Asma por *plukenetia volubilis*

Vanesa Rodríguez[1], José Ignacio Tudela[2] y Fernanda Bravo[3]
[1]*Clínica Subiza de Asma y Alergia.* [2]*Laboratorios Inmunotek. Madrid.*
[3]*Mutua del Trabajo ASEPEYO. Madrid*

CASO CLÍNICO

Mujer de 42 años que acude a nuestras consultas en noviembre del 2009 por presentar desde hace 4 años sintomatología consistente en estornudos, obstrucción nasal con hidrorrea, tos y disnea sibilante, que ha requerido asistencia en el Servicio de Urgencias en una ocasión. Presenta la sintomatología en su lugar de trabajo, permaneciendo asintomática los fines de semana y los períodos vacacionales.

Trabaja en un laboratorio de cosméticos desde hace 22 años y reconoce como posible desencadenante la exposición al polvo de *Plukenetia volubilis*, que manipula para la realización de cremas faciales.

En Perú, se prensa en frío el fruto de la *Plukenetia volubilis* y se hace una torta, que se envía al laboratorio español donde se realiza una primera extracción con solvente (acetona) y se seca, produciéndose en este momento una exposición de la paciente al polvo fino resultante, sin mascarilla. Entonces se crea el aceite, que es el producto final que se utiliza para la fabricación de cosméticos.

Antecedentes personales: fumadora de 20 cigarrillos/día desde hace 24 años. Resto de antecedentes sin interés.

Antecedentes familiares: hermano con asma polínica y padre con dermatitis atópica.

Exploración física: rinoscopia, fibroscopia nasal y auscultación cardiopulmonar: normales.

ESTUDIO ALERGOLÓGICO

Dado que la paciente refiere sintomatología de rinitis, hacemos rinomanometría anterior activa, en la que se observa una buena permeabilidad nasal.

Del mismo modo, la paciente cuenta sintomatología de disnea, por lo que realizamos espirometría, la cual revela una FVC = 3.080 ml (96% del teórico), FEV_1 = 2.470 ml (90% del teórico) y una relación FEV1/FVC = 80%, compatible con la normalidad[1]. La sometemos a una prueba de broncodilatación en la

que se observa un incremento del FEV_1 del 14% (340 ml) tras la inhalación de salbutamol (por tanto, resultado positivo).

Para descartar otras posibles sensibilizaciones, realizamos pruebas cutáneas con lectura inmediata mediante planimetría (PrickFilm, Inmunotek Lab., España)[2,3], frente a inhalantes habituales (pólenes, ácaros, hongos y epitelios), con controles de histamina 10 mg/ml de 21 mm^2 y glicero salino al 50% de 0 mm^2, resultando únicamente positivas para epitelio de perro (18 mm^2) y gato (30 mm^2). Este dato no es relevante ya que la paciente no refiere sintomatología al contacto con los mismos.

Preparamos extracto de *Plukenetia volubilis* de la siguiente manera:

1. Polvo de *Plukenetia* que aporta la paciente.
2. Homogenización y desengrasado con acetona.
3. Extracción en PBS (10 mM fosfato, 0,15 M ClNa, pH 7,4) 24 horas a 4º C (1:10 p/v).
4. Centrifugación y clarificación.
5. Diálisis por 3 kDa.
6. Esterilizada mediante filtración a través de una membrana de 0,22 Qm (Millipore).
7. Liofilización (1:10 p/v).

Posteriormente, determinamos el contenido proteico en el extracto nativo mediante método de Bradford, consiguiendo una concentración final de proteínas de 2,26 mg/ml.

Con dicho extracto, hicimos *prick-test*, siendo negativo el glicero salino al 50%, positivo el fosfato de histamina a 10 mg/ml y también a las diluciones del extracto de *Plukenetia* (tabla I). Al mismo tiempo, lo testamos en dos controles no atópicos con *Plukenetia* 1:10 p/v, que resultaron negativos.

Para descartar reactividad cruzada con otras semillas o nuevas sensibilizaciones, realizamos pruebas cutáneos a diversas semillas y frutos secos, resultando todas ellas negativas.

Realizamos una prueba de provocación bronquial inespecífica[4] (prueba de metacolina) con aerosol De Vilbiss® con un débito de 0,28 ml/min y a inhalación de volumen corriente durante 2 minutos, observando una caída del 20% con una concentración de 1,29 mg/ml (PC_{20} de 1,29 mg/ml), con ausencia de meseta, confirmando así el diagnóstico de hiperreactividad bronquial dentro del rango asmático.

Para saber si dicha hiperreactividad bronquial era producida por su exposición a *Plukenetia volubilis,* sometimos a la paciente a una provocación bronquial específica. Esta también se realizó con aerosol De Vilbiss® con un débito de 0,28 ml/min y a una inhalación de volumen corriente durante 2 minutos[4].

Tabla I
Prick-test* con diferentes diluciones del extracto de *P. volubilis

Pruebas cutáneas (lectura inmediata del diámetro mayor en mm)			
Alergeno	*Método*	*Habón*	*Resultado*
Plukenetia v. 1:100.000.000 p/v	*Prick*	*4*	*2+*
Plukenetia v. 1:10.000.000 p/v	*Prick*	*4*	*2+*
Plukenetia v. 1:1.000.000 p/v	*Prick*	*4*	*2+*
Plukenetia v. 1:100.000 p/v	*Prick*	*6*	*2+*
Plukenetia v. 1:10.000 p/v	*Prick*	*6*	*2+*
Plukenetia v. 1:1.000 p/v	*Prick*	*7*	*2+*
Plukenetia v. 1:100 p/v	*Prick*	*9*	*3+*
Plukenetia v. 1:10 p/v	*Prick*	*15*	*3+*
Histamina	*Prick*	*8*	
Gicerosalino	*Prick*	*0*	

[20/11/90] 4+ positividad muy alta; 3+ alta; 2+ moderada; 1+ dudosa; - negativo.

Previo a la provocación, hicimos un día control mediante provocación con PBS y realizamos mediciones seriadas del FEV_1 las 8 horas siguientes, comprobando de esta manera que la paciente se encontraba estable de su asma, sin presentar descensos del FEV_1 > 5%. Realizamos 24 horas después la provocación bronquial específica con el extracto de *Plukenetia,* iniciándola con una concentración 1:100.000.000 p/v y aumentándola de 10 en 10, siendo a la concentración de 1:1.000.000 p/v con la que obtuvimos una respuesta inmediata, descenso del FEV_1 del 20 % a los 10 minutos con recuperación espontánea a las 2 horas y sin presentar una respuesta tardía significativa (Fig. 1).

Para corroborar que dicha respuesta fue específica, repetimos 24 horas después, una segunda provocación bronquial con metacolina, necesitando para la PC_{20} una concentración de metacolina 8 veces menor que para la primera (Fig. 2).

Completamos el estudio determinando la fracción espiratoria de óxido nítrico (FE_{NO})[5] antes de la provocación bronquial específica con *Plukenetia volubilis* y 24 horas después de la misma. Para ellos usamos un sistema NIOX (Aerocrine, Estocolmo, Suecia), observando un valor basal con media de 8 ppb (valores normales entre 10-20 ppb) que se incrementa tras la provocación hasta 22 ppb (incremento del 71%). El resultado de ambas pruebas (metaco-

Fig. 1. Provocación bronquial específica con extracto de Plukenetia a 1:1.000.000 p/v.

Fig. 2. Provocación bronquial inespecífica (prueba de metacolina) antes y después de la provación bronquial específica.

lina y FE_{NO}) apoyan la positividad de la provocación bronquial obtenida con la *P. volubilis.*

ESTUDIO INMUNOLÓGICO

Realizamos un ELISA directo con el suero del paciente, así como con dos controles (atópicos), uno de ellos alérgico al látex y otro al melocotón. Se obtuvo con el suero del paciente una gran actividad IgE que fue disminuyendo a medida que se diluía el suero (r^2 = 0,94); no así en los dos controles (Fig. 3).

Se hizo correr el extracto mediante electroforesis a través de un gel de poliacrilamida en presencia de duodecil sulfato (SDS-PAGE). Las diferentes bandas proteicas fueron transferidas electroforéticamente a una membrana de nitrocelulosa, haciendo posteriormente una inmunodetección (*Blotting*), destacando en el suero del paciente dos bandas fijadoras de IgE de un PM de 30

Fig. 3. En el suero del paciente pero no en los 2 controles (atópicos) se observa una actividad IgE significativa frente a Plukenetia que va disminuyendo a medida que se diluye el suero (r^2 = 0,94).

y 59 kDa y que parecen ser los antígenos mayoritarios de *Plukenetia volubilis* (Figs. 4 y 5).

CONCLUSIONES

1. La semilla de *Plukenetia volubilis* se ha comportado en esta paciente como un potente neumoalérgeno capaz de producirle asma ocupacional.

DISCUSIÓN

Plukenetia volubilis[6] pertenece a la familia *Euphorbiaceae*, subfamilia *Acalyphoideae*, tribu *plukenetieae*, subtribu *plukenetiinae*, género *plukenetia*, especie *Plukenetia volubilis linneo sp.* Se conoce también como *Plukenetia peruviana muell, Plukenetia macrostyla ule*. Su nombre común es maní del inca, sacha inchi, sacha yuchi. Su nombre botánico es *Plukenetia volúbilis* o *tetracapidum conophorum*.

Esta planta habita en las junglas tropicales altas. Es una planta nativa de los altos bosques húmedos de la región andina sudamericana y originaria de la Amazonía peruana, cultivada desde hace siglos por los indígenas. Crece mejor en suelos ácidos, francos y aluviales planos, cerca de los ríos por la disponibilidad permanente de agua.

Alcanza una altura de hasta 2 m, posee hojas alternas, acorazonadas, con bordes dentados y puntiagudos de 10-12 cm x 8-10 cm. Las flores masculinas son pequeñas, blanquecinas y dispuestas en racimos. En la base del racimo hay 1-2 flores femeninas.

- **Perfil proteico del extracto nativo del alérgeno:** ***SDS-PAGE y tinción con coomassie Blue***

10 µg
Mot. weight
351,43
239,58
170,43
107,42
97,63
69,67
58,66
34,72
30,12
21,11

5 µg
Mot. weight
335,78
250,00
170,43
96,47
71,40
58,66
34,89
29,97
20,97
19,05
14,30

- **Perfil proteico del extracto nativo del alérgeno reconocido por el suero del paciente:** ***Blotting y revelado mediante quimoluminiscencia***

10 µg
Mot. weight
322,75
258,85
238,66
170,43
52,44
33,63
30,26
27,15
16,95

5 µg
258,86
202,85
139,02
96,47
64,61
50,39
42,43
33,80
30,97
28,43
26,35
16,51

Figs. 4 y 5. En ambos perfiles, se observa una captación similar en bandas de diferente peso molecular, llamando la atención una captación más intensa en las bandas correspondientes a 30 kDa y 59 kDa, que parecen ser los antiguos mayoritarios de Plukenetia.

El fruto se dispone en cápsulas de 3-5 cm con 4-7 puntas y es de color verde y marrón negruzco al madurar. Dentro se encuentran las semillas, que son ovales, de color marrón oscuro, de 1,5 a 2 cm de diámetro y de 45 a 100 g de peso. Al abrirlas, están los cotiledones cubiertos de una película blanquecina. Las semillas son ricas en yodo y vitaminas A y E y tienen un alto contenido en proteínas (33%) y aceite (49%).

Su aceite constituye una de las mayores fuentes vegetales ácidos grasos omega: omega-3 (48%), omega-6 (36%), omega-9 (9%); y de antioxidantes (50%).

El consumo de *Plukenetia* es en forma de aceite, harina o cápsulas (suplemento nutricional o tratamiento medicinal).

El motivo de su uso tópico es porque reestructura y protege la piel, el cabello y las uñas, limitando la deshidratación, fortaleciendo y reconstruyendo su barrera natural. Se formula en pomadas, lociones, cremas, etc.

Hay múltiples publicaciones que hacen referencia a asma ocupacional por diversas semillas (como el ricino, que fue la primera publicada, la soja, el grano de café verde, etc.) pero no así con *P. volubilis*. El polvo de la *P. volubilis* parece tratarse de un potente neumoalérgeno, pero a pesar de ello no hemos encontrado más casos publicados (búsqueda realizada en Medline) ya que el uso de esta semilla está prácticamente limitado a Perú, sin ser un producto habitual en Europa ni los EE.UU. Quizá en un futuro se distribuya su uso y aparezcan más casos publicados. La única referencia que hemos encontrado es en formato póster, presentado en el congreso de la EAACI, celebrado en Varsovia en 2009.

BIBLIOGRAFÍA

1. Standardization of spirometry—1987 update. Statement of the American Thoracic Society. Am Rev Respir Dis 1987: 136(5): 1285-98.
2. Subiza J, Subiza JL, Narganes MJ y Masiello JM. Comparación de la sensibilidad y precisión de un nuevo dispositivo, Prick Film®, para realizar pruebas cutáneas frente al prick-test convencional. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1998; 13(2): 22-23.
3. Dreborg, ed. Skin tests used in type I Allergy testing. Position paper. *Allergy* 1989; 44 (Suppl. 10): 1-59.
4. Subiza J, Subiza JL, Escribano PM, Hinojosa M, García R, Jerez M, Subiza E. Occupational asthma caused by ginseng dust. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88: 731-6.
5. ATS/ERS Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Offline Measurement of Exhaled Lower Respiratory Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171(8): 912-30.
6. Plukenetia (es.wikipedia.org/wiki/Plukenetia_volubilis, www.incainchi.es, www.agroterra.com, www.springerlink.com, www.sciencedirect.com)
7. Dionicio Elera J, García Cubero A, Rodríguez M, López M, Vásquez A. Occupational asthma in a cosmetic industry worker caused by inca peanut (plukenetia volubilis linneo). Puerta de Hierro Majadahonda, Hospital, Allergy Department, Madrid, Spain; Puerta de Hierro Hospital, Allergy Department, Madrid, Spain.

Coloquio

Dr. Díaz Mateo / Consulta Privada: Felicitaros al equipo Subiza por la presentación de este caso claramente de un asma ocupacional. Reúne todas las condiciones que todos recordamos, mejora los fines de semana, en las vacaciones, presentan sólo la sintomatología en el puesto de trabajo, le habéis hecho un estudio exhaustivo que confirma la responsabilidad de este nuevo alérgeno. Me recuerda, también a otra semilla, la guacanga africana, que habéis citado ahí. Esto lo estudié yo hace muchos años y también reunía las mismas condiciones. Te quería preguntar, en el sitio donde ella trabaja, ¿había otras personas con algunos otros síntomas aunque no fueran tan importantes, una rinoconjuntivitis leve, alguna cosa de este tipo?

Dra. Rodríguez García / Clínica Subiza de Asma y Alergia: Bueno, yo estuve hablando con la directora técnica y me comentó que en España, ella es la única empresa que trabaja con el polvo de esta planta, que el resto de empresas que se dedican a utilizar este tipo de aceite, compran directamente el aceite, no usan la torta ni la deshidratan. Entonces sí que me comentó que había bastantes trabajadores que al abrir los precintos donde venían las tortas presentaban síntomas de fatiga, no me quiso especificar cuántos y, de hecho, era una línea de investigación para sacar una nueva línea de productos cosméticos y la han retirado directamente.

Dr. Díaz Mateo: Ya, realmente el problema está en el polvillo, no en los líquidos ni en los aceites.

Dra. Rodríguez García: No, no, es en el polvo.

Dr. Ojeda / Clínica Ojeda: Felicitaros también, otra vez, por este caso tan interesante. Creo que antes en uno de los casos que habíais comentado, habíais hecho referencia a este caso de cómo había sido el tratamiento por parte de la empresa. No has comentado nada de la evolución o qué se ha hecho con esta trabajadora, si nos puedes comentar al respecto, qué se ha hecho con ella, si la han apartado del puesto, si ha dejado de trabajar con ese compuesto o qué.

Dra. Rodríguez García: Eso es, lo que han hecho es dejar de trabajar con ese compuesto, porque no solamente era esta paciente, presentaban síntomas muchos más trabajadores, y era una línea de investigación, no era un producto que estaba en mercado todavía, y directamente han decidido quitarlo de la producción.

Dr. Ojeda: Pero no se han planteado, vamos, no sé si a lo mejor les habéis asesorado al respecto, el utilizar medidas de protección, carenado por ejemplo de los puestos de trabajo, etc.

Dra. Rodríguez García: No, en un principio tampoco les hemos dicho vamos a probar con mascarillas, directamente lo quitaron, cuando hablé con ellos ya no estaban trabajando con ello. Dijeron que no les merecía la pena, había muchos trabajadores, no me dijeron exactamente cuántos y directamente lo retiraron.