipo liderado por Lyons, describió un rasgo genético autosómico dominante presente, principalmente, en población occidental que provoca el aumento de la triptasa sérica sin llegar a los niveles definidos para la mastocitosis y que se ha denominado alfa-hipertriptasemia hereditaria (H $\alpha$ T) o familiar [Lyons et al., 2016]. Desde entonces, ha suscitado cierto interés y ha sido estudiado por otros autores. Afecta a un 3-5.5% de la población con ligera predominancia en mujeres [Kačar et al., 2023]. Esta patología explica el aumento de triptasa en sangre en pacientes que no padecen mastocitosis; siendo posible la coexistencia de ambas entidades en un mismo paciente [O’Connell & Lyons, 2020; Glover et al., 2021; Kačar et al., 2023; Sordi et al., 2023]. Como ya se ha comentado, en condiciones normales, los niveles medios de triptasa sérica rondan los 5 ng/mL; sin embargo, se ha observado que aproximadamente el 5-7% de la población puede tener niveles por encima del límite superior del rango normal que es de 11.4 ng/mL y, en algunos de ellos, se podría diagnosticar esta entidad. En un estudio realizado en población general en la población de A Estrada (Pontevedra) por nuestro grupo observamos que las cifras basales de triptasa en suero se podían ver influenciadas por la grasa corporal de modo que se incrementaba en función del índice de masa corporal (R. V. Fenger et al., 2012), por lo que en pacientes obesos podría ser necesario ajustar el valor de la triptasa con este parámetro [O’Connell & Lyons, 2020; Glover et al., 2021].

La H $\alpha$ T se debe al aumento de hasta 4 copias germinales del gen TPSAB1 (Tryptase Alpha/Beta 1) que codifica la  $\alpha$ -triptasa de forma que la presencia de, al menos 3

cadena  $\alpha$  o 2 cadena  $\alpha$  y 3  $\beta$ , indica alteración y es diagnóstico de H $\alpha$ T (Figura 8). La cantidad de copias adicionales del gen TPSAB1 se relaciona con niveles más altos de triptasa en suero y, podría existir una relación entre el número de copias y una mayor sintomatología [Glover et al., 2021; Hernández-Hernández et al., 2021; Sprinzl et al., 2021; Kačar et al., 2023; Sordi et al., 2023].

Algunos síntomas que se relacionan con esta patología son el eritema, prurito, reacciones de hipersensibilidad inmediata y síntomas gastrointestinales [O’Connell & Lyons, 2020; Sprinzl et al., 2021; Glover et al., 2021; Kačar et al., 2023]. Estos síntomas pueden variar considerablemente entre individuos, de hecho, se ha observado que un tercio de los portadores de H $\alpha$ T son totalmente asintomáticos [Glover et al., 2021; Kačar et al., 2023].



**Figura 8.** Genotipos de triptasa en pacientes sanos y con  $\alpha$ -triptasemia hereditaria (H $\alpha$ T) [Sprinzl et al., 2021]. Licencia de Creative Commons Attribution (CC BY).

Según el estudio de Gulen, [Gulen, 2024], los pacientes con H $\alpha$ T tienen hasta 11 veces más probabilidades de experimentar reacciones sistémicas al veneno de himenópteros en comparación con aquellos sin este rasgo genético. Se ha demostrado que la H $\alpha$ T no parece que contribuya al desarrollo de la sensibilización al veneno de himenópteros, únicamente podría modificar el resultado clínico de la interacción con el veneno del himenóptero responsable [Couto et al., 2023; Kačar et al., 2023]. El conocimiento de cómo esta nueva entidad podría, realmente, influir en el devenir de la anafilaxia por veneno de los himenópteros no está claro. Así, mientras en los pacientes que tienen un demostrado MCAS, sí parece que se recomendaría mantener la inmunoterapia frente al veneno responsable durante toda la vida y, por tanto, no suspenderla tras los 3-5 años de rigor establecidos para esta patología, no hay acuerdo sobre la necesidad de mantenerla de forma similar en los pacientes con H $\alpha$ T [Kačar et al., 2023]. La evidencia



disponible aún no respalda la necesidad de inmunoterapia de por vida en pacientes con H $\alpha$ T, pero los estudios que se vayan realizando en los años sucesivos y la propia evolución de los pacientes con este rasgo, indicarán si es necesario o no mantener el tratamiento. Sí parece que el riesgo de presentar una reacción anafiláctica tras haber suspendido la inmunoterapia no depende de este rasgo genético [Gulen, 2024].

Como ya se ha comentado, la H $\alpha$ T puede coexistir con trastornos clonales de mastocitos, como la mastocitosis, pudiendo provocar un efecto sinérgico entre ambas condiciones [O'Connell & Lyons, 2020]. Esta patología podría modificar la expresión clínica de las enfermedades mastocitarias en lugar de causar directamente fenotipos específicos, complicando la clasificación de las enfermedades con carga mastocitaria elevada y dificultando su diagnóstico diferencial [Robey et al., 2020].

En resumen, la H $\alpha$ T podría ser un nuevo biomarcador para identificar a los pacientes con potencial riesgo de desarrollar anafilaxia más grave por lo que la determinación de copias adicionales del gen TPSAB1 se está considerando de gran utilidad para la identificación de estos sujetos [Sprinzl et al., 2021]. Además, la H $\alpha$ T es un diagnóstico diferencial importante para personas con niveles ligeramente elevados de triptasa en suero y sin signos o síntomas indicativos de mastocitosis o neoplasias no mieloides de células madre [Sprinzl et al., 2021].

## 2. JUSTIFICACIÓN



Estudios realizados a nivel nacional han registrado una prevalencia de síndromes de activación mastocitaria en pacientes con reacciones sistémicas por alergia al veneno de himenópteros de hasta un 22,2% [González de Olano et al., 2007; Álvarez-Twose et al., 2010]. Nuestra experiencia, con un elevado número de pacientes diagnosticados de alergia al veneno de los himenópteros que se manifiesta en forma de reacción sistémica, se aleja considerablemente de esta cifra. El estudio de la presencia de la mutación en el gen c-KIT en sangre periférica ha resultado infructuoso en nuestra población a pesar de tener pacientes con puntuaciones altas en el REMA, si bien es cierto que el síndrome en sí mismo, es un concepto puramente clínico y no sería preciso la presencia de esta mutación para su diagnóstico.

Recientemente han aparecido los primeros resultados con estudios de asociación de genomas completos (GWAS) con otras enfermedades, que pueden permitir mejorar la detección de asociaciones relevantes. Conocer esos genes en pacientes gallegos afectados por anafilaxia grave puede ayudar a conocer mejor la etiopatogenia de esta enfermedad alérgica. No hemos encontrado estudios de GWAS en la patología provocada por la triptasa elevada o la mastocitosis.

Por otra parte, no disponemos de estudios en nuestra población de posibles marcadores de  $\alpha$ -hipertriptasemia familiar que podrían, en parte, explicar una potencial gravedad de reacciones alérgicas en ausencia de síndrome de activación mastocitaria propiamente dicho.

En este contexto, parece razonable realizar un estudio en nuestra población de alérgicos al veneno de los himenópteros que han presentado una reacción sistémica para tratar de identificar otro marcador genético o la posible presencia de  $\alpha$ -hipertriptasemia familiar junto a los marcadores epidemiológicos clásicos ya descritos (género, edad, presencia de comorbilidades, entre otros) y tratar de identificar los marcadores epidemiológicos y/o genéticos en esta población.



### 3. OBJETIVOS



## Objetivos principales

Los objetivos principales de este estudio han sido:

1. Identificar variaciones génicas asociadas a la predisposición de padecer anafilaxia grave tras picadura de himenópteros, mediante un estudio de asociación de genoma completo en pacientes gallegos.
2. Identificar la posible existencia de  $\alpha$ -hipertriptasemia en el subgrupo de pacientes con niveles de triptasa basal que, potencialmente, podrían sugerir este diagnóstico.

## Objetivos secundarios

1. Identificar factores epidemiológicos asociados a una mayor gravedad de la enfermedad.
2. Observar la relación entre el nivel de triptasa basal y la gravedad de la reacción.
3. Comprobar la relación entre el grado de gravedad y el uso de adrenalina como tratamiento de elección en el momento de la reacción.
4. Identificar si la gravedad de la reacción se relaciona o no con el tipo de himenópteros responsable de la reacción.



## 4. MÉTODOS



#### 4.1. Diseño, ámbito y población del estudio

Este estudio observacional, transversal, de casos y controles se llevó a cabo siguiendo los principios de la guía STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology)[Elm et al., 2007] para asegurar la rigurosidad en la presentación de estudios observacionales en epidemiología. Además, fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación conforme a la normativa vigente. Para garantizar la protección de la información personal de los participantes reclutamiento se realizó mediante la separación de los datos clínicos de los datos de identificación personal, conforme a lo establecido en la Ley de Protección de Datos de Carácter Personal vigente en el momento del reclutamiento (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre). Asimismo, se actuó de acuerdo con lo dispuesto en el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, que aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999; en la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, sobre la autonomía del paciente y derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica; y en la Ley 3/2001, de 28 de mayo, que regula el consentimiento informado y la historia clínica de los pacientes.

La cohorte investigada se compuso de 288 casos. En una primera aproximación se comparó la muestra con una población control compuesta por 3500 sujetos del Banco Nacional de ADN que se describe más adelante. La población general, control, se utilizó para un análisis preliminar dado que solo se dispone de información sobre edad y género y estimando que la prevalencia de reacción sistémica por alergia al veneno de himenóptero es muy baja en la población general, como ya se ha apuntado. Los análisis posteriores se realizarán exclusivamente dentro de la población de casos en función de la gravedad de la reacción padecida, los valores de triptasa basal, el cálculo del REMA, entre otros.

#### Casos

El conjunto de casos incluyó 224 hombres y 64 mujeres, con una edad media,  $56,8 \pm 14,8$  y todos diagnosticados con anafilaxia inducida por el veneno de himenópteros y tratados en el Servicio de Alergología del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago con vacunas específicas frente al himenóptero que había sido responsable de la reacción y/o frente al que se había demostrado sensibilización alérgica. El 99.3% de los participantes en este grupo eran de origen gallego, procedentes del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (Tabla 9). La población fue reclutada entre abril y diciembre de 2021 coincidiendo con las visitas de los pacientes al Servicio para la administración de inmunoterapia. Todos los participantes fueron informados detalladamente acerca de la naturaleza y los objetivos del estudio, y se les solicitó su consentimiento informado antes de su inclusión, siendo la participación en el estudio completamente voluntaria.

### **Criterios de inclusión**

Pacientes diagnosticados de anafilaxia por alergia al veneno de himenóptero y que se encuentran recibiendo inmunoterapia por este motivo en el momento de la recogida de las muestras para el estudio y han aceptado a participar en el estudio.

### **Criterios de exclusión**

Se excluyeron pacientes con enfermedades genéticas conocidas que pudieran confundir la interpretación de los resultados y aquellos incapaces de dar consentimiento informado o que rechazasen participar en el estudio.

**Tabla 9.** Características de la población de estudio incluida dentro del grupo de casos. El diagnóstico de anafilaxia se llevó a cabo empleando la Clasificación de Brown [Brown et al., 2013].

<b>CATEGORÍA</b>	<b>N (%)</b>
Género (Hombres)	224 (77.8)
Pacientes de origen gallego	286 (99.3)
Padres de origen gallego	281 (97.6)
Abuelos de origen gallego	272 (94.4)
Vivienda en medio rural	242 (84)
<b>Insecto responsable de la reacción anafiláctica</b>	
<i>Véspula spp</i>	77 (26.7)
<i>Vespa velutina</i>	133 (46.2)
<i>Apis mellifera</i>	76 (26.4)
Desconocido	2 (0.7)
<b>Período de latencia entre la picadura y la reacción</b>	
Menos de 15 minutos	244 (84.7)
Entre 15 y 30 minutos	34 (11.8)
Más de 30 minutos	10 (3.5)
<b>Grado de gravedad de la reacción según Brown</b>	
Grado 1	75 (26)
Grado 2	118 (41)
Grado 3	95 (33)
<b>Antecedente de enfermedad cardiovascular</b>	105 (36.5)
<b>Antecedente de enfermedad respiratoria</b>	12 (4.2)
<b>Tratamiento con IEAC o beta-bloqueantes</b>	42 (14.6)
<b>Administración de adrenalina en el momento de la reacción</b>	109 (37.8)

### **Controles**

Los controles fueron solicitados al Banco Nacional de ADN- Instituto de Salud Carlos III (BNADN-ISCI, Universidad de Salamanca, España; [www.bancoadn.org](http://www.bancoadn.org)). Las muestras de los controles proceden de 3500 donantes mayores de edad, no diagnosticados de

ninguna enfermedad relevante en el momento de la obtención de la muestra y distribuidos por toda la geografía española.

De estas muestras solo se tiene información del sexo y edad. Debido a esto estas dos fueron las únicas covariables que se emplearon en el estudio para comparar casos y controles.

## **4.2. Determinaciones y procesamiento de muestras**

### ***Cuaderno de recogida de datos (CRD)***

El CRD recogido en el Anexo I fue el empleado en para la recogida de la información del estudio. Cada participante tuvo un registro detallado que incluía información demográfica, médica y de estilo de vida, recopilada mediante cuestionarios estandarizados. La implementación del CRD garantizó la consistencia en la documentación de variables importantes como la edad, sexo, tipo de reacción alérgica, niveles de triptasa basal e IgE total, además de información sobre el tipo de insecto causante y la gravedad de la anafilaxia. Todos los datos fueron ingresados de manera electrónica y revisados periódicamente para mantener la integridad y la precisión de la información.

### ***Toma de muestra de sangre***

Las muestras de sangre periférica se obtuvieron de los participantes por venopunción. Se recogieron en un tubo de 3 mililitros con EDTA como anticoagulante. Cada tubo fue identificado con el código del paciente y congelado y conservado a -20°C hasta la extracción del ADN. La extracción del ADN se realizó usando los kits de Chemagen's Magnetic-Beads kit®. La concentración e integridad del ADN se determinó mediante Nanodrop ND-1000®. Las muestras de ADN fueron procesadas inmediatamente y conservando alícuotas restantes a -80°C por si fuera necesario para su posterior destrucción.

### ***Extracción y cuantificación del ADN***

La extracción de ADN se realizó empleando kits comerciales que permiten la purificación de ADN de alta calidad a partir de muestras de sangre periférica. Una vez extraído se realizó una cuantificación inicial y evaluación de la pureza del ADN extraído, por medio de la espectrofotometría y posteriormente para obtener una cuantificación más precisa del ADN se empleó la fluorometría, asegurando así que la concentración de este sea la adecuada para el genotipado.

Estos métodos combinados de cuantificación y evaluación de la calidad del ADN aseguran que las muestras sean adecuadas para los análisis genéticos subsiguientes, minimizando el riesgo de errores asociados a la calidad del material genético.

## **Genotipado**

El genotipado es un proceso analítico utilizado para determinar las variantes alélicas específicas que un individuo posee en determinadas posiciones genómicas conocidas como polimorfismos de nucleótido simple (SNPs). Estos polimorfismos son variaciones en un solo nucleótido que ocurren en lugares específicos del genoma y son claves para estudiar asociaciones genéticas con diversas condiciones o características fenotípicas.

En este caso se realizó el genotipado de las muestras con el array Axiom Spain Biobank Array© (Thermo Fisher Scientific©) en el nodo de Santiago de Compostela del CeGen (Centro Nacional de Genotipado), con el que se compararon los marcadores de ADN en todo el genoma de los pacientes con reacciones alérgicas graves tras picadura de himenóptero frente a una población control de 3500 pacientes que no han presentado reacción a estos insectos.

La tecnología Axiom Spain Biobank Array© de Thermo Fisher© contiene aproximadamente 750000 marcadores genéticos, optimizados para la población española. Esto permite una cobertura amplia del genoma y la capacidad de detectar variantes comunes y raras asociadas con la enfermedad.

## **Control de calidad**

El control de calidad es crucial en el estudio de asociación de genoma completo para asegurar la fiabilidad y la validez de los datos obtenidos a través del genotipado. Se trata de identificar y excluir cualquier dato genético que pudiera comprometer la integridad de los resultados finales del estudio.

Los datos genéticos fueron sometidos a un riguroso control de calidad tanto de las muestras como de los marcadores, utilizando el software de análisis genético PLINK para filtrar muestras y SNPs con baja calidad, incluyendo aquellos con alta tasa de fallas en el genotipado, desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg y baja variabilidad genética. Además, se utilizaron scripts propios de R para verificar la consistencia de los datos y eliminar posibles contaminaciones o errores.

Inicialmente, se eliminaron las muestras duplicadas y aquellas con discrepancias en el sexo reportado o que mostraban relaciones de parentesco. Además, se descartaron las muestras con una tasa de genotipado inferior al 98%, así como aquellas con un déficit o exceso significativo de heterocigosidad. En cuanto a los marcadores, se excluyeron todas las variantes con una frecuencia del alelo menor (MAF) inferior al 1%, tasa de genotipado menor al 98%, o que presentaran una desviación significativa del equilibrio de Hardy-Weinberg. Además, se analizó la existencia de estratificación (diferencia genética de base entre casos y controles) mediante análisis de componentes principales utilizando un subgrupo de marcadores autosómicos independientes. Los cuatro primeros componentes principales (CP) fueron incluidos como covariables en los análisis para controlar su posible efecto sobre los resultados.

El uso de la plataforma Axiom© de Thermo Fisher© para el genotipado proporcionó una base sólida para el control de calidad, gracias a su alta densidad de sondas y precisión en la detección de alelos. La plataforma permite una revisión detallada y automatizada de cada SNP, asegurando que los datos utilizados para las asociaciones genéticas sean de la más alta calidad.

Este enfoque sistemático y detallado en el control de calidad asegura que los datos utilizados en los análisis posteriores de asociación genómica sean precisos y representativos, minimizando así el riesgo de errores y maximizando la posibilidad de detectar verdaderas asociaciones genéticas relevantes para la anafilaxia grave inducida por picaduras de himenópteros.

### ***Imputación***

Para maximizar la cobertura genómica, se realizaron imputaciones utilizando el panel de referencia del servidor TOPMed (NHLBI Trans-Omics for Precision Medicine) empleando la versión r2 del panel de referencia. Esto permitió inferir genotipos no directamente observados y mejorar la resolución de las asociaciones genéticas. El proceso incluyó un filtrado riguroso post-imputación para asegurar la calidad de los genotipos inferidos.

Estos métodos y procedimientos proporcionan una base sólida para la exploración y análisis de los datos genéticos, con el fin de identificar variantes asociadas con la condición de estudio y entender mejor su base genética.

### ***Detección de variaciones de número de copias (CNV) en el gen TPSAB1, asociado con H<sub>1</sub>T, mediante PCR digital de gota (dPCR)***

Se realizó en aquellos pacientes cuyo valor de triptasa basal fuera igual o superior a 8.

La purificación de ADN genómico (ADNg) se realizó a partir de 1mL de sangre periférica empleando el kit comercial GeneJET Genomic DNA Purification Kit© (Thermo-Fisher©, Waltham, MA) siguiendo las instrucciones del fabricante. El ADNg de todas las muestras se cuantificó mediante el sistema Qubit™ 4 Fluorometer (Invitrogen©, Waltham, MA, US).

Para cuantificar el número de copias de copias de los alelos codificantes  $\alpha$  y  $\beta$  triptasa se emplearon los primers específicos TPSAB - FWD 5'-TCCTGACCTGGCACCTGC-3' y TPSAB - REV 5'-GACTCTCAGGCTCACCTGCCA-3' y las sondas específicas para  $\alpha$ : 5'-CTGCAGCAAGCGGGTATCGTC-3' y para  $\beta$ : 5'-CTGCAGCGAGTGGGCATCGT-3' (Applied Biosystems©, Fosters City, CA, USA), ambas marcadas con FAM, previamente descritas por Lyons et al. (Lyons et al., 2016). Como ensayo de referencia del número de copias se empleó el ensayo RNase P marcado con VIC (Applied Biosystems©, Fosters City, CA, USA).

Los diferentes pasos de la ddPCR se realizaron en los equipos de Bio-Rad© (Bio-Rad©, Hercules, CA, USA), siguiendo los protocolos del fabricante.

Brevemente, se preparó la mezcla del ADN con los reactivos correspondientes previamente a la generación de las gotas. Para ello se añadieron 50ng de ADNg junto con 1X ddPCR SuperMix for probes (no dUTP) (Bio-Rad©), los primers (900nM) y sondas (250nM) correspondientes.

A continuación, se generaron las gotas en el equipo QX200™ Droplet Generator (Bio-Rad©) y posteriormente se realizó la PCR con un paso inicial de activación de la enzima (95°C durante 10'), seguido de 40 ciclos de 94°C durante 30'' y 60°C durante 1'. Por último, se desactivó la enzima con un ciclo de 98°C durante 10'.

Una vez realizada la PCR, la adquisición y análisis de los datos se realizó en el equipo QX200 Droplet Reader (Bio-Rad©) empleando el software QuantaSoft Software (Bio-Rad©).

La  $\alpha$ -triptasemia hereditaria (HAT) se definió como 3 o más copias de  $\alpha$ -triptasa cualesquiera que sean las copias  $\beta$  o 2 copias de  $\alpha$ -triptasa en presencia de  $3\beta$ .

Estos experimentos se realizaron en el Servicio de Secuenciación de ADN (Servicio de apoyo a la investigación-Nucleus), de la Universidad de Salamanca.

#### 4.3. Cálculo del tamaño muestral

Dada la ausencia de datos previos de otros estudios para estimar el tamaño muestral directamente, la determinación de la potencia estadística de nuestro estudio se basó en el número estimado de casos disponibles y la cantidad total de controles proporcionados por el Banco Nacional de ADN (BNADN). En concreto, contamos con 286 casos gallegos (2 casos perdidos para el análisis de genoma) y 3500 controles. Para el cálculo del tamaño muestral y la potencia estadística, utilizamos el software PS: Power and Sample Size (Dupont & Plummer, 1990), que nos permitió evaluar varios parámetros críticos incluyendo:

- **Frecuencia Alélica de SNPs:** Se consideraron SNPs con una frecuencia alélica de 0.1, dado que en un estudio tipo GWAS (Genome-Wide Association Study), el rango de frecuencias alélicas posibles oscila entre 0 y 0.5, con muchas de estas frecuencias correspondiendo a efectos aún desconocidos.
- **Relación Casos-Controles:** Nuestra muestra incluye una proporción de 1 caso por cada 12.11 controles, lo que mejora significativamente la capacidad del estudio para detectar asociaciones débiles.
- **Nivel de Significación:** Se estableció un umbral de significación de  $p < 5 \times 10^{-8}$ , el umbral estándar en estudios GWAS para ajustar por múltiples comparaciones y reducir la probabilidad de falsos positivos.

**Estimación de la Potencia Estadística:** Basado en estas configuraciones, y utilizando un odds ratio (OR) de 2 para un alelo de riesgo con una frecuencia de

0.1, se estima alcanzar una potencia del 80%. Esta potencia implica que el estudio tiene una probabilidad del 80% de detectar una asociación real del tamaño especificado bajo las condiciones dadas. Es importante mencionar que esta estimación de potencia es aproximada y varía según la frecuencia del SNP y la magnitud del OR. Un aumento en cualquiera de estos parámetros podría mejorar la potencia, mientras que una disminución tendría el efecto contrario.

Este enfoque para el cálculo del tamaño muestral y la evaluación de la potencia garantiza que el estudio está adecuadamente dimensionado para detectar efectos genéticos relevantes, a pesar de las limitaciones inherentes a un estudio GWAS con una enfermedad de base compleja como es la anafilaxia inducida por picaduras de himenópteros.

#### 4.4. Análisis estadísticos

Los datos fueron analizados usando el software Statistical Package for Social Sciences (SPSS, Chicago, USA). Los pacientes con valores perdidos no fueron eliminados del estudio por lo que, en las tablas, se especifica sobre cuántos pacientes se ha realizado cada determinación en función de la disponibilidad del dato.

**Estadística descriptiva:** Las variables categóricas se representaron por su número absoluto y su porcentaje. Para las variables cuantitativas, en la gran mayoría de ellas, se utilizó la mediana como representación de la tendencia central y los intervalos (*rangos*, intercuartil o absoluto) como representación de la dispersión.

**Estadística analítica:** Para la comparación de proporciones se utilizó la prueba de Chi-cuadrado con corrección de Yates, cuando fue necesario. La prueba de Chi-cuadrado de tendencia se empleó para investigar las tendencias de proporciones relativas a variables independientes en categorías ordinales. Para la comparación de variables numéricas emplearon pruebas estadísticas no paramétricas. Para la comparación de dos grupos independientes se empleó el test de Mann-Whitney. Se utilizó la prueba de Wilcoxon para comparar muestras pareadas. Se empleó el test de Jonckheere-Terpstra para el análisis de tendencia de una variable numérica entre más de dos categorías ordinales. Se utilizó la prueba de rangos de Spearman para evaluar la correlación entre variables. Se consideraron significativos los valores de P menores de 0.05. Se aportaron siempre los valores exactos de P.

#### **Análisis de asociación genética**

La asociación de cada SNP con la variable dependiente a analizar se evaluará mediante análisis de regresión logística:



$$\text{Caso/control (1/0)} = \text{SNP} + \text{edad} + \text{sexo} + \text{CP1} + \dots + \text{CP10}$$

La variable independiente de este estudio será cada uno de los SNPs codificados bajo el modelo aditivo (0, para homocigotos para el alelo frecuente, 1 para los heterocigotos o 2 para homocigotos para el alelo raro). En el modelo de regresión se incluyeron también como covariables sexos, edad y los 10 primeros CPs.

Los resultados del análisis para cada SNP incluirán el odds ratio y su intervalo de confianza y la probabilidad de asociación. El conjunto de las probabilidades encontradas, ordenadas por el cromosoma y posición en la que se encuentra cada SNP, serán visualizadas en escala logarítmica en un gráfico de tipo “Manhattan Plot”.

Todos los análisis se realizaron en Plink (opción –logistic) o en librerías de R específicas para realización o visualización de GWAS (qqman, SAIGEgds, etc).

Con respecto a la variable dependiente será el estatus caso control en donde el caso se consideraron los pacientes que presentaron una anafilaxia grave (grado II-III) y el grupo control corresponderá a los sujetos del BNADN. Además, para poder tener en cuenta variables solo recogidas en el grupo de casos (como los niveles de triptasa) se realizarán análisis GWAS “dentro de casos”, codificándolos en dos categorías en función de la gravedad de anafilaxia (grado II-III vs grado I) o niveles de triptasa (mayor o menor a 8).

#### ***Índice de riesgo poligénico (IRP o PRS polygenic risk score)***

Dada la esperada ausencia de casos de mastocitosis exploraremos de forma indirecta si existe diferencia en el riesgo genético de mastocitosis entre diferentes grupos de casos (en función del grado de anafilaxia, REMA, triptasa etc). Para ello construiremos un pequeño índice de riesgo poligénico combinando los 3 SNPs significativamente asociados con mastocitosis encontrados en [Galatà et al., 2021]. El genotipo de cada individuo para cada uno de los 3 SNPs será codificado como 0, 1 o 2 en función del número de alelos de riesgo y cada uno será ponderado por el efecto del SNP sobre el fenotipo, calculado a partir del odd ratio de la tabla 1 de la misma referencia.

Los valores numéricos del PRS serán comparados entre los diferentes grupos de casos mediante regresión logística (para evaluar su asociación con el riesgo de anafilaxia grave o altos niveles de triptasa, por ejemplo) ajustando para las mismas covariables anteriormente mencionadas, o por análisis de varianza para las comparaciones de más de dos grupos.

#### **4.5. Aspectos éticos y financiación**

El presente estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) de Galicia (Sección Santiago-Lugo) con el código 2018-622 (Anexo IV).

El Proyecto se realizó respetando la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial de 1964 y la ratificación de las siguientes asambleas, la Orden SCO/256/2007, por la que se establecen los Principios y las directrices detalladas de Buena Práctica

Clínica, el Convenio relativo a los derechos humanos y a la Biomedicina (Oviedo, 1997), la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica, la Ley 3/2018 de Protección de Datos de Carácter Personal y Derechos Digitales, la Ley 41/2002 (Básica Reguladora de la Autonomía del Paciente y de Derechos y Obligaciones en Materia de Información y Documentación Clínica), la Ley 3/2001 (Reguladora del Consentimiento Informado y de la Historia Clínica de los Pacientes), la Ley 3/2005 de modificación de la Ley 3/2001 y el Decreto 29/2009, por el que se regula el Acceso a la Historia Clínica Electrónica.

El estudio fue financiado una Beca de investigación de la Fundación de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC), el Proyecto PI19/01023 del ISCIII y fondos propios del Servicio de Alergología del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago.



## 5. RESULTADOS



### 5.1. Características de los pacientes en función del grado de anafilaxia

Se dispone de información completa con posibilidad de valoración del grado de gravedad de 281 pacientes que padecieron una reacción anafiláctica tras la picadura de un himenóptero y que se encuentran recibiendo inmunoterapia en el Servicio de Alergología. Dos pacientes no identificaron el insecto responsable de la reacción por lo que solo disponemos del dato en 279. De ellos, *Vespa velutina* se presenta como el insecto que con mayor frecuencia se encuentra implicado en la reacción, siendo 132 (46.9% del total) el número de pacientes que la reconocen como desencadenante entre los participantes del estudio. Al igual que en estudios previos, la población es mayoritariamente de hombres.

Se objetiva una tendencia a presentar una anafilaxia más grave a medida que aumenta la edad y parece que, además, la anafilaxia tiende a ser de mayor gravedad cuando el paciente se encuentra en tratamiento con IECAS o fármacos  $\beta$ -bloqueantes o ingiere, de forma habitual, mayores cantidades de alcohol (Tabla 10).

La mayoría de las reacciones se produjeron en los primeros 15 minutos tras la picadura y se observan diferencias en la frecuencia de reacción en función del tiempo y la gravedad, posiblemente porque por encima del 75% de ellas, en todos los niveles de gravedad, son más frecuentes de forma muy inmediata a la picadura.

No existen diferencias en relación al nivel de IgE total en función de la gravedad. Por el contrario, la cifra de triptasa basal tiende a ser más alta en los pacientes con cuadros anafilácticos más graves. La Tabla 10 muestra todos estos resultados.

Cuando el análisis se realiza uniendo los casos con grados de anafilaxia 2 y 3 y se enfrenta a los casos de anafilaxia de grado 1, se observa que se mantiene la diferencia en relación con todas las variables incluidas en el caso anterior.

### 5.2. Distribución de la puntuación REMA en la población de casos

En un total de 278 pacientes fue posible realizar una clasificación exacta del REMA (11 casos perdidos no disponen de alguno de los parámetros clínicos de forma fiable, fundamentalmente por la dificultad de conocer exactamente si había existido o no lesión cutánea compatible, o del valor de la triptasa basal en un caso).

Tan solo 15/278 (5.4%) presentaron un valor de REMA igual o superior a 2, punto de corte que permite sospechar un posible síndrome de activación mastocitaria. Los valores de REMA pormenorizados se presentan en la Tabla 11.

**Tabla 10.** Rasgos diferenciales epidemiológicos de los pacientes (n=281) con reacción anafiláctica en función del grado de anafilaxia.

	Grado de anafilaxia			Valor de P
	Grado 1 (n=73)	Grado 2 (n=114)	Grado 3 (n=94)	
<b>Edad (años)</b>	54 (39-66)	59 (45-68)	63 (53-68)	0.011
<b>Género (hombre)</b>	55 (75.3%)	84 (73.7%)	82 (86.3%)	0.067
<b>Consumo alcohol</b>	35 (0-102)	70 (0-140)	70 (0-160)	0.017
<b>Patología respiratoria</b>	4 (5.5%)	4 (4.4%)	3 (3.2%)	0.467
<b>Patología cardiovascular</b>	23 (31.5%)	44 (38.6%)	36 (38.3%)	0.393
<b>Uso de IECAS/<math>\beta</math>-bloqueantes</b>	6 (8.2%)	15 (13.2%)	19 (20.2%)	0.026
<b>Insecto responsable:</b>				
<i>Vespula spp</i>	23 (31.5%)	34 (30.4%)	21 (22.3%)	0.026
<i>Vespa velutina</i>	27 (37%)	48 (42.9%)	57 (60.6%)	
<i>Apis mellifera</i>	23 (31.5%)	30 (26.8%)	16 (17.0%)	
<b>Número de picaduras (en reacción)</b>	1 (1-1)	1 (1-3)	1 (1-2)	0.031
<b>Período de latencia</b>				
Menos de 15 minutos	55 (75.3%)	101 (88.6%)	83 (87.4%)	0.008
15-30 minutos	17 (23.3%)	8 (7%)	8 (8.4%)	
Mas de 30 minutos	1 (1.4%)	5 (4.4%)	4 (4.2%)	
<b>Uso de adrenalina</b>	14 (19.2%)	40 (25.1%)	56 (58.9%)	<0.001
<b>IgE total</b>	107 (44-214)	89 (44-194)	123 (68-245)	0.284
<b>Triptasa basal</b>	4.6 (3.5-5.7)	4.7 (3.7-6.3)	5.4 (4.3-6.7)	0.002

Las variables cuantitativas aparecen como mediana y (rango intercuartil). Las variables cualitativas se presentan con números absolutos y (porcentajes). En todos los casos, excepto para el insecto responsable y el período de latencia (para los que se ha realizado una prueba de Chi-cuadrado), se presenta un análisis de tendencia con la prueba de Jonckheere-Terpstra.

**Tabla 11.** Distribución de la población de casos de acuerdo con el estadiaje REMA.

Puntuación REMA	N (%)
-5	1 (0.4)
-4	40 (14.4)
-3	2 (0.7)
-2	135 (48.6)
-1	14 (5.0)
1	71 (25.5)
2	4 (1.4)
3	10 (3.6)
4	1 (0.4)

### 5.3. Triptasa basal y REMA en la población de pacientes con anafilaxia por veneno de los himenópteros

Si bien en la valoración del REMA se tiene en cuenta la triptasa basal, esto se hace de forma dicotomizada, dando un valor negativo si es inferior a 15 ng/mL y positivo si es superior a 25 ng/mL; sin embargo, no tiene en cuenta el valor en términos absolutos, existiendo, de hecho, un gap entre 15 y 25 ng/mL. Por esta razón se hizo un análisis de la posible correlación entre el valor absoluto de la triptasa basal y la puntuación alcanzada en el REMA, observando una débil correlación de Spearman ( $\rho=0.156$ ) que, no obstante, fue significativa ( $p=0.011$ ). En la Tabla 12 se muestra la distribución del REMA categorizado como  $\geq 2$  o  $< 2$  en función del grado de anafilaxia.

**Tabla 12.** Distribución de la población de casos de acuerdo con el estadiaje REMA en función del grado de anafilaxia.

REMA	Grado de anafilaxia		
	Grado 1	Grado 2	Grado 3
$\geq 2$	0	2 (13.3%)	13 (86.7%)
$< 2$	71 (27.0%)	112 (42.6%)	80 (30.4%)

### 5.4. Estudio hematológico en los pacientes con REMA $\geq 2$

Los 15 pacientes con REMA  $\geq 2$  fueron, consecutivamente según fueron diagnosticados en nuestro Servicio de Alergología, remitidos con una Interconsulta al Servicio de Hematología.

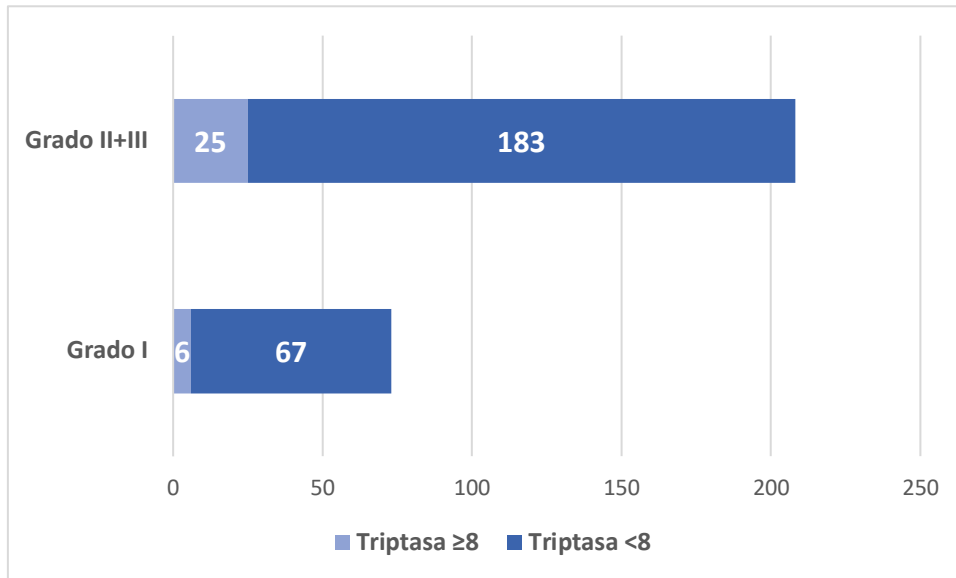
Todos los pacientes fueron estudiados, como parte de la práctica clínica habitual, en la Fundación Pública de Medicina Xenómica (al margen, por tanto, del estudio realizado para los trabajos de la presente Tesis Doctoral) en busca de la mutación en c-KIT, resultando en los 15 casos, negativa.

En el Servicio de Hematología se les practicó una biopsia de médula ósea, a dos pacientes en dos ocasiones como medida de confirmación, descartándose en todos los casos la presencia de acúmulos de mastocitos y, por tanto, descartando el diagnóstico de mastocitosis.

### 5.5. Pacientes con triptasa basal con un valor superior a 8 ng/mL

Un total de 32 (11.1%) pacientes de la muestra total presentan un valor de triptasa basal igual o superior a 8 ng/mL, punto de corte sugerido para un posible diagnóstico de H $\alpha$ T familiar. Al total de estos 32 pacientes se les realizó el estudio de número de copias para confirmar, en su caso, la presencia o no de esta entidad (ver más adelante).

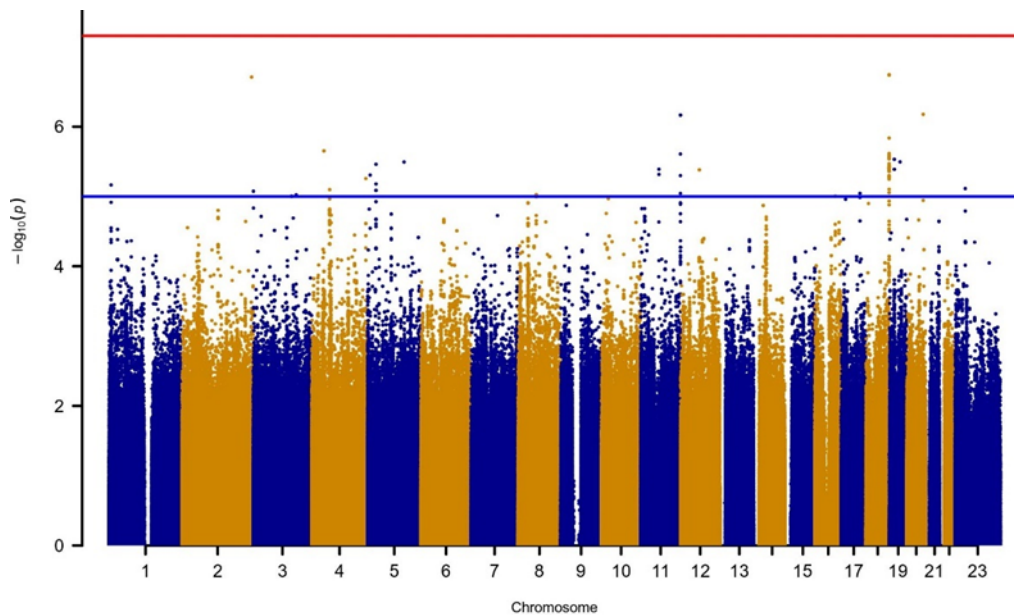
Dada la posible relación entre una mayor gravedad de reacción y esta patología, se analizó el grado de gravedad de la anafilaxia de los pacientes con valores basales por debajo de 8 y los de los sujetos con valores iguales o superiores a 8. Seis pacientes del total de los 73 que habían padecido una reacción de grado 1 (8.2%) tenían estos valores ( $\geq 8$  ng/mL) frente a 25 de un total de 208 con anafilaxia de grados 2 y 3 (12.0%) ( $p=0.525$ ). No existen, por tanto, diferencias en el grado de anafilaxia en función de la variable “triptasa basal  $<$  o  $\geq 8$ ng/mL” dicotomizada (Figura 9).



**Figura 9.** Porcentaje de pacientes que, teniendo un valor de triptasa  $\geq$  o  $<$  de 8 ng/mL, presentaron una anafilaxia de grado similar por lo que el valor de la triptasa basal no parece determinar, en esta serie, la gravedad de la anafilaxia.

### 5.6. Resultados obtenidos en el GWAS de la población de pacientes con anafilaxia por veneno de himenóptero con respecto a la población control

En un primer análisis al comparar la población de casos con los controles no se observó ninguna señal representativa de algún posible SNP candidato. Se unificó a los pacientes caso en función del grado de anafilaxia de modo que los sujetos con reacciones de grado 2 y 3 se analizaron como un solo grupo que se comparó, de nuevo, con la población control. De nuevo, el análisis realizado del GWAS en la población estudiada no permitió identificar ningún SNP que alcanzase la significación ( $p < 5 \times 10^{-8}$ ) como se puede observar en el Manhattan plot de la Figura 10. La población control, como ya se ha indicado, proviene del Banco Nacional de ADN y solo se dispone de la información básica de edad y género pero, caso de que entre la población a estudio, existiese un claro marcador genético que aportase riesgo al hecho de padecer anafilaxia, se podría haber detectado. Como consecuencia de este resultado negativo, la información de la población control no se volvió a utilizar en análisis posteriores que se limitaron a la población de casos.

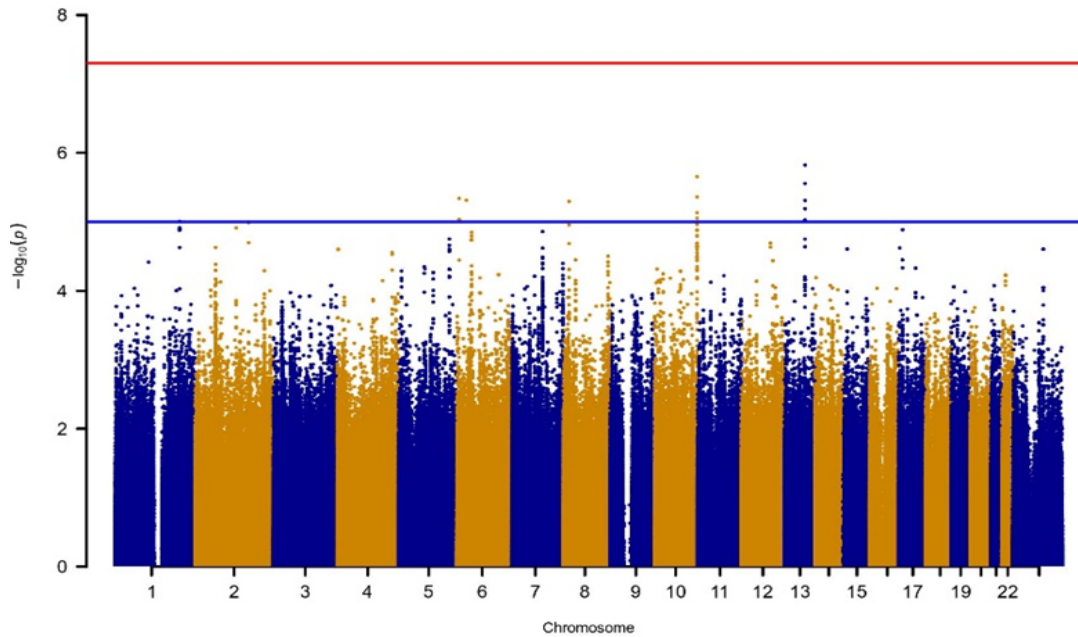


**Figura 10.** Manhattan plot de los resultados del GWAS (Genome-wide association) de los casos (pacientes con anafilaxia por veneno de himenóptero) respecto a controles. Los resultados muestran en el eje Y, los 750000 marcadores genéticos (SNPs) de la plataforma empleada en el estudio y en el eje X, su localización genómica en los 24 cromosomas. La línea transversal azul marca el punto de significación  $5 \times 10^{-5}$  y la línea transversal roja, la significación  $5 \times 10^{-8}$ .

### 5.7. Resultados obtenidos en el GWAS de la población de casos en función del grado de anafilaxia

El GWAS dentro de casos se ha comparado en función del grado de anafilaxia. Dado el reducido número de casos con anafilaxia de grado 3, se agruparon los casos de pacientes con anafilaxia en grados 2 y 3 y se comparó con la población con anafilaxia más leve, grado 1. En todos los casos, el análisis se realizó ajustando como variables independientes cada SNP, género, edad y componentes principales.

En la Figura 11 se presenta el Manhattan plot con estos resultados y se puede observar que, al igual que sucedía en la comparativa con el grupo control, no aparece ningún SNP que alcance la significación estadística recomendada. Sin embargo, sí es posible detectar la presencia de algunos SNPs sugestivos que sobrepasan el corte de  $p < 5 \times 10^{-5}$ .



**Figura 11.** Manhattan plot con los resultados del GWAS de riesgo de anafilaxia de grado 2 y 3 respecto a anafilaxia de grado 1. Los resultados muestran en el eje Y, los 750000 marcadores genéticos (SNPs) de la plataforma empleada en el estudio y en el eje X, su localización genómica en los 24 cromosomas. La línea transversal azul marca el punto de significación  $5 \times 10^{-5}$  y la línea transversal roja, la significación  $5 \times 10^{-8}$ .

En la Tabla 12 se presenta la lista de SNPs representativos (también llamados “lead SNPs”) de las señales de asociación que superan el umbral de  $5 \times 10^{-5}$ .

**Tabla 13.** Lead SNPs que sobrepasan el umbral de  $5 \times 10^{-5}$  en la población de casos con anafilaxia de grados 2 y 3 respecto a casos con anafilaxia de grado 1.

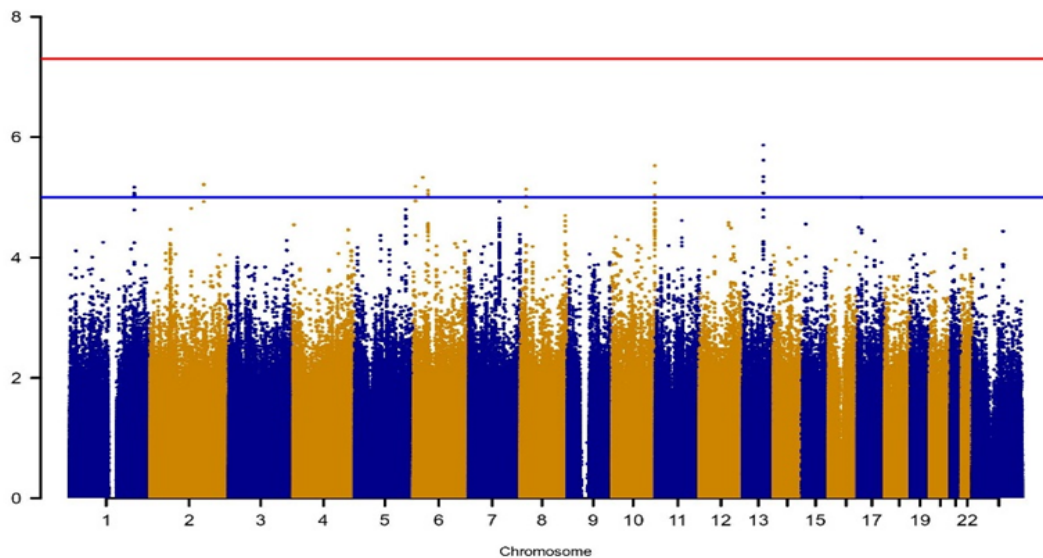
Cr	Posición	Rs ID	NEA	EA	Beta	SE	p	Gen
1	200268791	rs7527464	T	G	-1.08	0.24	9.82E-06	--
6	6950433	rs113475720	C	T	-2.19	0.48	4.58E-06	--
8	18074261	rs4921879	G	A	-2.16	0.47	5.05E-06	NAT1
10	133775231	rs7921418	G	A	-1.29	0.27	2.21E-06	PPP2R2; BNIP3
13	84024988	rs34074473	T	TG	-1.47	0.31	1.50E-06	--

El SNP rs4921879 aparece anotado posicionalmente en NAT1, pero no muestra relación con cambio de expresión en ningún tejido. El SNP rs7921418 se anota por posición en BNIP3 y PPP2R2. Este SNP sí que aparece relacionado con cambios de expresión en PPP2R2 en múltiples tejidos (\*\*)

(\*\*):

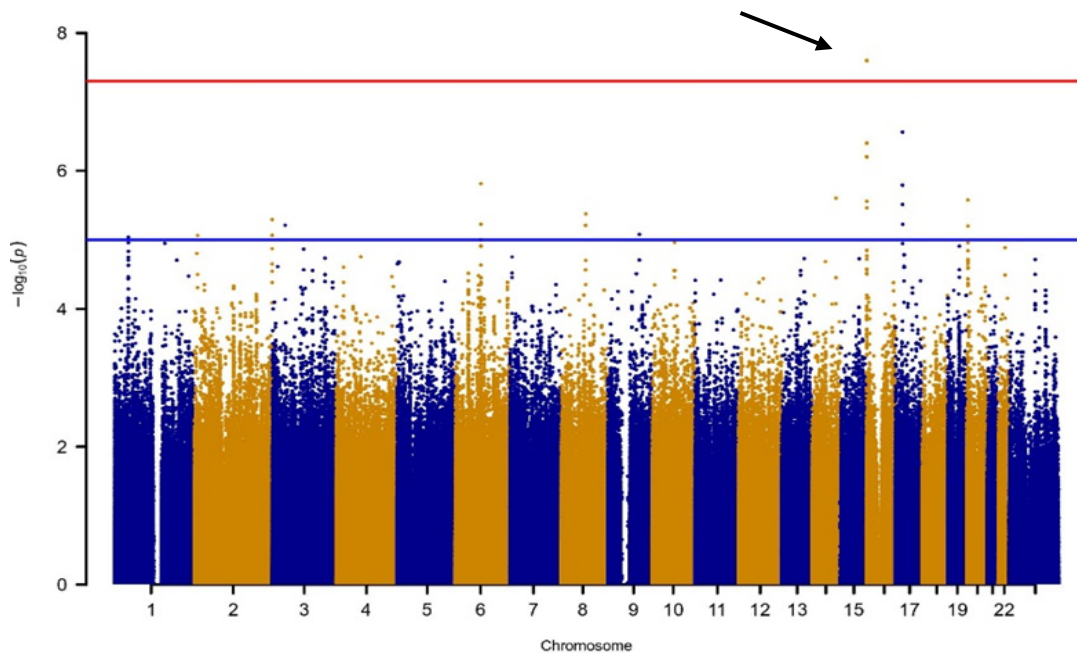
GTEX/v8/Whole\_Blood:GTEX/v8/Artery\_Tibial:GTEX/v8/Breast\_Mammary\_Tissue:GTEX/v8/Colon\_Sigmoid:GTEX/v8/Colon\_Transverse:GTEX/v8/Esophagus\_Gastroesophageal\_Junction:GTEX/v8/Esophagus\_Muscularis:GTEX/v8/Nerve\_Tibial:GTEX/v8/Pancreas:GTEX/v8/Skin\_Not\_Sun\_Exposed\_Suprapubic:GTEX/v8/Skin\_Sun\_Exposed\_Lower\_leg:GTEX/v8/Stomach:GTEX/v8/Testis:GTEX/v8/Thyroid

Al añadir el valor de la triptasa basal en su nivel absoluto (Figura 12), los resultados obtenidos son similares a los previos. Si bien se puede ver que son más los SNPs que pasan el umbral de  $5 \times 10^{-5}$ , ninguno llega a alcanzar significación que permita considerarlo como un marcador en este contexto.



**Figura 12.** Manhattan plot del GWAS de riesgo de anafilaxia de grados 2 y 3 respecto a anafilaxia de grado 1, ajustando para covariables (género, edad y componentes principales) y niveles de triptasa basal. Los resultados muestran en el eje Y, los 750000 marcadores genéticos (SNPs) de la plataforma empleada en el estudio y en el eje X, su localización genómica en los 24 cromosomas. La línea transversal azul marca el punto de significación  $5 \times 10^{-5}$  y la línea transversal roja, la significación  $5 \times 10^{-8}$ .

Se orientó el análisis en función del punto de corte de triptasa de 8 ng/mL, nivel propuesto para definir posible diagnóstico de HqT familiar de forma que se consideraron los sujetos con triptasa basal menor y mayor o igual a este valor como una variable dicotomizada. Cuando se realizó el GWAS usando esta variable como variable dependiente en el modelo de regresión logística y se usan como covariables género, edad y componentes principales, se observan SNPs que alcanzan significación  $5 \times 10^{-8}$  (Figura 13).



**Figura 13.** Manhattan plot del GWAS de riesgo de niveles de triptasa >8ng/mL (umbral sugerido para la búsqueda de H $\alpha$ T, ajustando para covariables (género, edad y componentes principales). Los resultados muestran el eje Y, los 750000 marcadores genéticos (SNPs) de la plataforma empleada en el estudio y en el eje X, su localización genómica en los 24 cromosomas. La línea transversal azul marca el punto de significación  $5 \times 10^{-5}$  y la línea transversal roja, la significación  $5 \times 10^{-8}$ . Se indica con la flecha los SNPs que alcanzan significación estadística que se localizan en el cromosoma 16.

Como se puede ver en la imagen, la señal significativa se corresponde con el cromosoma 16 en el que se localiza el gen de la H $\alpha$ T familiar o hereditaria, TPSG1.

En la Tabla 14 se presentan los SNPs representativos de las señales de asociación que superan el umbral de  $5 \times 10^{-5}$  y los que alcanzan la significación  $5 \times 10^{-8}$ . La última columna indica los genes anotados por posición (el marcador está físicamente cercano) pero se marcan en negrita aquellos en los que además se ha documentado cambio de expresión en algún tejido.

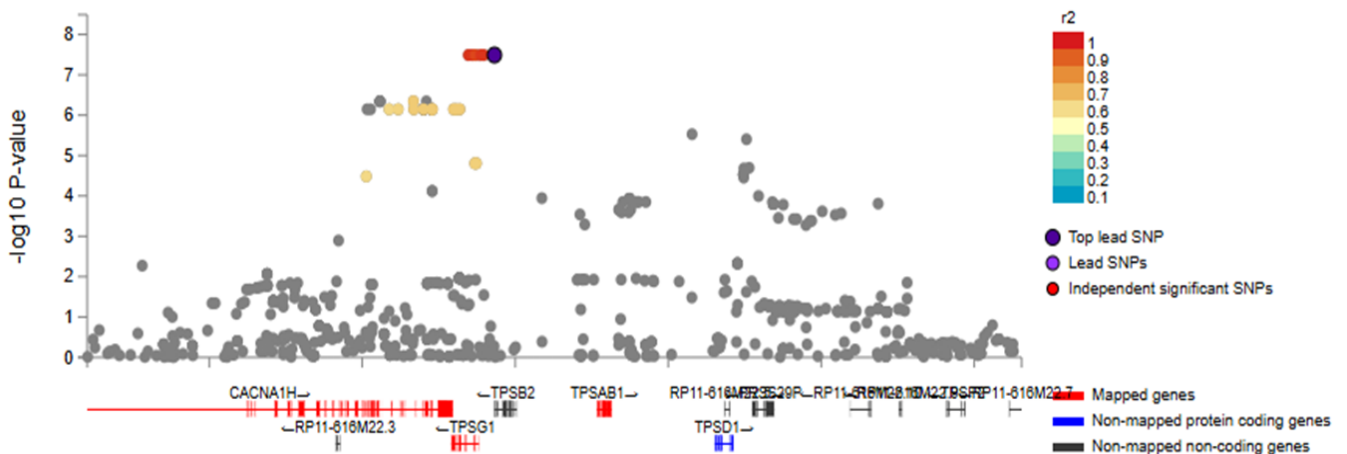
Los cambios de expresión que se indican, en este caso, para TPSG1 y que podrían guardar alguna relación con la anafilaxia:

- GTEx/v8/Artery\_Tibial
- GTEx/v8/Colon\_Sigmoid
- GTEx/v8/Skin
- GTEx/v8/Esophagus\_Gastroesophageal\_Junction
- GTEx/v8/Esophagus\_Mucosa
- GTEx/v8/Esophagus\_Muscularis
- GTEx/v8/Heart\_Atrial\_Appendage
- GTEx/v8/Heart\_Left\_Ventricle.

**Tabla 14.** Lead SNPs que sobrepasan el umbral de  $5 \times 10^{-5}$  y  $5 \times 10^{-8}$  (estos últimos marcados en color rojo) en la comparación de casos con triptasa basal  $>8$  ng/mL respecto a casos con triptasa basal  $<8$  ng/mL.

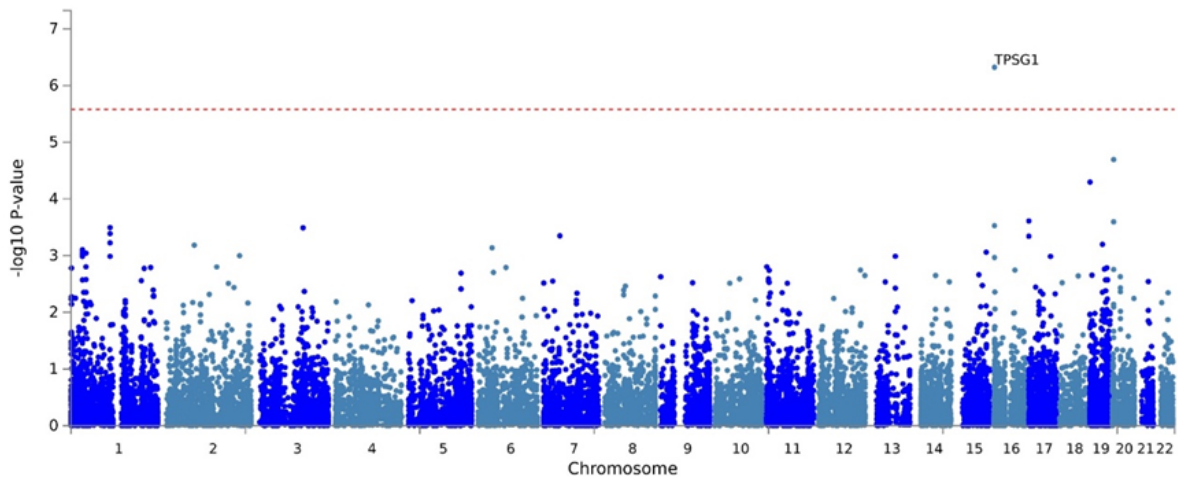
Cr	rsID	pos	NEA	EA	beta	SE	p	Mapped genes
1	rs60132109	43236164	C	T	1.90	0.43	8.5E-06	CCDC30; PPIH; YBX1; CLDN19; LEPRE1; C1orf50; ERMAP
2	rs79137600	9692052	G	A	3.54	0.80	9.5E-06	ASAP2; CPSF3; ADAM17
3	rs149198439	39914623	T	C	3.28	0.73	6.4E-06	MYRIP
6	rs145590395	80238777	A	AT	1.80	0.38	1.7E-06	LCA5
8	rs72670620	77303045	T	C	2.65	0.57	3.9E-06	--
9	rs77667342	100571880	C	T	3.38	0.76	9.3E-06	--
14	rs36007625	94577631	T	A	1.77	0.38	2.6E-06	IFI27L1; IFI27
16	rs72775463	1277281	C	G	2.83	0.51	3.2E-08	CACNA1H; TPSG1; TPSAB1; TPSD1
17	rs202053984	21911705	TCTC	T	3.06	0.60	3.2E-07	MTRNR2L1
20	rs6037676	3817046	A	G	1.76	0.37	2.7E-06	AP5S1; MAVS

Al hacer un Regional plot en torno al SNP de TPSG1 identificado en la Tabla 14 de lead SNPs se observan 4 genes CACNA1H, TPSAB1, TPSG1 y TPSD1 que podrían ir segregados con TPSAB1 que es el descrito por [Lyons et al., 2018] en la H $\alpha$ T hereditaria (Figura 14).



**Figura 14.** Regional plot en torno SNP de TPSG1. Los resultados de la imputación encuentran en la región que rodea al SNP rs72775463 varios genes, concretamente CACNA1H, TPSAB1, TPSG1 y TPSD1.

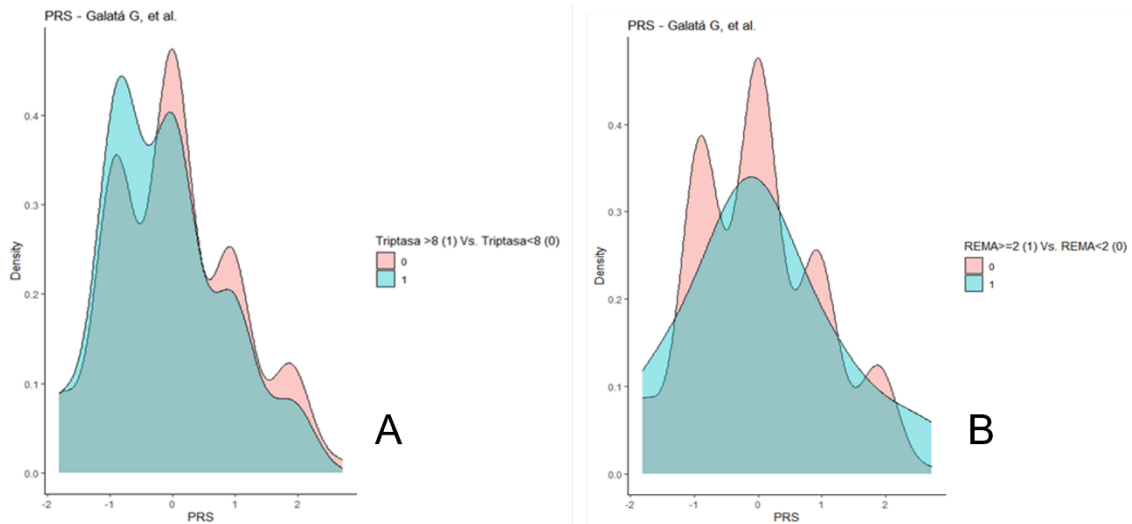
Por último, en el GWAS de riesgo de niveles altos de triptasa se muestran también los resultados del análisis a nivel de gen, realizado con MAGMA (combina los p values de todos los marcadores individuales en cada gen). Los resultados también se muestran en un gráfica tipo Manhattan plot en el que cada punto es el resultado del test para un gen. El gen TPSG1 es el único que muestra una asociación significativa, superando el umbral de probabilidad tras corrección múltiple (Figura 15).



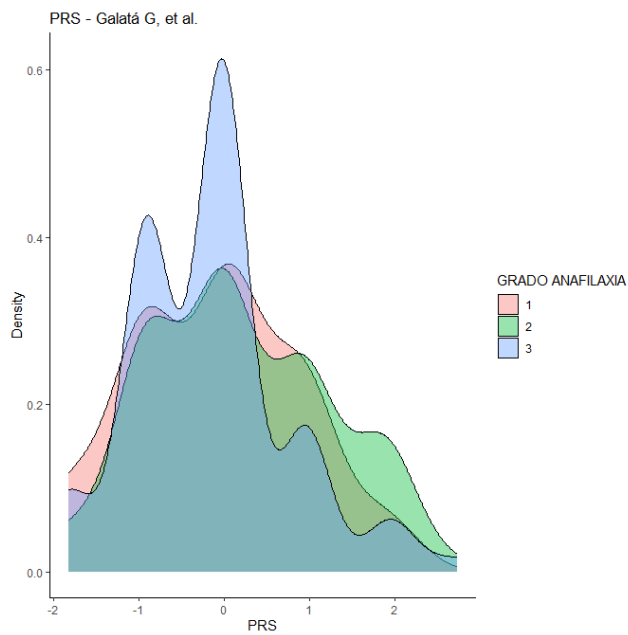
**Figura 15.** Imagen de MAGMA con identificación a nivel de gen para TPSG1.

### 5.8. Aplicación de Índice de Riesgo Poligénico para mastocitosis (PRS de sus siglas en inglés) de Galatá G et al. 2021 a los resultados obtenidos en el GWAS

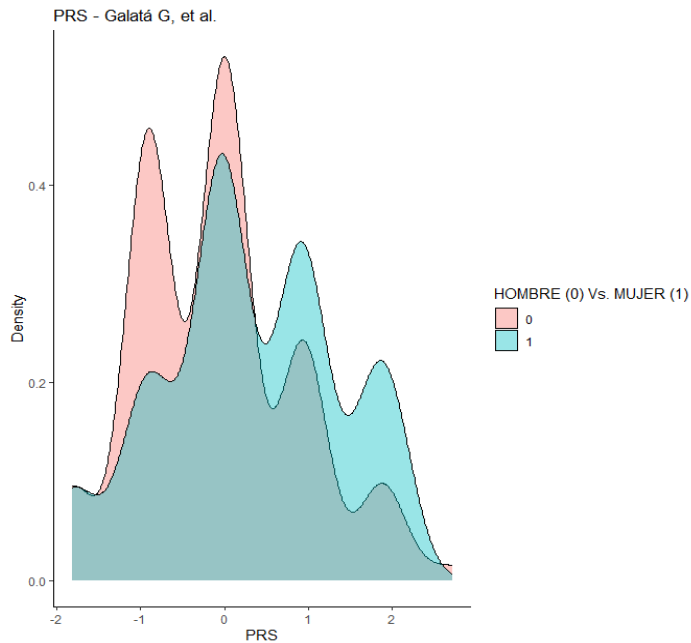
El PRS de mastocitosis no mostró diferencias claramente significativas entre ninguno de los grupos de casos evaluados, ni dicotomizados en función de REMA, ni en función de niveles altos/bajos de triptasa ni en función del grado de anafilaxia. Las figuras 16, 17 y 18 muestran las curvas de densidad para los diferentes grupos, sin que se evidencien diferencias significativas en relación con el valor de triptasa mayor o menor de 8 ng/mL (Figura 16A), el REMA (Figura 16B) o el grado de anafilaxia (Figura 17). Curiosamente, si se observa una diferencia significativa en el sexo (sobre un total de 263 analizados) de forma que las mujeres (n=57) presentan un riesgo poligénico superior al de los hombres (n=206) ( $p=0.013$ ) (Figura 18).



**Figura 16.** Índice de riesgo poligénico de mastocitosis calculado según Galatá et al., 2021 en función de los valores de triptasa basal dicotomizada con punto de corte en 8 ng/mL (A) o en función de un REMA <2 o ≥2 (B). Se observa una superposición de las áreas, indicando que no existen diferencias en cuanto al riesgo en función a estos parámetros.



**Figura 17.** Índice de riesgo poligénico de mastocitosis calculado según Galatá et al., 2021 en función del grado de anafilaxia. Se observa una superposición de las áreas, indicando que no existen diferencias en cuanto al riesgo en función a estos parámetros.



**Figura 18.** Índice de riesgo poligénico de mastocitosis calculado según Galatá et al., 2021 en función del sexo en donde se evidencia un riesgo aumentado para el sexo femenino.

### 5.9. Resultados del análisis del número de copias de $\alpha$ y $\beta$ triptasa en los pacientes con triptasa basal igual o superior a 8 ng/mL

El resultado del análisis del número de copias de  $\alpha$  y  $\beta$  triptasa en los 32 pacientes con niveles de triptasa basal igual o superior a 8 ng/mL se muestra en la Tabla 15. Doce pacientes, lo que supone el 38.7% de estos pacientes, presentaron un contaje anormal.

Al analizar dentro de este grupo, el tipo de reacción padecida y otros factores que podrían estar relacionados, se comprueba que:

#### **Grado de anafilaxia**

La distribución de pacientes según el grado de gravedad de la reacción fue similar entre los que contaban con una H $\alpha$ T y los que no tenían esta entidad confirmada, presentando un 83.3% y un 80% de ellos, respectivamente, una anafilaxia de grados 2 o 3 ( $p=1$ ).

#### **Uso de adrenalina en la reacción**

Similar en ambos grupos de sujetos, incluso se requirió un uso más frecuente de adrenalina entre los que no se confirmaron como H $\alpha$ T (50% de ellos) y los que sí la padecen (33%) ( $p=0.581$ ).

#### **Tiempo de latencia de la reacción**

Sin evidencia de cambios entre ambos grupos ( $p=0.354$ ) con frecuencias de: 75%, 15% y 10% para menor de 15 minutos, entre 15 y 30 minutos y superior a 30 minutos, entre los que no presentan la alteración y 91.7%, 0% y 8.3% en la misma distribución de períodos de latencia, entre los que sí presentan H $\alpha$ T, respectivamente.

**Tabla 15.** Resultado pormenorizado del número de copias en los pacientes con triptasa basal igual o superior a 8 ng/mL. Todos los pacientes fueron c-KIT NEGATIVOS.

ID	TRIPTASA BASAL	RESULTADO	INTERPRETACIÓN
VE-039	8.1	1 $\alpha$ 2 $\beta$	NORMAL
VE-030	19.6	2 $\alpha$ 3 $\beta$	ALTERADO
VE-067	8.6	4 $\beta$	NORMAL
VE-069	11.8	2 $\alpha$ 3 $\beta$	ALTERADO
VE-082	9.9	1 $\alpha$ 3 $\beta$	NORMAL
VE-86	11.1	1 $\alpha$ 3 $\beta$	NORMAL
VE-94	12.8	2 $\alpha$ 2 $\beta$	NORMAL
X-076	11.1	2 $\alpha$ 3 $\beta$	ALTERADO
VE-141	11	1 $\alpha$ 2 $\beta$	NORMAL
VE-154	8.4	4 $\beta$	NORMAL
VE-155	11.4	1 $\alpha$ 3 $\beta$	NORMAL
VE-156	13.2	2 $\alpha$ 3 $\beta$	ALTERADO
VE-198	12.9	3 $\alpha$ 2 $\beta$	ALTERADO
VE-192	11.1	2 $\alpha$ 3 $\beta$	ALTERADO
X-015	21.4	3 $\alpha$ 2 $\beta$	ALTERADO
X-018	14.6	2 $\alpha$ 3 $\beta$	ALTERADO
X-046	8.1	4 $\beta$	NORMAL
X-051	8.5	1 $\alpha$ 3 $\beta$	NORMAL
X-053	8.5	1 $\alpha$ 3 $\beta$	NORMAL
X-062	8.6	1 $\alpha$ 3 $\beta$	NORMAL
X-083	12.5	2 $\alpha$ 3 $\beta$	ALTERADO
X-084	9	1 $\alpha$ 3 $\beta$	NORMAL
X-087	15.6	3 $\alpha$ 2 $\beta$	ALTERADO
A-009	21.4	2 $\alpha$ 3 $\beta$	ALTERADO
A-011	12.5	2 $\alpha$ 2 $\beta$	NORMAL
A-032	19.1	1 $\alpha$ 3 $\beta$	NORMAL
A-035	11.6	2 $\alpha$ 2 $\beta$	NORMAL
A-049	9.4	1 $\alpha$ 3 $\beta$	NORMAL
A-052	10.9	2 $\alpha$ 2 $\beta$	NORMAL
A-053	11.1	2 $\alpha$ 3 $\beta$	ALTERADO
A-063	8.5	4 $\beta$	NORMAL
A-070	8.4	1 $\alpha$ 3 $\beta$	NORMAL

## 5.10. Resultados obtenidos en el GWAS de los pacientes con estudio de H $\alpha$ T y correlación entre ambos

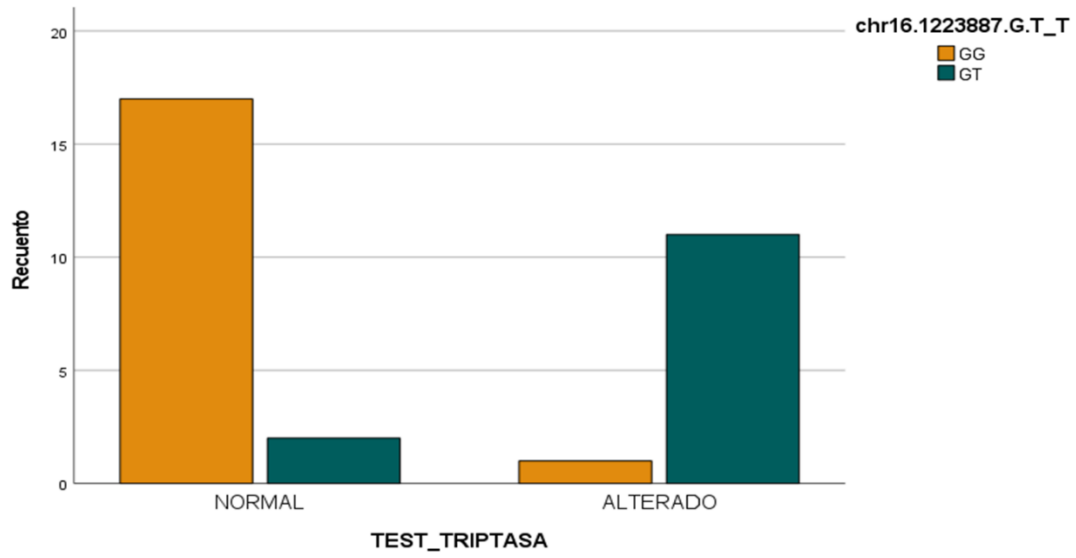
Al analizar dentro del subgrupo de pacientes con una triptasa basal  $\geq 8$ ng/mL a los que se les había realizado el análisis de cuentas de copias de las cadenas de triptasa  $\alpha$  y  $\beta$  y comparar estos resultados con los obtenidos en el GWAS, se pudo comprobar que existía una alta correlación entre las dos técnicas.

Concretamente, se eligió uno de los SNP del cromosoma 16 (1223887.G.T\_T) y tras ajustar por sexo, edad y por componentes principales, pudimos observar una relación significativa con un valor de  $P=0.011$  (Tabla 16 y Figura 19) lo que apunta a que el SNP 1223887 en su variante GT o TT (presencia de T) sugiere de forma significativa la existencia de H $\alpha$ T.

**Tabla 16.** Relación de los resultados obtenidos en GWAS respecto a la alteración que define H $\alpha$ T en la que se observa la relación significativa entre el SNP sugestivo detectado en GWAS y la H $\alpha$ T.

VARIABLE	beta	Error estándar	Wald	gl	P
SEX	-0,670	1,598	0,176	1	0,675
Edad	0,001	0,037	0,001	1	0,977
PC1	93,924	182,759	0,264	1	0,607
PC2	37,303	82,418	0,205	1	0,651
PC3	20,002	50,840	0,155	1	0,694
PC4	14,563	40,029	0,132	1	0,716
<b>chr16.1223887.G.T_T</b>	<b>4,797</b>	<b>1,895</b>	<b>6,404</b>	<b>1</b>	<b>0,011</b>
Constante	0,377	5,679	0,004	1	0,947

Estos resultados apuntan a la posible identificación de la H $\alpha$ T a través de la variante GT\_T del SNP analizado.



**Figura 19.** Distribución de los genotipos del SNP chr16:1223887:G:T (TPSG1) en los grupos definidos en función del test de la triptasa.



## 6.DISCUSIÓN



## 6.1. Contextualización de los resultados

En la Tabla 17 se enumeran y sintetizan los resultados principales de los presentes de cara a su contextualización, alineados por los objetivos planteados. De entrada, es preciso hacer constar la no existencia de estudios con GWAS en este tipo de pacientes en la literatura.

**Tabla 17.** Resumen de los principales hallazgos del estudio alineados con sus objetivos

### **Objetivos principales**

**Objetivo 1. Identificar variaciones génicas asociadas a la predisposición de padecer anafilaxia grave tras picadura de himenópteros, mediante un estudio de asociación de genoma completo (GWAS) en pacientes gallegos.**

El estudio de asociación de genoma completo en los pacientes con reacciones sistémicas debidas a alergia al veneno de los himenópteros en el área sanitaria de Santiago de Compostela y Barbanza, ha permitido identificar un SNP sugestivo de la presencia de H $\alpha$ T en los pacientes con anafilaxia de grados 2 y 3 y con niveles basales de triptasa basal igual o superiores a 8 ng/mL (rs72775463 y rs1223887) localizado en el cromosoma 16.

**Objetivo 2. Identificar la posible existencia de  $\alpha$ -hipertriptasemia en el subgrupo de pacientes con niveles de triptasa basal que, potencialmente, podrían sugerir este diagnóstico.**

En el 38.7% de los pacientes con triptasa basal igual o superior a 8 ng/mL y anafilaxia de grados 2 y 3 frente al veneno de los himenópteros se ha identificado H $\alpha$ T. Se ha detectado una correlación significativa entre esta alteración y el SNP identificado en el Objetivo 1.

### **Objetivos secundarios**

**Objetivo 3. Identificar factores epidemiológicos asociados a una mayor gravedad de la enfermedad.**

Las reacciones alérgicas sistémicas frente al veneno de los himenópteros son más graves en pacientes de mayor edad, en varones y aquellos sometidos a tratamiento con fármacos IECAS y  $\beta$ -bloqueantes. Los pacientes que beben cantidades más altas de alcohol regularmente presentan, también, reacciones más graves. La mayoría de las reacciones ocurren en los primeros 15 minutos tras la picadura.

**Objetivo 4. Observar la relación entre el nivel de triptasa basal y la gravedad de la reacción.**

Los pacientes con reacciones más graves tienen niveles basales de triptasa que son más altos que los que presentan reacciones de menor gravedad.

**Objetivo 5. Comprobar la relación entre el grado de gravedad y el uso de adrenalina como tratamiento de elección en el momento de la reacción.**

El uso de adrenalina se relaciona directamente con la gravedad de forma que fue administrada en el 58.9% de las reacciones de grado 3 frente al 25.1 y 1.2% de las reacciones de grado 2 y 1, respectivamente.

**Objetivo 6. Identificar si la gravedad de la reacción se relaciona o no con el tipo de himenópteros responsable de la reacción.**

Los pacientes que sufren picaduras por *Vespa velutina* presentan reacciones más graves que los picados por *Vespula* spp o por *Apis mellifera*.

**El estudio de asociación de genoma completo en los pacientes con reacciones sistémicas debidas a alergia al veneno de los himenópteros en el área sanitaria de Santiago de Compostela y Barbanza, ha permitido identificar un SNP sugestivo de la presencia de H $\alpha$ T en los pacientes con anafilaxia de grados 2 y 3 y con niveles basales de triptasa basal igual o superiores a 8 ng/mL.**

Según los datos publicados por otros autores [González de Olano et al., 2007; Álvarez-Twose et al., 2010], los pacientes con alergia al veneno de los himenópteros que se expresan en forma de reacción sistémica, anafilaxia, podrían padecer hasta en un 20% de los casos lo que se ha denominado síndrome de activación mastocitaria. Este síndrome clínico obliga al estudio genético de los pacientes en busca de la mutación en c-KIT para confirmar o no la presencia de mastocitosis. Además, en aquellos pacientes que presenten, cifras de triptasa basal elevadas, por encima de 20 ng/mL según unos autores [Valent et al., 2001; Escribano et al., 2002; Valent et al., 2004; Valent et al., 2007; Arock & Valent, 2010; Valent et al. 2017; Akin et al., 2017; Hartmann, et al., 2017; Trizuljak et al., 2020; Valent et al., 2021 Khoury et al., 2022; Valent et al., 2023; Akin, et al., 2023; Valent et al, 2023; Sotlar, et al., 2023] y 25 ng/mL según REMA [Alvarez-Twose et al., 2012] deberían ser remitidos a los Servicios de Hematología para que se les realice una biopsia de médula ósea y poder descartar de forma más precisa una mastocitosis sistémica. Esta manera de proceder, que se corresponde con la práctica clínica habitual, tiene consecuencias en el tratamiento de los pacientes pues se recomienda, en estos casos, mantener la vacunación específica (inmunoterapia) de por vida y no suspenderla, como suele ser habitual, tras 3 a 5 años de tratamiento.

Resultaba llamativo que, en la mayoría de los pacientes con estos rasgos estudiados en el área sanitaria de Santiago de Compostela y Barbanza, y a pesar de realizar todos los estudios pertinentes, no se llegara al diagnóstico de mastocitosis o síndrome de activación mastocitaria. En el caso de este último, se trataría de un diagnóstico clínico que, como ya se ha explicado, requeriría de la presencia de síntomas recurrentes compatibles con activación mastocitaria, episodios repetidos de anafilaxia, por ejemplo y que se pudiera comprobar la estabilidad o buen control sintomático con el tratamiento de la mastocitosis [Valent et al., 2012; Valent et al., 2019]. En este último caso se trataría de comprobar que los episodios no se repiten cuando el paciente recibe antihistamínicos o cromoglicato disódico, por ejemplo. Obviamente, el hecho de que estos pacientes presenten única y exclusivamente anafilaxia tras la picadura de los himenópteros sin otra clínica asociada fuera de estos episodios no permite, por su propia definición, clasificarlo como síndrome de activación mastocitaria. Como se ha explicado en el apartado correspondiente, la justificación de este estudio se fundamenta en la preocupación clínica de no diagnosticar correctamente a los pacientes.

Los resultados obtenidos permiten asegurar que, efectivamente, la prevalencia de síndrome de activación mastocitaria en esta población es tan baja como cero si bien sí

se han detectado correlaciones relevantes con las cifras de triptasa y otros parámetros, como se explicará al discutir los objetivos secundarios.

Los resultados del estudio de genoma completo en los pacientes al realizar el análisis por componentes principales o, incluso, desglosarlo en función de la gravedad de la reacción anafiláctica o los niveles absolutos de triptasa basal, no permitió identificar ningún SNP sugestivo aunque sí se identificaron algunos SNP representativos que no se pueden considerar lo suficientemente relevantes como para que supongan alguna utilidad como marcadores biológicos.

La situación cambia cuando se dicotomiza el valor de la triptasa. Teniendo en cuenta la descripción realizada por Lyons et al., en 2016 de la entidad conocida como H $\alpha$ T y la recomendación del estudio de las copias  $\alpha$  y  $\beta$  de la triptasa cuando el valor de la triptasa basal sea igual o superior a 8 ng/mL, analizamos los resultados en función de la gravedad de la reacción padecida y del valor de triptasa en función de que fuera menor o igual o superior a 8 ng/mL. Con esta aproximación, siguen apareciendo SNPs representativos pero se destaca un SNP que sobrepasa el umbral de  $5 \times 10^{-8}$ , rs72775463 y que se corresponde con el gen TPSG1. El Regional plot en torno a este SNP de TPSG1 identifica 4 genes CACNA1H, TPSAB1, TPSG1 y TPSD1 que podrían ir segregados con TPSAB1 que es el descrito por [Lyons et al., 2018] en la H $\alpha$ T hereditaria.

Centrándonos en los polimorfismos identificados, rs72775463 y rs1223887 en pacientes con reacciones sistémicas más graves, se trata de SNPs intrónicos que se encuentra en estrecha proximidad con regiones reguladoras del gen TPSAB1. La posible asociación de estos SNPs con la expresión aumentada de triptasa o con alteraciones estructurales en la región del cromosoma 16p13.3 los convierten en candidatos potenciales como marcadores de riesgo genético. Aunque estos polimorfismos no habían sido detectado en estudios anteriores sobre H $\alpha$ T o mastocitosis, su identificación en esta cohorte justifica su inclusión en futuros estudios genéticos para explorar su utilidad como biomarcador pronóstico o predictivo ya que aunque su función biológica no está completamente definida, su comportamiento en esta cohorte sugiere que podría actuar como marcador indirecto de alteraciones más complejas, como la variación en el número de copias (CNV), sin necesidad de técnicas específicas para detectarlas. Este es un enfoque que ha sido sugerido en estudios recientes sobre regulación genética de triptasa [Sprinzl et al., 2021].

Respecto a TPSG1, situado en la región subtelomérica 16p13.3 del cromosoma 16, parece que no codifica directamente formas bioactivas de triptasa implicadas en anafilaxia (como TPSAB1 o TPSB2), pero sí podría desempeñar un papel indirecto en la regulación de la expresión génica en esa zona. Aunque no se identificaron mutaciones patogénicas en TPSG1, sí se observó una mayor frecuencia de ciertas variantes polimórficas en pacientes con reacciones más graves, lo que podría indicar un papel modulador o epigenético aún no completamente definido. El análisis de expresión de TPSG1 identifica órganos como la piel, distintas partes del tubo digestivo y el corazón

que podrían guardar relación con la anafilaxia en lo que a manifestaciones cutáneas (urticaria, eritema, prurito), digestivas (dolor abdominal, diarrea, vómitos) y cardíacas (insuficiencia cardíaca, hipotensión e incluso isquemia miocárdica) se refiere.

La implicación del gen TPSG1, que no codifica triptasa funcional, pero podría modular la expresión de otros genes del locus, sugiere un papel más complejo del entorno genómico de la triptasa en la regulación de la respuesta mastocitaria. De especial interés es la asociación del SNP rs72775463, que podría actuar como marcador indirecto genético de alteraciones estructurales (como CNV), funcionando como un marcador indirecto de riesgo clínico. La identificación de un SNP único con señal significativa a nivel de genome-wide significance (GWS) en el contexto de TPSG1 apoya la idea de que algunos polimorfismos podrían reflejar, de forma simplificada, una predisposición genética más compleja. Esto resulta especialmente relevante en estudios clínicos donde no se dispone de técnicas específicas para detectar CNV. Este resultado ofrece una ventana a la posibilidad de incorporar biomarcadores genéticos de tipo “sustitutivo” o indicativo, que no reflejan directamente la alteración funcional, pero sí permiten inferirla con un grado aceptable de certeza. Esta aproximación ya se utiliza en otras áreas de la medicina, y su aplicación al campo de las reacciones anafilácticas podría mejorar la estratificación del riesgo sin aumentar la complejidad diagnóstica.

Este hallazgo, aunque preliminar, resulta de especial interés en el contexto de estudios que apuntan a que la región que alberga TPSG1 podría participar en la organización estructural del locus de triptasa y en la regulación de genes vecinos [Lyons et al., 2016; Sprinzl et al., 2021]. Estos resultados abren nuevas vías de investigación sobre cómo está organizado y regulado el conjunto de genes implicados en la producción de triptasa, que tradicionalmente se ha centrado en TPSAB1, pero que podría estar modulada por elementos adyacentes o genes no codificantes con funciones reguladoras.

Desde el punto de vista clínico, este hallazgo es especialmente prometedor ya que ofrece una alternativa más sencilla y accesible a pruebas genéticas más complejas que analizan directamente el número o la estructura de los genes, y que no siempre están disponibles en todos los entornos sanitarios. Identificar una variante genética que actúe como marcador indirecto de otra alteración más difícil de detectar puede facilitar la identificación precoz de personas con mayor riesgo y permitir la puesta en marcha de estrategias preventivas más eficaces.

**En el 38.7% de los pacientes con triptasa basal igual o superior a 8 ng/mL y anafilaxia de grados 2 y 3 frente al veneno de los himenópteros se ha identificado H $\alpha$ T. Se ha detectado una correlación significativa entre esta alteración y el SNP identificado en el Objetivo 1.**

La H $\alpha$ T es una entidad poco reconocida pero que está impactando en los estudios de alergia. Su identificación como trastorno hereditario con implicaciones clínicas relevantes ha permitido reinterpretar numerosos casos previamente considerados

idiopáticos. Este avance amplía el espectro diagnóstico en pacientes con anafilaxia sin sensibilización evidente, y subraya la necesidad de incluir el estudio de TPSAB1 en los algoritmos diagnósticos para reacciones graves.

Desde la descripción de esta patología, han sido varios los estudios que se han fijado en la posible importancia de la H $\alpha$ T en la frecuencia de presentación de anafilaxia por veneno de himenópteros o en el aumento de la potencial gravedad de las reacciones en los sujetos alérgicos.

Como se acaba de apuntar, el estudio realizado permite asegurar que la ausencia de mastocitosis en la población estudiada es correcta pues no se ha detectado aún después de haber realizado todos los estudios recomendados y tras el análisis del genoma completo mediante GWAS pero sí hemos podido detectar casos de H $\alpha$ T y la relación de esta entidad con un polimorfismo que podría llegar a ser de utilidad en la aproximación diagnóstica a esta enfermedad. Hemos podido comprobar que la anafilaxia por veneno de los himenópteros sí es más grave cuando el valor de REMA es mayor o igual que 2, si bien el número de pacientes con esta puntuación es muy bajo (15, 5.2% de la población estudiada). Hemos observado que 32 sujetos (11.1% del total estudiado) presentaban una triptasa basal mayor o igual que 8 ng/mL pero solo en 12 de ellos, el 38.7% de este sub-grupo, se pudo confirmar la H $\alpha$ T o, lo que es lo mismo, 20 sujetos con valores de triptasa basal igual o superior a 8 ng/mL no padecen H $\alpha$ T. No podemos saber con exactitud el porcentaje de sujetos con H $\alpha$ T sobre el total de la población a la que se le hizo el GWAS porque esta determinación solo se llevó a cabo en los 32 con niveles de triptasa sugestiva pero, al analizar el SNP que hemos identificado como sugestivo de H $\alpha$ T en el total de los casos, solo 2 pacientes adicionales lo presentaban. Si se considera como válida esta aproximación, la prevalencia de H $\alpha$ T en el total de la muestra sería de 4.8% que es la cifra que se baraja en la población general y en series de pacientes con alergia al veneno de himenópteros. Por tanto, y de acuerdo con los datos publicados, la H $\alpha$ T no sería más frecuente en la población de sujetos con anafilaxia por veneno de himenópteros respecto a la población general.

Tampoco hubo diferencia en el período de latencia de la reacción o en el uso de adrenalina, pero es conocido el escaso uso que se hace de este tratamiento durante la anafilaxia, a pesar de ser el tratamiento de elección [Antonicelli et al., 2002; Alrasbi & Sheikh, 2007; Simons et al., 2014; Kraft et al., 2020; Stoevesandt et al., 2020; Ruiz León et al., 2021; Vidal et al., 2021; Cardona et al., 2022; Muraro et al., 2022; Kačar et al., 2023]. Si se analizan estos resultados de otra forma, y fijándonos únicamente en los sujetos con triptasa mayor o igual de 8 ng/mL, podemos comprobar que la H $\alpha$ T no se identificó en pacientes que tenían niveles muy altos de triptasa basal. Por tanto, es la triptasa basal más alta la que se asocia a mayor gravedad de reacciones con independencia de la identificación o no de la H $\alpha$ T.

En resumen, nuestros resultados no permiten confirmar que la presencia de H $\alpha$ T se asocie a reacciones más graves como sí han encontrado otros autores [Glover et al.,

2021]. En dicho estudio, se señala que los individuos portadores de copias adicionales del gen TPSAB1 (diagnóstico de H $\alpha$ T) presentan una mayor probabilidad de desarrollar sintomatología más intensa, incluyendo anafilaxia. En una revisión reciente, se ha descrito que H $\alpha$ T puede actuar como factor modificador del riesgo de anafilaxia, intensificando la gravedad clínica en pacientes con otros trastornos mastocitarios o en respuesta a desencadenantes como veneno de himenópteros [Couto et al., 2023; Waters et al., 2022]. Este concepto de “factor modificador” es clínicamente relevante, ya que sugiere que la presencia de H $\alpha$ T podría no justificar por sí sola una reacción alérgica, pero sí potenciar su intensidad cuando se combina con otros factores predisponentes. Este matiz puede tener implicaciones importantes tanto en la toma de decisiones clínicas como en la interpretación del riesgo en pacientes con triptasa elevada sin una causa aparente.

Los resultados que aquí se presentan permiten, por tanto, sugerir que la prevalencia de H $\alpha$ T en la población de alérgicos a veneno de himenópteros que sufren reacciones sistémicas es similar a la población general. Por tanto, la H $\alpha$ T no parece predisponer a padecer alergia al veneno de los himenópteros.

En conjunto, estos hallazgos apoyan la hipótesis planteada en esta tesis y refuerzan la necesidad de realizar estudios genéticos amplios que no se limiten a los genes clásicos como TPSAB1, sino que incluyan también otros elementos del locus triptasa, como TPSG1 y polimorfismos como rs72775463 o el rs1223887 para comprender mejor la base genética de las reacciones anafilácticas graves y desarrollar herramientas predictivas eficaces. Por otra parte, el hecho de haber comprobado una relación entre el rs1223887 y la H $\alpha$ T permitiría su utilización como posible marcador de esta entidad, la H $\alpha$ T, que, hasta ahora solo era posible identificar o sugerir a través de un análisis que no se encuentra disponible en todos los centros de genómica y que son más complejos de realizar técnicamente de la identificación simple de una variante de un SNP concreto,

**Las reacciones alérgicas sistémicas frente al veneno de los himenópteros son más graves en pacientes de mayor edad, en varones y aquellos sometidos a tratamiento con fármacos IECAS y  $\beta$ -bloqueantes. Los pacientes que beben cantidades más altas de alcohol regularmente presentan, también, reacciones más graves. La mayoría de las reacciones ocurren en los primeros 15 minutos tras la picadura.**

Se observaron asociaciones relevantes con la edad, el sexo, ciertos tratamientos farmacológicos y el consumo de alcohol. Estos factores, si bien no fueron el eje principal del estudio, aportan información complementaria relevante en el contexto de la gravedad de las reacciones sistémicas por veneno de himenópteros. Cabe destacar que, si bien estas variables son de naturaleza clínica y epidemiológica, su interacción con los determinantes genéticos podría ser clave para entender el comportamiento heterogéneo de la enfermedad. De hecho, algunos estudios recientes han planteado modelos multifactoriales donde variables como la edad o la presencia de comorbilidad

no actúan de forma aislada, sino que modulan el riesgo en función del contexto genético del individuo. Este enfoque integrador podría explicar por qué algunas personas con factores clínicos de riesgo no desarrollan reacciones graves, mientras que otras sin antecedentes aparentes sí lo hacen.

Uno de los hallazgos consistentes fue que la edad avanzada se asoció con reacciones más graves, lo que está en línea con múltiples estudios que han documentado una mayor vulnerabilidad a anafilaxias graves en personas de edad avanzada, probablemente debido a la mayor carga de comorbilidades y una respuesta fisiológica menos eficaz [Brown et al., 2013; Turner et al., 2017; Stoevesandt et al., 2020]. Es importante destacar que, al contrario de lo que sucede con otras causas de anafilaxia, las debidas a la alergia a la picadura de los himenópteros se suele presentar en edades más altas que, por ejemplo, la alergia a los alimentos o a los medicamentos. No es extraño, por tanto, que en general son pacientes por encima de los 50 años pero, aún así, a medida que la edad avanza, también lo hace la gravedad de la reacción. Este hallazgo es clínicamente relevante, ya que permite identificar a un subgrupo de pacientes especialmente vulnerables que podrían beneficiarse de medidas preventivas más estrictas, como la indicación sistemática de adrenalina autoinyectable o un seguimiento más estrecho en unidades especializadas. Además, la edad podría no solo reflejar un factor de riesgo “per se”, sino también un indicador de fragilidad biológica general, lo que debería ser tenido en cuenta en futuros modelos predictivos.

En cuanto al sexo, se constató una mayor gravedad de las reacciones en hombres, lo que coincide con estudios previos que han identificado una mayor frecuencia de anafilaxia grave en varones, incluso después de ajustar por factores de exposición [Ruëff et al., 2009b; Jerschow et al., 2014; Stoevesandt et al., 2020]. Algunos autores argumentan que esta diferencia podría reflejar tanto un mayor riesgo biológico como una mayor exposición ocupacional en hombres a los himenópteros. Además, se ha planteado que las diferencias hormonales podrían jugar un papel en la modulación de la respuesta inmune y mastocitaria, lo que explicaría un patrón diferencial en la expresión clínica entre sexos. Esta hipótesis abre una vía interesante de investigación futura, centrada en el papel de las hormonas sexuales, tanto endógenas como exógenas, en la regulación de la reactividad mastocitaria y su relación con la gravedad de las reacciones anafilácticas.

La presencia de comorbilidades cardiovasculares o respiratorias no se asoció, en esta investigación, con una mayor gravedad de las reacciones, si bien en otros estudios sí se había confirmado que los pacientes con patología cardiovascular tienen más probabilidad de experimentar síntomas cardiovasculares durante la anafilaxia, como hipotensión o shock [Motosue et al., 2017; A. Muraro et al., 2018; Worm et al., 2018]. Sin embargo, otros trabajos recientes matizan esta relación y no encuentran una asociación directa entre comorbilidad y gravedad, especialmente cuando se ajusta por la medicación concomitante [Stoevesandt et al., 2020; Gunter J. Sturm et al., 2024]. Esto sí parece guardar relación con la gravedad potencial de la reacción en el presente estudio. En esta línea, el presente estudio también abordó el papel de ciertos

tratamientos farmacológicos, especialmente los betabloqueantes y los IECA, que han sido implicados como posibles factores agravantes en la literatura por su potencial para interferir con el tratamiento de la anafilaxia y facilitar la liberación de mediadores mastocitarios [Nassiri et al., 2015; Worm et al., 2018]. Un motivo frecuente de discusión es si el empleo de esta medicación realmente agrava la reacción o si, simplemente, una vez establecida, dificulta la respuesta al tratamiento. Dar una respuesta a esta cuestión no resulta fácil pues implicaría una aproximación doble ciego comparada con placebo en la que algunos sujetos recibirían adrenalina y otros no, lo que sería éticamente reprobable. Es posible que el paciente con una reacción grave reciba adrenalina antes o que, por el contrario, al estar en tratamiento con uno de estos fármacos, el médico se inhiba de su administración por temor a los efectos cardiovasculares de la adrenalina y resulte difícil discernir si la gravedad resulta de la reacción en sí misma o de no haber administrado el tratamiento en tiempo y forma. Por tanto, en relación con las comorbilidades cardiovasculares y el uso de medicación antihipertensiva, los resultados deben interpretarse con cautela. Si bien es plausible que estas condiciones agraven la respuesta clínica por una mayor vulnerabilidad hemodinámica, también podrían actuar como factores de confusión o estar reflejando una mayor carga de enfermedad en pacientes con riesgo basal elevado [Worm et al., 2018; Sturm et al., 2021; Sturm et al., 2024].

En esta serie, los pacientes que consumen habitualmente alcohol presentan una mayor gravedad de la reacción alérgica tras la picadura de los himenópteros. Este resultado concuerda con la idea de que el consumo de alcohol puede potenciar la gravedad de las reacciones alérgicas al actuar como un cofactor que amplifica la respuesta inmune. La mayoría de los estudios se han centrado, no obstante, en la alergia alimentaria comprobando un aumento de la permeabilidad gastrointestinal que facilita la absorción de alérgenos y puede inducir la liberación de histamina, exacerbando síntomas alérgicos como urticaria o anafilaxia [Boehncke & Zollner, 2004]. Además, factores genéticos que afectan el metabolismo del etanol y el acetaldehído pueden predisponer a reacciones de hipersensibilidad al alcohol, lo que sugiere una interacción compleja entre el consumo de alcohol y las reacciones alérgicas [Linneberg et al., 2010].

Finalmente, otro factor secundario de interés fue el tiempo de inicio de los síntomas tras la picadura, donde se observó que los pacientes que desarrollaban síntomas en menos de 15 minutos presentaban mayor gravedad, un aspecto ya descrito como predictor de anafilaxia grave en otras cohortes [Stoevesandt et al., 2012; Stoevesandt et al., 2020]. El hecho de que este factor esté asociado de forma tan consistente con la gravedad, incluso por encima de otras variables más complejas, refuerza su valor como herramienta pronóstica.

## **Los pacientes con reacciones más graves tienen niveles basales de triptasa que son más altos que los que presentan reacciones de menor gravedad.**

Dentro de los factores estudiados, la elevación de triptasa basal se consolidó como un marcador asociado a reacciones más graves de una forma significativa aún con niveles bajos en situación basal. Este resultado es coherente con la literatura previa, donde se ha observado una asociación entre niveles elevados de triptasa y mayor riesgo de anafilaxia, especialmente en el contexto de picaduras de himenópteros [Couto et al., 2023; O'Connell & Lyons, 2020; Sprinzl et al., 2021].

El hallazgo de que la elevación de triptasa basal se asocie a mayor gravedad clínica se puede explicar por el hecho de que la triptasa es un mediador clave liberado por los mastocitos durante la degranulación. En el caso de la mastocitosis, esta elevación refleja una proliferación clonal de mastocitos maduros [Álvarez-Twose et al., 2014; Valent, et al., 2019]. En H $\alpha$ T, sin embargo, la triptasa elevada se debe al aumento de copias del gen TPSAB1, lo que conlleva un aumento de la formación de heterotetrameros  $\alpha/\beta$ -triptasa. Estos complejos tienen la capacidad de activar receptores como EMR2 y PAR-2, implicados en una mayor permeabilidad vascular y contracción del músculo liso, lo que puede explicar la mayor susceptibilidad a anafilaxia grave [Lyons et al., 2016; Sprinzl et al., 2021; Couto et al., 2023]. Los resultados aquí presentes apoyan el papel de la triptasa en la gravedad de la reacción pero de forma independiente al padecimiento de mastocitosis, que no se diagnosticó en ningún paciente, o de H $\alpha$ T, que no confirió un riesgo mayor de presentar una anafilaxia más grave entre los sujetos que parten, de situación basal, con cifras más altas de triptasa.

El análisis de la triptasa basal no se puede separar de la puntuación REMA que fue calculada en la mayoría de los pacientes. Como ya se ha comentado, la puntuación REMA incluye el sexo del paciente, la presencia o no de lesiones cutáneas y el valor de la triptasa basal como parámetros fundamentales para sopesar el riesgo de padecer un síndrome de activación mastocitaria [Álvarez-Towse et al., 2014]. Se ha establecido que un punto de corte igual o superior a 2 sugiere este diagnóstico y obliga a realizar exploraciones complementarias adicionales. Resulta curioso que el valor de triptasa que da una puntuación positiva en esta escala es 25 ng/mL, cifra muy alta si se compara con los valores mediana de triptasa que se registraron en los 3 grupos de gravedad. Ningún paciente, en esta serie, tuvo un valor de triptasa basal de 25 ng/mL o más y tan solo 15 pacientes tuvieron un REMA igual o superior a 2. Todos los pacientes con esta puntuación REMA habían padecido reacciones anafilácticas de grado 2 y 3 y, concretamente, el 86.7% de ellos presentaron una reacción de grado 3. Todos estos pacientes fueron analizados para la presencia de c-KIT en sangre periférica y todos fueron remitidos al servicio de hematología en donde se procedió a un estudio con biopsia de la médula ósea. Ninguno de estos pacientes tuvo un c-KIT positivo y ninguno cumplió criterios de mastocitosis en la biopsia de médula ósea practicada. El estudio del c-KIT se amplió, además, en los sujetos estudiados para la H $\alpha$ T y el resultado fue, igualmente, negativo.

**El uso de adrenalina se relaciona directamente con la gravedad de forma que fue administrada en el 58.9% de las reacciones de grado 3 frente al 25.1 y 19.2% de las reacciones de grado 2 y 1, respectivamente.**

Según el recientemente publicado Registro Europeo de Anafilaxia, y a pesar de las claras recomendaciones al respecto, sólo uno de cada 4 pacientes con anafilaxia grave tratados por un profesional sanitario recibe adrenalina (menos del 27,1% en un total de 10184 acontecimientos anafilácticos analizados) [Grabhenrich et al., 2018]. Varios factores parecen contribuir a esta infrautilización, entre ellos la etiología de la reacción, siendo menos frecuente la administración de adrenalina en los casos desencadenados por picaduras de himenópteros en comparación con las reacciones inducidas por alimentos o fármacos [Grabhenrich et al., 2018], si bien, los pacientes con anafilaxia por veneno de himenópteros son los que reciben con más frecuencia una prescripción de un autoinyector de adrenalina para su tratamiento en caso de nueva exposición [Kraft et al., 2020]. Además, la clasificación exacta de la gravedad de la reacción desempeña un papel crucial; en aquellos casos en los que se subestima la gravedad, podría ocurrir que el paciente recibiera un tratamiento menos agresivo y que no fuese acorde con la posterior clasificación de gravedad de la reacción. Sólo una interpretación incorrecta de la gravedad podría explicar la infrautilización de adrenalina. Por lo tanto, es posible que la presentación clínica de algunas reacciones no fuera considerada como grave por el médico de urgencias, aunque así lo sugiriera el sistema de clasificación [Grabhenrich et al., 2018]. Esto es especialmente preocupante, dado que la anafilaxia puede evolucionar rápidamente hacia una parada cardíaca o respiratoria si no se trata con prontitud [Simons et al., 2014]. Los valores obtenidos en el presente estudio son, por tanto, superiores a las de los registros oficiales para los pacientes con reacciones más graves pero similar para los casos de gravedad 1 y 2. Recientemente, el equipo de Santiago de Compostela liderado por Vidal, ha publicado los resultados del efecto de la implementación del llamado Código de Anafilaxia en la atención a los pacientes con anafilaxia por veneno de los himenópteros, estudiando entre otros el uso de adrenalina y comprobando que en poco más del 50% de los pacientes se administra este tratamiento, sin diferencias respecto a la implantación o no del referido código [Mai et al., 2025]. Los resultados del presente estudio, realizado sobre un número más elevado de pacientes y con información recogida del uso de adrenalina anterior al establecimiento del código, siguen confirmando una infrautilización de este fármaco pero con figuras muy superiores a las de los registros oficiales.

**Los pacientes que sufren picaduras por *Vespa velutina* presentan reacciones más graves que los picados por *Vespula spp* o por *Apis mellifera*.**

La llegada y posterior establecimiento de *Vespa velutina* en nuestra Comunidad Autónoma se siguió de un incremento progresivo de picaduras asociadas a este himenóptero. El primer estudio publicado analizando los 100 primeros pacientes

remitido por esta patología tras la llegada de *Vespa velutina*, ya había demostrado el impacto en términos de prevalencia, alcanzando el 77% de los casos en aquella serie [Vidal et al., 2019]. Sin embargo, no habíamos observado un aumento en la gravedad de las reacciones que sí se ha detectado en la serie que se presenta en el presente estudio. Los resultados obtenidos sí implican a *Vespa velutina* como responsable de reacciones más graves en el presente estudio. Se ha especulado sobre la posibilidad de que al tratarse de un himenóptero de mayor tamaño, podría contener un mayor volumen de veneno en su saco y que la picadura conllevara una mayor cantidad de alérgeno. Las reacciones de alergia, aunque son independientes de la dosis, en el sentido de que una dosis pequeña puede desencadenar una reacción, sí es cierto que, a mayor cantidad de exposición al alérgeno, la intensidad de los síntomas, puede ser mayor. Sea como fuere, en el presente estudio, sí parece que la reacción reviste mayor gravedad cuando el himenóptero implicado es *Vespa velutina* respecto a *Vespula* spp y a *Apis mellifera*.

## 6.2. Limitaciones, fortalezas y líneas futuras de investigación

### Limitaciones generales del estudio

Como en cualquier investigación clínica, este estudio presenta una serie de limitaciones que deben ser tenidas en cuenta a la hora de interpretar los resultados.

Una de las principales limitaciones es el tamaño muestral, que, si bien fue suficiente para detectar asociaciones GWAS estadísticamente significativas en las variables principales, podría no haber tenido la potencia necesaria para identificar efectos más sutiles en las variables secundarias o para realizar análisis estratificados más robustos (por ejemplo, según el número de copias del gen TPSAB1 o distintos subgrupos de mastocitosis). Esta situación es común en estudios centrados en patologías poco prevalentes, como la mastocitosis sistémica o la HxT, en los que la baja frecuencia de casos dificulta la obtención de cohortes extensas y representativas [Couto et al., 2023; Sordi et al., 2023]. Además, el carácter retrospectivo de la recogida de datos de la reacción padecida, aunque realizado de forma rigurosa, introduce limitaciones inherentes a la disponibilidad y calidad de la información clínica y genética registrada en la historia médica de los pacientes.

### Problemas de confusión

Un aspecto relevante a tener en cuenta es la posible presencia de variables confusoras. El fenómeno de la confusión puede distorsionar la relación causal entre una exposición y un efecto clínico debido a la influencia de una tercera variable que está asociada tanto con la exposición como con el desenlace. En este estudio, variables como la edad, el sexo o la presencia de comorbilidades podrían haber actuado como factores de confusión en el análisis de la gravedad de las reacciones alérgicas. Por ejemplo, el uso de fármacos como betabloqueantes o IECA podría no actuar como un factor

independiente, sino estar mediado por la existencia de patología cardiovascular de base. Aunque se han aplicado estrategias para mitigar esta posibilidad, como la estratificación por grupos clínicos y el análisis multivariado, no puede descartarse completamente el efecto de confusión residual.

### **Sesgos de selección**

El estudio también puede estar afectado por sesgos de selección, derivados del proceso de inclusión de los pacientes. La muestra procede de una única área sanitaria y está compuesta por pacientes que fueron derivados a una unidad especializada de alergia lo que podría limitar la representatividad de la muestra respecto a la población. Esta vía de captación puede haber favorecido la inclusión de casos más complejos o graves, mientras que pacientes con formas más leves de anafilaxia o aquellos no diagnosticados podrían haber quedado excluidos. Este sesgo puede haber conducido a una sobreestimación de la prevalencia de la elevación de la triptasa basal en la población estudiada, afectando así a la generalización de los resultados a la población general; sin embargo, el bajo número de pacientes con niveles altos de triptasa o los valores de prevalencia recogidos de H $\alpha$ T son similares a los publicados para la población general.

### **Sesgos de medición (clasificación)**

En cuanto a los sesgos de medición o clasificación, cabe señalar que el diagnóstico de entidades como la mastocitosis sistémica, la H $\alpha$ T o el síndrome de activación mastocitaria (MCAS) puede variar según el protocolo diagnóstico utilizado, la disponibilidad de pruebas específicas y la experiencia del clínico. Además, algunas determinaciones de triptasa basal podrían haberse visto afectadas por factores externos como el momento de la extracción, la existencia de procesos inflamatorios intercurrentes o el índice de masa corporal, variables que no siempre pudieron ser controladas en su totalidad [Fenger et al., 2012; Glover et al., 2021].

### **Sesgos de especificación**

Suelen denominarse de esta manera a los errores sistemáticos por el uso de herramientas estadísticas inadecuadas. La estadística del presente estudio ha sido simple y poco expuesta a este tipo de problemas para las variables clínicas y epidemiológicas. En relación al análisis estadístico de las variables genéticas se estableció un umbral de significación de  $p < 5 \times 10^{-8}$ , el umbral estándar en estudios GWAS para ajustar por múltiples comparaciones y reducir la probabilidad de falsos positivos lo que garantiza una buena dimensión para detectar efectos genéticos a pesar de las limitaciones inherentes a un estudio GWAS con una enfermedad de base compleja como es la anafilaxia inducida por picaduras de himenópteros. La asociación relevante encontrada para el polimorfismo rs72775463 se refuerza con el análisis de expresión realizado y la identificación del gen TPSG1 relacionado con esta patología.

### **Limitaciones a la validez externa**

La validez externa del estudio también debe valorarse con cautela. Los resultados obtenidos reflejan una cohorte concreta de pacientes atendidos en un entorno especializado dentro del sistema sanitario español, lo que puede no ser extrapolable a otras poblaciones o entornos clínicos con diferente prevalencia de enfermedades mastocitarias, acceso a diagnóstico genético o estrategias de manejo de la anafilaxia. Del mismo modo, la frecuencia de H $\alpha$ T o la presencia de determinadas variantes genéticas podría variar en función del origen étnico como en el caso de la raza negra en la que esta alteración está ausente o geográfico de las poblaciones estudiadas, lo que limita la generalización directa de los hallazgos sin estudios de replicación externos.

### **Fortalezas del estudio**

A pesar de las limitaciones descritas, este estudio presenta varias fortalezas destacables. En primer lugar, ofrece un análisis integral que combina datos clínicos, bioquímicos y genéticos en una cohorte bien caracterizada de pacientes con reacciones sistémicas a himenópteros. La aplicación de criterios diagnósticos consensuados y el uso de técnicas moleculares para el análisis de TPSAB1 aportan solidez metodológica. Además, el hallazgo del polimorfismo rs72775463 como posible marcador genético asociado a la gravedad de las reacciones representa una contribución original que podría tener implicaciones relevantes en el desarrollo de estrategias predictivas en el futuro. Finalmente, el estudio se alinea con las tendencias actuales de medicina personalizada y contribuye a mejorar el conocimiento de la base genética y clínica de la anafilaxia inducida por veneno de himenópteros.

### **Líneas futuras de investigación**

A partir de los hallazgos obtenidos en este estudio, se abren diversas líneas futuras de investigación que podrían contribuir a una comprensión más profunda y precisa de los factores que modulan la gravedad de las reacciones sistémicas alérgicas por veneno de himenópteros.

En primer lugar, sería deseable ampliar la muestra en futuros trabajos, incluyendo una cohorte multicéntrica y más diversa geográficamente, lo cual permitiría mejorar la validez externa de los resultados y detectar asociaciones más finas entre variables genéticas, clínicas y epidemiológicas. La colaboración entre centros permitiría además incrementar la detección de casos poco frecuentes, como pacientes con mastocitosis sistémica sin afectación cutánea o con H $\alpha$ T diagnosticada genéticamente. Otro aspecto relevante sería fomentar que otros grupos de investigación, tanto a nivel nacional como internacional, lleven a cabo estudios GWAS en distintas poblaciones y, posteriormente, se realice un metaanálisis conjunto de los resultados obtenidos en los diferentes estudios genéticos publicados.

Otra línea interesante sería profundizar en el estudio genético funcional de la H $\alpha$ T, incluyendo el análisis del número de copias de TPSAB1 y su correlación con los niveles de triptasa y la expresión clínica. Estudios recientes sugieren una relación dosis-efecto entre el número de alelos  $\alpha$  y la sintomatología [Glover et al., 2021; Sprinzi et al., 2021], por lo que una evaluación más detallada podría permitir estratificar mejor el riesgo y diseñar algoritmos diagnósticos más personalizados.

Además, se debería valorar la influencia de factores epigenéticos o ambientales que pudieran modular la expresión fenotípica de alteraciones genéticas como H $\alpha$ T. La interacción entre predisposición genética y exposición alérgeno-ambiental todavía no está completamente esclarecida y podría explicar la variabilidad clínica observada en individuos con la misma alteración molecular.

También sería de gran interés desarrollar una herramienta clínica o estadística capaz de estimar el riesgo individual de sufrir una anafilaxia grave por veneno de himenópteros. Esta herramienta debería integrar múltiples variables relevantes, incluyendo factores genéticos (como la presencia de H $\alpha$ T o mutaciones en el gen c-KIT), biomarcadores séricos (como la triptasa basal), datos clínicos (como antecedentes de reacciones previas) y variables epidemiológicas (edad, sexo, comorbilidades, tratamientos concomitantes, etc.). El objetivo sería facilitar una estratificación precisa del riesgo en pacientes sensibilizados a himenópteros, permitiendo adaptar las decisiones clínicas de forma más personalizada. Esta propuesta se alinea con modelos como la puntuación REMA [Álvarez-Twose et al., 2010], aunque incorporando factores genéticos que podrían mejorar su capacidad predictiva. Contar con una herramienta de este tipo permitiría identificar de manera anticipada a los pacientes con mayor riesgo, optimizar su seguimiento y tratamiento, y reducir tanto la morbimortalidad como la incertidumbre diagnóstica.

Finalmente, una línea de investigación con gran impacto clínico sería el estudio de la respuesta a la inmunoterapia con veneno en pacientes con H $\alpha$ T, MCAS o mastocitosis, dado que los estudios actuales sobre duración y eficacia del tratamiento en estos subgrupos son aún limitados y contradictorios [Couto et al., 2023; Gulen, 2024]. Esto permitiría optimizar el tratamiento y seguimiento de estos pacientes, evitando tanto infratratamientos como exposiciones innecesarias.

## CONCLUSIONES



1. El estudio de asociación de genoma completo (GWAS) realizado en pacientes con reacciones sistémicas por alergia al veneno de himenópteros permitió identificar un SNP sugestivo de hiperalfatriptasemia familiar (H $\alpha$ T), localizado en el cromosoma 16 (rs72775463), en aquellos con anafilaxia de grados 2 y 3 y niveles de triptasa basal  $\geq 8$  ng/mL.
2. En el 38,7% de los pacientes con anafilaxia y niveles de triptasa basal de, al menos 8ng/mL, se confirmó la presencia de H $\alpha$ T, encontrándose una correlación significativa entre esta alteración genética y el SNP identificado.
3. Las reacciones alérgicas sistémicas fueron más graves en pacientes de mayor edad, varones, y en aquellos en tratamiento con inhibidores de la ECA o  $\beta$ -bloqueantes. También se observó una mayor gravedad en pacientes con consumo habitual elevado de alcohol.
4. La mayoría de las reacciones ocurrieron en los primeros 15 minutos tras la picadura, y los pacientes con mayor gravedad presentaron niveles basales de triptasa significativamente más altos que aquellos con reacciones leves.
5. El uso de adrenalina se asoció directamente con la gravedad del episodio, administrándose en el 58,9% de las reacciones de grado 3, frente al 25,1% y 1,2% en los grados 2 y 1, respectivamente.
6. Las picaduras por *Vespa velutina* se relacionaron con reacciones más severas que las causadas por *Vespula spp.* o *Apis mellifera*, destacando su impacto clínico en esta población.



## BIBLIOGRAFÍA



Akin C, Valent P, Metcalfe DD. Mast cell activation syndrome: Proposed diagnostic criteria. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:1099-1104.

Alrasbi M, Sheikh A. Comparison of international guidelines for the emergency medical management of anaphylaxis. *Allergy* 2007;62:838–841.

Álvarez-Twose I, González de Olano D, Sánchez-Muñoz L et al. Clinical, biological, and molecular characteristics of clonal mast cell disorders presenting with systemic mast cell activation symptoms. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:1269-1278.

Alvarez-Twose I, González-de-Olano D, Sánchez-Muñoz L et al. Validation of the REMA score for predicting mast cell clonality and systemic mastocytosis in patients with systemic mast cell activation symptoms. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;157:275–280.

Álvarez-Twose I, Matito A, Sánchez-Muñoz L et al. Contribution of highly sensitive diagnostic methods to the diagnosis of systemic mastocytosis in the absence of skin lesions. *Allergy* 2012;67:1190–1191.

Álvarez-Twose I, Zanotti R, González-de-Olano D et al. Nonaggressive systemic mastocytosis (SM) without skin lesions associated with insect-induced anaphylaxis shows unique features versus other indolent SM. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133:520-528.

Annala IT, Karjalainen ES, Annala PA, Kuusisto PA. Bee and wasp sting reactions in current beekeepers. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1996;77:423–427.

Antonicelli L, Bilò MB, Bonifazi F. Epidemiology of hymenoptera allergy. *Allergy Clin Immunol* 2002;2:341–346.

Arock M, Valent P. Pathogenesis, classification and treatment of mastocytosis: state of the art in 2010 and future perspectives. *Expert Rev Hematol* 2010;3:497–516.

Barbet-Massin M, Salles JM, Courchamp F. The economic cost of control of the invasive yellow-legged Asian hornet. *NeoBiota* 2020;55:11–25.

Beyer K, Eckermann O, Hompes S, Grabenhenrich L, Worm M. Anaphylaxis in an emergency setting – elicitors, therapy and incidence of severe allergic reactions. *Allergy* 2012;67:1451–1456.

Biló BM, Rueff F, Mosbech H, Bonifazi F, Oude-Elberink JNG, EAACI Interest Group on insect venom hypersensitivity. Diagnosis of hymenoptera venom allergy. *Allergy* 2005;60:1339–1349.

Boehncke, W. H., & Zollner, T. M. Alcohol and urticaria. *Allergy* 2004; 59:327–328.

Borer-Reinhold M, Haeberli G, Bitzenhofer M et al. An increase in serum tryptase even below 11.4 ng/mL may indicate a mast cell-mediated hypersensitivity reaction: a prospective study in Hymenoptera venom allergic patients. *Clin Exp Allergy* 2011;41:1777–1783.

Brockow K, Jofer C, Behrendt H, Ring J. Anaphylaxis in patients with mastocytosis: a study on history, clinical features and risk factors in 120 patients. *Allergy* 2008;63:226–232.

Brouet JC. Anaphylaxis and systemic mastocytosis. *J Clin Pathol* 1979;32:854–854.

Brown SGA, Blackman KE, Heddle RJ. Can serum mast cell tryptase help diagnose anaphylaxis? *Emerg Med Australas* 2004;16:120–124.

Brown SGA, Stone SF, Fatovich DM et al. Anaphylaxis: Clinical patterns, mediator release, and severity. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132:1141-1149.

Cardona Dahl V, Chivato Pérez T, Diéguez Pastor MC, et al. Guía de actuación en anafilaxia: GALAXIA 2022. Esmón Publicidad, S.A. 2022.

Castells M. Diagnosis and management of anaphylaxis in precision medicine. *J Allergy Clin Immunol* 2017;140:321–333.

Castells M. Mast Cell Mediators in Allergic Inflammation and mastocytosis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2006;26:465–485.

Castells M, Austen KF. Mastocytosis: mediator-related signs and symptoms. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;127:147–152.

Charpin D, Birnbaum J, Vervloet D. Epidemiology of hymenoptera allergy. *Clin Exp Allergy* 1994;24:1010–1015.

Cookson W, Moffatt M. Making sense of asthma genes. *N Engl J Med* 2004;351:1794–1796.

Couto ML, Silva M, Barbosa MJ et al. Defining hereditary alpha-tryptasemia as a risk/modifying factor for anaphylaxis: are we there yet? *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2023;55:152.

Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Roitt Inmunología: Fundamentos. Panamericana 2013;12:402–404.

Dhami S, Panesar SS, Roberts G et al. Management of anaphylaxis: a systematic review. *Allergy* 2014;69:168–175.

Dráber P, Sulimenko V, Dráberová E. Cytoskeleton in mast cell signaling. *Front Immunol* 2012;3:130.

Dupont WD, Plummer WD. Power and sample size calculations. *Control Clin Trials* 1990;11:116–128.

Elm E von, Altman DG, Egger M et al. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *BMJ* 2007;335:806–808.

Escribano L, Akin C, Castells M, Orfao A, Metcalfe DD. Mastocytosis: current concepts in diagnosis and treatment. *Ann Hematol* 2002;81:677–690.

Escribano L, Orfao A, Villarrubia J, et al. Immunophenotypic characterization of human bone marrow mast cells. A flow cytometric study of normal and pathological bone marrow samples. *Anal Cell Pathol* 1998;16:151–159.

Feás X, Vidal C, Remesar S. What We Know about sting-related deaths? Human fatalities caused by hornet, wasp and bee stings in Europe (1994–2016). *Biology (Basel)* 2022;11:282.

Fenger RV, Linneberg A, Vidal C et al. Determinants of serum tryptase in a general population: The relationship of serum tryptase to obesity and asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;157:151–158.

Fernandez J, Soriano V, Mayorga L, Mayor M. Natural history of hymenoptera venom allergy in eastern Spain. *Clin Exp Allergy* 2005;35:179–185.

Fernández J, Blanca M, Soriano V, Sánchez J, Juárez C. Epidemiological study of the prevalence of allergic reactions to hymenoptera in a rural population in the mediterranean area. *Clin Exp Allergy* 1999;29:1069–1074.

Galatá G, García-Montero AC, Kristensen T et al. Genome-wide association study identifies novel susceptibility loci for KIT D816V positive mastocytosis. *Am J Hum Genet* 2021;108:284–294.

Glover SC, Carter MC, Korošec P et al. Clinical relevance of inherited genetic differences in human tryptases. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2021;127:638–647.

Golden DBK. Insect sting allergy and venom immunotherapy: a model and a mystery. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:439–447.

Gonzalez-Quintela A, Vizcaino L, Gude F et al. Factors influencing serum total tryptase concentrations in a general adult population. *Clin Chem Lab Med* 2010;48:701–706.

González de Olano D, Álvarez-Twose I, Castells MC et al. Síndromes de activación mastocitaria. *Tratado de Alergología* tomo IV. Madrid: Ergon 2016;2:1315–1326.

González de Olano D, De La Hoz B, Núñez López R et al. Prevalence of allergy and anaphylactic symptoms in 210 adult and pediatric patients with mastocytosis in Spain: a study of the Spanish network on mastocytosis (REMA). *Clin Exp Allergy* 2007;37:1547–1555.

Grabhenrich LB, Dölle S, Ruëff F et al. Epinephrine in severe allergic reactions: The european anaphylaxis register. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2018;6:1898-1906.

Gülen T, Akin C, Bonadonna P et al. Selecting the right criteria and proper classification to diagnose mast cell activation syndromes: A Critical Review. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2021;9:3918–3928.

Gülen T. Using the right criteria for MCAS. *Curr Allergy Asthma Rep* 2024;24:39–51.

Hernández-Hernández L, Sanz C, Marcos-Vadillo E et al. Increased TPSAB1 copy number in a family with elevated basal serum levels of tryptase. *Front Med (Lausanne)* 2021;8.

Herrera C, Leza M, Martínez-López E. Diversity of compounds in *Vespa* spp. venom and the epidemiology of its sting: a global appraisal. *Arch Toxicol* 2020;94:3609–3627.

Howard TD, Meyers DA, Bleecker ER. Mapping susceptibility genes for allergic diseases. *Chest* 2003;123:363S-368S.

Jerschow E, Lin RY, Scaperotti MM, McGinn AP. Fatal anaphylaxis in the United States, 1999-2010: Temporal patterns and demographic associations. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134:1318-1328.

Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J et al. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy* 2001;56:813–824.

Kačar M, Rijavec M, Šelb J, Korošec P. Clonal mast cell disorders and hereditary  $\alpha$ -tryptasemia as risk factors for anaphylaxis. *Clin Exp Allergy* 2023;53:392–404.

Khoury JD, Solary E, Ablu O et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of haematolymphoid tumours: Myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms. *Leukemia* 2022;36:1703–1719.

Kounis NG. Coronary hypersensitivity disorder: The Kounis syndrome. *Clin Ther* 2013;35:563–571.

Kounis NG, Zavras GM. Histamine-induced coronary artery spasm: the concept of allergic angina. *Br J Clin Pract* 1991;45:121–128.

Kraft M, Knop MP, Renaudin JM et al. Secondary prevention measures in anaphylaxis patients: Data from the anaphylaxis registry. *Allergy* 2020;75:901–910.

Lee S, Hess EP, Nestler DM et al. Antihypertensive medication use is associated with increased organ system involvement and hospitalization in emergency department patients with anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:1103–1108.

Linneberg, A., et al. Genetic determinants of both ethanol and acetaldehyde metabolism influence alcohol hypersensitivity and drinking behaviour among Scandinavians. *Clin Exp Allergy* 2010;40:123–130.

Lobbes H, Reynaud Q, Mainbourg S et al. Tryptase: A practical guide for the physician. *Rev Med Interne* 2020;41:748–755.

Lyons JJ, Stotz SC, Chovanec J et al. A common haplotype containing functional CACNA1H variants is frequently coinherited with increased TPSAB1 copy number. *Genet Med* 2018;20:503–512.

Lyons JJ, Yu X, Hughes JD et al. Elevated basal serum tryptase identifies a multisystem disorder associated with increased TPSAB1 copy number. *Nat Genet* 2016;48:1564–1569.

Mauriello PM, Barde SH, Georgitis JW, Reisman RE. Natural history of large local reactions from stinging insects. *J Allergy Clin Immunol* 1984;74:494–498.

Michalska-Krzanowska G. Tryptase in diagnosing adverse suspected anaphylactic reaction. *Adv Clin Exp Med* 2012;21:403–408.

Monceau K, Arca M, Leprêtre L et al. Native prey and invasive predator patterns of foraging activity: The case of the yellow-legged hornet predation at European honeybee hives. *PLoS One* 2013;8:66492.

Monceau K, Bonnard O, Thiéry D. *Vespa velutina*: a new invasive predator of honeybees in Europe. *J Pest Sci* 2014;87:1–16.

Motosue MS, Bellolio MF, Van Houten HK et al. Risk factors for severe anaphylaxis in the United States. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2017;119:356–361.

Moullins RJ, Wainstein BK, Barnes EH, Liew WK, Campbell DE. Increases in anaphylaxis fatalities in Australia from 1997 to 2013. *Clin Exp Allergy* 2016;46:1099–1110.

Mueller HL. Diagnosis and treatment of insect sensitivity. *J Asthma Res* 1966;3:331–333.

Mueller UR. Cardiovascular disease and anaphylaxis. *Allergy Clin Immunol* 2007;7:337–341.

Muraro A, Fernandez-Rivas M, Beyer K et al. The urgent need for a harmonized severity scoring system for acute allergic reactions. *Allergy* 2018;73:1792–1800.

Muraro A, Roberts G, Clark A et al. The management of anaphylaxis in childhood: position paper of the European academy of allergology and clinical immunology. *Allergy* 2007;62:857–871.

Muraro A, Worm M, Alviani C et al. EAACI guidelines: Anaphylaxis (2021 update). *Allergy* 2022;77:357–377.

Nassiri M, Babina M, Dölle S et al. Ramipril and metoprolol intake aggravate human and murine anaphylaxis: Evidence for direct mast cell priming. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:491–499.

O’Connell MP, Lyons JJ. Hymenoptera venom-induced anaphylaxis and hereditary alpha-tryptasemia. *Allergy Clin Immunol* 2020;20:431–437.

Pérez Pimiento AJ. Diagnóstico diferencial. En: *Fundamentos de alergia e inmunología clínica*. Editorial McGraw Hill 2020:505-506.

Pérez Pimiento AJ. Parásitos, picaduras y venenos. En: *Fundamentos de alergia e inmunología clínica*. Editorial McGraw Hill 2020:406-408.

Picard M, Giavina-Bianchi P, Mezzano V, Castells M. Expanding spectrum of mast cell activation disorders: Monoclonal and idiopathic mast cell activation syndromes. *Clin Ther* 2013;35:548–562.

Potier A, Lavigne C, Chappard D et al. Cutaneous manifestations in hymenoptera and diptera anaphylaxis: relationship with basal serum tryptase. *Clin Exp Allergy* 2009;39:717–725.

Rivera J, Gilfillan A. Molecular regulation of mast cell activation. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:1214–1225.

Robey RC, Wilcock A, Bonin H et al. Hereditary alpha-tryptasemia: UK Prevalence and variability in disease expression. *J Allergy Clin Immunol* 2020;8:3549–3556.

Rojas-Nossa SV, Gil N, Mato S, Garrido J. *Vespa velutina*: traits and impacts of a successful invasive alien species. *Ecosistemas* 2021;30:1–10.

Rolea C, Viejo JL. Preliminary environmental data on the Asian hornet (*Vespa velutina* Lepeletier, 1836) (Hymenoptera, Vespidae) in Asturias, Spain. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural* 2020; 114: 19-35

Ruëff F, Przybilla B, Biló MB et al. Predictors of severe systemic anaphylactic reactions in patients with Hymenoptera venom allergy: Importance of baseline serum tryptase—a study of the

European Academy of Allergology and Clinical Immunology Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:1047–1054.

Ruiz B, Alfaya T. Alergia a himenópteros. Recomendaciones y algoritmos de práctica clínica de la sociedad española de alergología e inmunología clínica. Actualización. 2021.

Schiener M, Graessel A, Ollert M, Schmidt-Weber CB, Blank S. Allergen-specific immunotherapy of hymenoptera venom allergy – also a matter of diagnosis. *Hum Vaccin Immunother* 2017;13:2467–2481.

Schwartz LB. Diagnostic Value of tryptase in anaphylaxis and mastocytosis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2006;26:451–463.

Simon MR, Mulla ZD. A population-based epidemiologic analysis of deaths from anaphylaxis in Florida. *Allergy* 2008;63:1077–1083.

Simons FE, Arduoso LR, Biló MB et al. International consensus on anaphylaxis (ICON). *World Allergy Organ J* 2014;7:9.

Song TT, Worm M, Lieberman P. Anaphylaxis treatment: current barriers to adrenaline auto-injector use. *Allergy* 2014;69:983–991.

Sordi B, Vanderwert F, Crupi F et al. Disease correlates and clinical relevance of hereditary  $\alpha$ -tryptasemia in patients with systemic mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol* 2023;151:485-493.

Sperr WR, Jordan JH, Baghestanian M, et al. Expression of mast cell tryptase by myeloblasts in a group of patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2001;98:2200–2209.

Sprinzi B, Greiner G, Uyanik G et al. Genetic regulation of tryptase production and clinical impact: Hereditary alpha tryptasemia, mastocytosis and beyond. *Int J Mol Sci* 2021;22:2458.

Stoevesandt J, Hain J, Kerstan A, Trautmann A. Over- and underestimated parameters in severe hymenoptera venom-induced anaphylaxis: Cardiovascular medication and absence of urticaria/angioedema. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:698-704.

Stoevesandt J, Sturm GJ, Bonadonna P, Oude Elberink JNG, Trautmann A. Risk factors and indicators of severe systemic insect sting reactions. *Allergy* 2020;75:535–545.

Sturm GJ, Herzog SA, Aberer W et al.  $\beta$ -blockers and ACE inhibitors are not a risk factor for severe systemic sting reactions and adverse events during venom immunotherapy. *Allergy* 2021;76:2166–2176.

Sturm GJ, Schadelbauer E, Marta G, Bonadonna P, Kosnik M. Risk factors for severe sting reactions and side effects during venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2024.

Sturm GJ, Varga EM, Roberts G et al. EAACI guidelines on allergen immunotherapy: hymenoptera venom allergy. *Allergy* 2018;73:744–764.

Trizuljak J, Sperr WR, Nekvindová L et al. Clinical features and survival of patients with indolent systemic mastocytosis defined by the updated WHO classification. *Allergy* 2020;75:1927–1938.

Turner PJ, Gowland MH, Sharma V et al. Increase in anaphylaxis-related hospitalizations but no increase in fatalities: An analysis of United Kingdom national anaphylaxis data, 1992-2012. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:956-963.

Turner PJ, Jerschow E, Umasunthar T, Lin R, Campbell DE, Boyle RJ. Fatal anaphylaxis: mortality rate and risk factors. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017;5:1169-1178.

Valent P, Akin C, Arock M, et al. Definitions, criteria and global classification of mast cell disorders with special reference to mast cell activation syndromes: a consensus proposal. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;157:215-225.

Valent P, Akin C, Bonadonna P et al. Updated diagnostic criteria and classification of mast cell disorders: A consensus proposal. *Hemasphere* 2021;5:646.

Valent P, Akin C, Escribano L et al. Standards and standardization in mastocytosis: Consensus statements on diagnostics, treatment recommendations and response criteria. *Eur J Clin Invest* 2007;37:435-453.

Valent P, Akin C, Hartmann K et al. Advances in the classification and treatment of mastocytosis: Current status and outlook toward the future. *Cancer Res* 2017;77:1261-1270.

Valent P, Akin C, Hartmann K, et al. Mastocytosis: 2016 updated WHO classification and novel emerging treatment concepts. *Blood* 2017;129:1420-1427.

Valent P, Akin C, Metcalfe DD. Mastocytosis: 2016 updated WHO classification and novel emerging treatment concepts. *Blood* 2017;129:1420-1427.

Valent P, Akin C, Sperr WR, et al. New insights into the pathogenesis of mastocytosis: emerging concepts in diagnosis and therapy. *Annu Rev Pathol* 2023;18:361-386.

Valent P, Bonadonna P, Hartmann K et al. Why the 20% + 2 tryptase formula is a diagnostic gold standard for severe systemic mast cell activation and mast cell activation syndrome. *Int Arch Allergy Immunol* 2019;180:44-51.

Valent P, Akin C, Bonadonna P, Hartmann, K., et al. Proposed diagnostic algorithm for patients with suspected mast cell activation syndrome. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019;7:1125-1133.

Valent P, Hartmann K, Hoermann G et al. Harmonization of diagnostic criteria in mastocytosis for use in clinical practice: WHO vs ICC vs AIM/ECNM. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2024;12:3250-3260.

Valent P, Horny HP, Escribano L et al. Diagnostic criteria and classification of mastocytosis: a consensus proposal. *Leuk Res* 2001;25:603-625.

Valent P, Sotlar K, Horny HP, Arock M, Akin C. World Health Organization classification and diagnosis of mastocytosis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2023;43:627-649.

Valent P, Sperr WR, Schwartz LB, Horny HP. Diagnosis and classification of mast cell proliferative disorders: delineation from immunologic diseases and non-mast cell hematopoietic neoplasms. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:3-11.

Varricchi G, Marone G. Mast Cells: Fascinating but still elusive after 140 Years from Their Discovery. *Int J Mol Sci* 2020;21:464.

Vercelli D. Genetic regulation of IgE responses: Achilles and the tortoise. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:60–64.

Vidal C, Armisén M, Monsalve R et al. Anaphylaxis to *vespa velutina nigrithorax*: Pattern of sensitization for an emerging problem in western countries. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2021;31:228–235.

Vidal C. The Asian wasp *Vespa velutina nigrithorax*: Entomological and allergological characteristics. *Clin Exp Allergy* 2022;52:489–498.

Vidal C, Boquete O, Gude F et al. High prevalence of storage mite sensitization in a general adult population. *Allergy* 2004;59:401–5.

Waters AM, Park HJ, Weskamp AL et al. Elevated basal serum tryptase: Disease distribution and variability in a regional health system. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2022;10:2424-2435.e5.

Weidner N, Austen KF. Heterogeneity of mast cells at multiple body sites. *Pathol Res Pract* 1993;189:156–162.

Wernersson S, Pejler G. Mast cell secretory granules: armed for battle. *Nat Rev Immunol* 2014;14:478–494.

Worm M, Francuzik W, Renaudin JM et al. Factors increasing the risk for a severe reaction in anaphylaxis: An analysis of data from The European Anaphylaxis Registry. *Allergy* 2018;73:1322–1330.

Xu YS, Kastner M, Harada L et al. Anaphylaxis-related deaths in Ontario: a retrospective review of cases from 1986 to 2011. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2014;10:38.

Zanotti R, Lombardo C, Passalacqua G et al. Clonal mast cell disorders in patients with severe hymenoptera venom allergy and normal serum tryptase levels. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136:135–139.

## ANEXOS

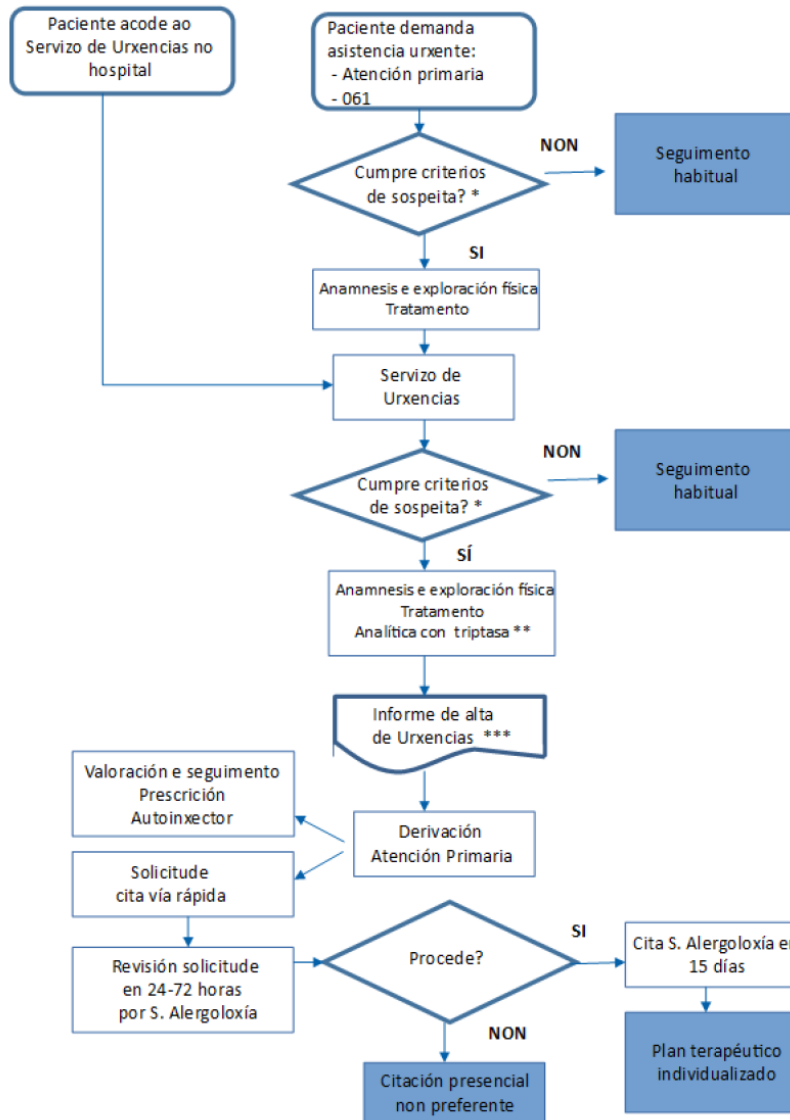


## **Anexo I**

### **Vía rápida para anafilaxia por veneno de himenóptero**



## CIRCUÍTO ASISTENCIAL RÁPIDO



\*Reacción de inicio agudo (minutos a 2 horas) na que se observa afectación cutánea (urticaria, anixioedema ou eritema) acompañada de, polo menos, un dos seguintes: dificultade respiratoria, hipotensión arterial (TAS<90 mmHg ou descenso en 30 mmHg da habitual), síntomas gastrointestinais (dor abdominal, diarreia ou vómitos).

\*\*Indicando tempo transcurrido desde a picadura e a extracción. Conveniente realizar extracción entre 2-3 horas tras picadura.

\*\*\* O autoinxelector de adrenalina poderase prescribir nos Servizos de Urxencias segundo o criterio do clínico.






## **Anexo II**

### **Cuaderno de Recogida de Datos (CRD)**





	<p style="text-align: center;"><b>Anafilaxia por <i>Vespa velutina</i></b></p> <p style="text-align: center;">Estudio del perfil molecular frente a alérgenos de <i>Vespula spp</i>, <i>Polistes dominula</i> y <i>Apis mellifera</i> que reconocen los pacientes con anafilaxia por <i>Vespa velutina</i> en el área sanitaria de Santiago de Compostela</p> <p style="text-align: center;">CVP-Vespv-2018-01</p>		
	<p><b>CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS</b></p>		
	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;">  <p><b>Código Sujeto:</b></p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p><b>Fecha:</b></p> </td> </tr> </table>	 <p><b>Código Sujeto:</b></p>	<p><b>Fecha:</b></p>
 <p><b>Código Sujeto:</b></p>	<p><b>Fecha:</b></p>		

## Código del sujeto

### \*Nota de codificación:

**Codificación** CHUS - (Vespv) - (número de sujeto)

**Descripción** CHUS: Complejo Hospitalario Universitario de Santiago  
Vespvel 01, 02, 03...

## Variables epidemiológicas (señalar lo que corresponda)

### 1. Sociodemográficas

1.1. Mes y Año de Nacimiento: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

1.2. Edad: \_\_\_\_\_ años en el momento de la primera consulta

1.3. Sexo: 0. Mujer 1. Varón

1.4. Ingesta de alcohol en g/semana (cada unidad de bebida equivalente a 10 g de alcohol): \_\_\_\_\_ g/semana

### 2. Grado de exposición

2.1. Vivienda habitual: 0. Rural

1. Urbano

\*Se consideran urbanos los que viven en la ciudad de Santiago de Compostela y rurales el resto.

### 2.2. Exposición laboral (en función del trabajo\*)

0. No

1. Si

\* Se considera exposición por medio laboral cualquier trabajo que se realice al aire libre en medio rural (apicultor, labores de campo, agricultor, ganadero, construcción en el exterior en medio rural,..)

### 3. Antecedente de picaduras previas (Se pueden marcar varias casillas)

3.1. Avispas (1=SI; 0= NO)

3.2. Vespa velutina (1=SI; 0=NO)

3.3. Abejas (1=SI; 0=NO)

#### 4. Antecedente de reacción sistémica previa

- 4.1. Avispas (1=SI; 0= NO)  
4.2. Vespa velutina (1=SI; 0=NO)  
4.3. Abejas (1=SI; 0=NO)

<b>Episodio de anafilaxia motivo de la consulta</b>
---

#### 5. Himenóptero implicado en la reacción

- Avispas (1)  
Vespa velutina (2)  
Abejas (3)

#### 6. Número de insectos implicados en la reacción: \_\_\_\_\_

#### 7. Período de latencia

- En los primeros 15 minutos (1)  
Entre 15 y 30 minutos (2)  
Más de 30 minutos (3)

#### 8. Grado de anafilaxia

**(1) Grado I. Leve** (Afectación cutánea en forma de eritema, urticaria y/o angioedema con malestar general sin datos objetivos de afectación de otros órganos)

**(2) Grado II. Moderada** (Afectación respiratoria (disnea, estridor, sibilancias), cardiovascular (mareo, sudoración, opresión torácica) y/o gastrointestinal (vómitos, diarrea, dolor abdominal))

**(3) Grado III. Grave** (Presencia de cianosis, saturación de O<sub>2</sub> por debajo del 92%, hipotensión, confusión, hipotonía y/o pérdida de conocimiento)

#### 9. ¿Se administró adrenalina?

0. No

1. Sí

## **Variables serológicas**

1. Valor de la IgE sérica total (IU/mL):
2. Valor de la triptasa basal (ng/mL):
3. Fecha toma muestra de sangre completa para análisis genético:

## **Anexo III**

### **Autorización del Comité Ético de Investigación de Galicia**



## DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE SANTIAGO-LUGO

Cristina Márquez Riveras, Secretaria del Comité de Ética de la Investigación de Santiago-Lugo,

### CERTIFICA:

Que este Comité evaluó en su reunión del día 19/12/18 el estudio:

**Título:** Estudio de sensibilización a Vespa velutina en pacientes con anafilaxia por veneno de himenópteros en el área sanitaria de Santiago de Compostela

**Versión:**

**Promotor/a:** Carmen Vidal Pan

**Investigador/a:** Carmen Vidal Pan

**Código de Registro:** 2018/622

Y que este Comité, tomando en consideración la pertinencia del estudio, el conocimiento disponible, los requisitos legales aplicables y los Procedimientos Normalizados de Trabajo del Comité, emite un dictamen **FAVORABLE** para la realización del citado estudio.



Documento firmado digitalmente por:  
Márquez Riveras, Cristina: 19/12/2018 18:10  
SAOC-H4G4-BOAH-OFHR-RC15-4523-9414-843



## **Anexo IV**

### **Listado de verificación STROBE**



Sí/No/NA		página
<b>Título y resumen</b>		
Si	Indique, en el título o en el resumen, el diseño del estudio	XIII
Si	Proporcione en el resumen una sinopsis informativa y equilibrada de lo que se ha hecho y lo que se ha encontrado.	XIII-XIV
<b>Introducción</b>		
Si	Indique el fundamento científico de la Investigación que se comunica	3-26,29
<b>Objetivos</b>		
Si	Indique los objetivos específicos, incluida cualquier hipótesis preespecificada	31-33
<b>Material y métodos</b>		
Diseño del estudio		
Si	Presente los elementos clave del diseño del estudio	37-42
Contexto		
Si	Describa el marco, los lugares y las fechas relevantes, incluidos los períodos de reclutamiento, exposición, seguimiento y recogida de datos.	37
Participantes		
NA	Para estudios de cohortes: proporcione los criterios de elegibilidad, así como las fuentes y el método de selección de los participantes. Especifique los métodos de seguimiento	NA
Si	Estudios de casos y controles: proporcione los criterios de elegibilidad, así como las fuentes y el proceso diagnóstico de los casos y el de selección de los controles. Proporcione las razones para la elección de casos y controles.	37-39
Si	Estudios transversales: proporcione los criterios de elegibilidad y las fuentes y métodos de selección de los participantes	37-39
NA	Estudios de cohortes apareados. Proporcione los criterios para la formación de parejas y el número de participantes con y sin exposición	NA
NA	Estudios de casos y controles apareados. Proporcione los criterios para la formación de las parejas y el número de controles por cada caso	NA
Variables		
Si	Defina claramente todas las variables: de respuesta, exposiciones, predictoras, confusoras y modificadoras del efecto. Si procede, proporcione los criterios diagnósticos	34-36
Fuentes de datos/medidas		
Si	Para cada variable de interés, proporcione las fuentes de datos y los detalles de los métodos de valoración (medida).	57,62
Si	Si hubiera más de un grupo, especifique la comparabilidad de los procesos de medida	50
Sesgos		
Si	Especifique todas las medidas adoptadas para afrontar fuentes potenciales de sesgo	78
Tamaño muestral		
Si	Explique cómo se determinó el tamaño muestral	42,43
Variables cuantitativas		
Si	Explique cómo se trataron las variables cuantitativas en el análisis. Si procede, explique cómo se categorizaron y por qué	43,44
Métodos estadísticos		
Si	Especifique todos los métodos estadísticos, incluidos los empleados para controlar los factores de confusión	43,44
Si	Especifique todos los métodos utilizados para analizar subgrupos e interacciones	43,44
Si	Explique el tratamiento de los datos ausentes (missing data)	49
NA	Estudio de cohortes: si procede, explique cómo se afrontan las pérdidas en el seguimiento	NA
Si	Estudios de casos y controles: si procede, explique cómo se aparearon casos y controles	33,34

Si	Estudios transversales: si procede, especifique cómo se tiene en cuenta en el análisis la estrategia de muestreo	38
Si	Describa los análisis de sensibilidad	41
<b>Resultados</b>		
Participantes		
Si	Número de participantes en cada fase del estudio; por ejemplo: cifras de los participantes potencialmente elegibles, los analizados para ser incluidos, los confirmados elegibles, los incluidos en el estudio, los que tuvieron un seguimiento completo y los analizados	37
Si	Razones de la pérdida de participantes en cada fase	37
NA	Considere el uso de un diagrama de flujo	NA
Datos descriptivos		
Si	Características de los participantes en el estudio (p. ej., demográficas, clínicas, sociales) e información sobre exposiciones y posibles factores de confusión	33
Si	Número de participantes con datos ausentes en cada variable de interés	42
NA	Estudios de cohortes: resuma el período de seguimiento (p. ej., promedio y total)	NA
Datos de las variables de resultado		
NA	Estudios de cohortes: describa el número de eventos del efecto, o bien proporcione medidas resumen a lo largo del tiempo	NA
Si	Estudios de casos y controles: describa el número de participantes en cada categoría de exposición, o bien proporcione medidas resumen de exposición	37
Si	Estudios transversales: describa el número de eventos del efecto, o bien proporcione medidas resumen	38, 50-62
Resultados principales		
Si	Proporcione estimaciones crudas (no ajustadas) y, si procede, ajustadas por factores de confusión, así como su precisión (p. ej., intervalos de confianza del 95%). Especifique los factores de confusión por los que se ajusta y las razones para incluirlos	50-62
Si	Si fuera pertinente, valore acompañar las estimaciones del riesgo relativo con estimaciones del riesgo absoluto para un período de tiempo relevante	58-60
Otros análisis		
NA	Describa otros análisis efectuados (de subgrupos, interacciones o sensibilidad)	NA
<b>Discusión</b>		
Resultados clave		
Si	Resuma los resultados principales de los objetivos del estudio	67
Limitaciones		
Si	Discuta las limitaciones del estudio, teniendo en cuenta posibles fuentes de sesgo o de imprecisión. Razone tanto sobre la dirección como sobre la magnitud de cualquier posible sesgo	77-79
Interpretación		
Si	Proporcione una interpretación global prudente de los resultados considerando objetivos, limitaciones, multiplicidad de análisis, resultados de estudios similares y otras pruebas empíricas relevantes	68-76
Generabilidad		
Si	Discuta la posibilidad de generalizar los resultados (validez externa)	79
Financiación		
Si	Especifique la financiación y el papel de los patrocinadores del estudio y, si procede, del estudio previo en el que se basa el presente trabajo	VII,44



Las reacciones sistémicas por veneno de himenópteros pueden desencadenar anafilaxias graves, y la influencia de factores genéticos en su gravedad aún no está bien definida. Este estudio empleó un análisis GWAS en 288 pacientes gallegos alérgicos a himenópteros, identificando dos SNPs en el cromosoma 16 asociados a hiperalfatriptasemia hereditaria (H $\alpha$ T), presente en el 38,7% de los pacientes con anafilaxia grave y triptasa elevada. Las reacciones más severas se asociaron a varones, edad avanzada, consumo de alcohol, tratamientos con IECA o  $\beta$ bloqueantes, y picaduras de *Vespa velutina*. Estos hallazgos permiten identificar subgrupos de pacientes con mayor riesgo de anafilaxia grave. La detección precoz de H $\alpha$ T podría incorporarse como herramienta clínica para estratificar el riesgo y orientar decisiones terapéuticas.