

## **ALERGIAS ALIMENTARIAS: LECHE**

**Por M<sup>a</sup> Carmen Moros Blasco – Laboratorio de Salud Pública de la Ciudad de Madrid. Madrid Salud**

Aunque cualquier alimento puede provocar una reacción alérgica, seis son los responsables de la mayoría de las reacciones alérgicas y de las intolerancias alimentarias. En los niños un porcentaje elevado lo causan: la leche, los huevos, la soja, los cacahuates, las nueces y el trigo. En los adultos la mayoría de las reacciones alérgicas se producen por el consumo de las nueces, los cacahuates, los mariscos y el pescado.

La alergia a los alimentos es una respuesta inmunológica anormal con formación de “IgE”, inmunoglobulina sérica, a lo que de otra forma sería un alimento inofensivo, la respuesta siempre es hacia una proteína del alimento a la que se denomina alérgeno. La reacción puede ocurrir en minutos o a las pocas horas de haber ingerido el alimento y los síntomas pueden incluir: eccema, síntomas gastrointestinales, respiratorios o dermatológicos, así como la anafilaxia.

La anafilaxia es una reacción severa, potencialmente letal que involucra a los principales sistemas del cuerpo. Puede comenzar como una reacción leve y rápidamente progresar a ser letal.

Hoy en día, se puede determinar la existencia de alérgenos a nivel de trazas en los alimentos preparados en poco menos de una hora mediante análisis por Enzimoimmunoensayo (ELISA). El Laboratorio de Salud Pública del Ayuntamiento de Madrid hace tiempo que los aplica y actualmente está validando dicho ensayo para la detección de leche, siendo pionera a nivel nacional.

El análisis se basa en la alta especificidad que tiene lugar en reacciones antígeno-anticuerpo, por ejemplo, si existe presencia de proteína de leche (antígeno) en un alimento preparado a analizar, el alérgeno o antígeno reaccionará con los anticuerpos de la leche presentes en el ensayo, formando un conjunto único: antígeno-anticuerpo, al que se vuelve añadir el mismo anticuerpo pero conjugado con una enzima, el anticuerpo se unirá al antígeno que formaba el conjunto Ag-Ac, formando un sandwich (Ac-Ag-Ac), al que a continuación se añade un sustrato y un cromógeno que se unen a la enzima del conjugado desarrollando color, si estas uniones se han producido la intensidad del color es una relación directa con la cantidad de alérgeno que conforma el sandwich. La cuantificación del alérgeno se realiza por la lectura de la absorbancia del color leída en un fotómetro y extrapolada a una curva patrón de valores conocidos: absorbancia - concentración.

Los anticuerpos a la beta-lactoglobulina se han identificado en una muestra compuesta por 20 niños sanos, 45 niños diabéticos tipo 1 y 40 celíacos. El análisis ha demostrado que el

85 por ciento de los niños celíacos y el 45 por ciento de los niños diabéticos tenían anticuerpos frente a la beta-lactoglobulina. En cambio, el porcentaje de niños sanos positivos a la beta-lactoglobulina era inferior al 10 por ciento.



### **ALERGIA A PROTEÍNAS DE LECHE DE VACA.**

A nivel Internacional afecta a un 2-3% de la población general durante el primer año de vida, en adultos es excepcional. En España las cifras son algo inferiores (0,36-1,9%).

Dentro de las alergias alimentarias, la leche en los niños ocupa el 2º lugar en frecuencia, por detrás de la alergia a huevo, pero si sólo hablamos de lactantes sería el 1º lugar. Esta alergia puede darse en cualquier momento de introducción de la leche de vaca en la alimentación, ya sea desde el nacimiento (lactancia artificial o mixta) o cuando se introduce para sustituir a la leche materna. Parece que es más frecuente en el primer caso, probablemente por introducir el alimento a edades tempranas, con un sistema inmune aún más inmaduro, y, además, al no recibir el bebé leche materna, no recibe tampoco ciertos componentes inmunológicos importantes que incluye la leche materna.

Hay que diferenciar la alergia alimentaria que produce respuesta inmunológica, de la intolerancia digestiva (sin respuesta inmunológica) también frecuente con la leche y que se debe a deficiencias de ciertos enzimas intestinales necesarios para su absorción.

**EVOLUCION NATURAL DE LA ALERGIA:** En la primera infancia la alergia a leche de vaca tiende a evolucionar de forma natural con la remisión a corto o medio plazo. Se estima que al año de vida llegan a la tolerancia un 50-60%, a los 2 años un 70-75% y a los 4 años hasta un 85%. Se consideran factores de mal pronóstico: la no tolerancia a partir de los 4 años, la polisensibilización a otros alimentos y la persistencia de (IgE) inmunoglobulina sérica elevada para caseína.

Una vez confirmada la alergia a la leche, todos los lácteos y derivados deben ser eliminados de la dieta, teniendo en cuenta de sustituir la composición del alimento que se está excluyendo en la dieta para que el niño reciba toda la nutrición necesaria para su crecimiento y desarrollo. La leche aporta sobre todo vitamina D, B12, calcio, riboflavina, ácido pantoténico y fósforo, en los niños alérgicos se les sustituye por una fórmula a base de soja, una vez establecido que no son alérgicos a la soja, o también, por una fórmula de hidrolizado de caseína que contiene la proteína desintegrada de tal manera que es distinta y no es tan probable que cause reacción alérgica proveyendo así de la nutrición de la leche.

La opción más adecuada para el niño será el médico quien la plantee según el grado de sensibilización, gravedad clínica, estado nutricional, o adaptación del niño al nuevo alimento.

Los pacientes con alta sensibilización tienen que evitar la ingesta de leche como alimento oculto, es decir, aquellos productos que no especifican estar elaborados con leche pero que pueden contener proteínas de leche de vaca, por ejemplo: embutidos, margarinas y batidos vegetales, algunos tipos de pan, sopas preparadas, conservas de legumbres, chocolate puro, cubitos de caldo, cefalópodos congelados, caramelos, productos cosméticos, medicamentos e incluso guantes de látex.



Por tanto, para este sector de la población es fundamental que el etiquetado de los alimentos preparados sea completo e incluya todos los ingredientes que forman dicho alimento además, de las posibles trazas que puedan arrastrar de otros preparados durante la producción. Es por ello que el Laboratorio de Salud Pública de Madrid, teniendo presente el serio problema de salud que representa, hace seguimientos periódicos y para ello recibe de los distintos Distritos que componen Madrid Capital, alimentos que se comercializan especialmente para alérgicos además, de los que se sospecha pueden contener algún alérgeno y no estar presente en el etiquetado. Aquí comprobamos mediante eficaces técnicas de enzimo-inmunoensayo las posibles trazas de alérgenos o contaminaciones cruzadas en los alimentos que nos llegan, la cuantificación puede llegar hasta los microgramos de alérgeno presente por kilogramo de preparado, cubriendo un rango importante de detección donde se sabe puede dar problemas de salud y teniendo la seguridad de que por debajo del límite de detección del ensayo el alérgeno no va a causar ningún problema en los afectados.

Desde el Laboratorio de Salud Pública recomendamos que a la menor duda que tengan los ciudadanos sobre lo que van a comer envíen el alimento al Laboratorio de Salud Pública del Ayuntamiento de Madrid donde se hará la comprobación tanto composicional como higiénica de dicho alimento.

RELACIÓN DEL HOMBRE CON LA LECHE ANIMAL: El consumo humano de la leche de origen animal, comenzó con la domesticación del ganado.

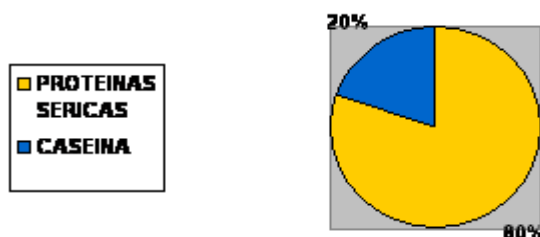


El primer animal que se domesticó fue la vaca, después la cabra y finalmente la oveja, entre el 9000 y 8000 a. C., en la leche de cada uno de estos animales las proteínas que contienen se encuentran en diferentes cantidades, como puede verse en la Tabla-1.

**Tabla 1.** Contenido proteico y caseínico de la leche de algunas especies animales.

componente	especie			
	humana	bovina	ovina	caprina
proteínas (% del total lácteo)	1,3-1,5	3,2-3,5	5,4-6,0	3,1-4,0
caseínas (% del total proteico)	44,9	82,5	84,8	81,3

De los datos de la tabla se deduce que la leche humana contiene la menor proporción de proteínas y la menor cantidad de caseínas, seguida de la leche de vaca que contiene alrededor de 3 gramos de proteína por cada 100 ml de leche, con distintos tipos de proteínas pero a excepción de la caseína y la beta-lactoglobulina el resto de proteínas están en cantidades muy pequeñas (Tabla-2). Las proteínas más importantes de la leche de vaca son: las proteínas séricas (compuestas por: beta-lactoglobulina, alfa-lactoglobulina, inmunoglobulinas bovinas, albúmina sérica) y las caseínas (compuestas por:  $\alpha_{s1}$ -caseína,  $\alpha_{s2}$ -caseína,  $\beta$ -caseína,  $\kappa$ -caseína y  $\gamma$ -caseína).



Siendo la alergia a la leche la respuesta hacia las proteínas mayoritarias que se encuentran en ella: casinas y beta-lactoglobulina (dentro de las proteínas séricas).

**Tabla-2.** Concentración de las proteínas en la leche de vaca.

<b>Conc. en % del total de la leche</b>	<b>g/kg proteína</b>	<b>p/p</b>
<b>Caseína</b>		
Alfa-s1-caseína	10.0	30.6
Alfa-s2-caseína	2.6	8.0
Beta-caseína	10.1	30.8
Gamma-caseína	3.3	10.1
Caseína total	26.0	79.5
<b>Proteínas del suero</b>		
Beta-lactoalbúmina	1.2	3.7
Beta-lactoglobulina	3.2	9.8
Albúminas del suero de leche	0.4	1.2
Inmunoglobulinas	0.7	2.1
Misceláneos	0.8	2.4
Proteínas totales del suero	6.3	19.3
<b>Proteínas de las membranas de los glóbulos grasos</b>	0.4	1.2
<b>Proteína total</b>	<b>32.7</b>	<b>100</b>

La composición de estas proteínas son muy similares entre las distintas especies de mamíferos, por tanto, una persona con alergia a proteínas de leche de vaca pueda presentar síntomas con la ingestión de leche de oveja, cabra, burra, yegua, etc., ya que, su organismo puede reconocer del mismo modo proteínas de otras leches y responder de la misma manera.

#### PROTEÍNAS DE LA LECHE CAUSANTES DE LA ALERGIA:

Las caseínas, son fosfoproteínas de fácil precipitación, constituyen el 80% del total de la proteína de la leche y lo forman:  $\alpha_{s1}$ -caseína y  $\alpha_{s2}$ -caseína (50%),  $\beta$ -caseína (30%),  $\kappa$ -caseína (15%) y  $\gamma$ -caseína (5%). En la fase soluble se encuentran asociadas al calcio (fosfato de calcio) formando un complejo que se denomina *caseinógeno*.

Las proteínas del suero, término sinónimo de proteína serológica, normalmente permanecen en solución y constituye casi el 20% del total, siendo la más abundante la Beta-lactoglobulina (10%). Adicionalmente, algunas de las proteínas serológicas se hallan presentes en más bajas concentraciones que en la leche original, debido a la desnaturalización por calor durante la pasteurización de la leche.

La  $\beta$ -lactoglobulina no se encuentra en la leche humana. Su composición en aminoácidos es bien conocida y se sabe que hay por lo menos 4 variantes genéticas, que se distinguen por la sustitución de ciertos aminoácidos en la cadena proteica, hecho que tiene incidencia durante los tratamientos tecnológicos de la leche. Su desnaturalización por calentamiento reduce el riesgo de coagulación de la leche durante la esterilización.

Las proteínas del suero también contienen fragmentos de moléculas de caseína y proteínas que conforman la membrana de los glóbulos grasos al adherirse a la superficie de los glóbulos grasos y solamente son liberadas por acción mecánica, como por ejemplo, durante el batido de la crema para producir la mantequilla.

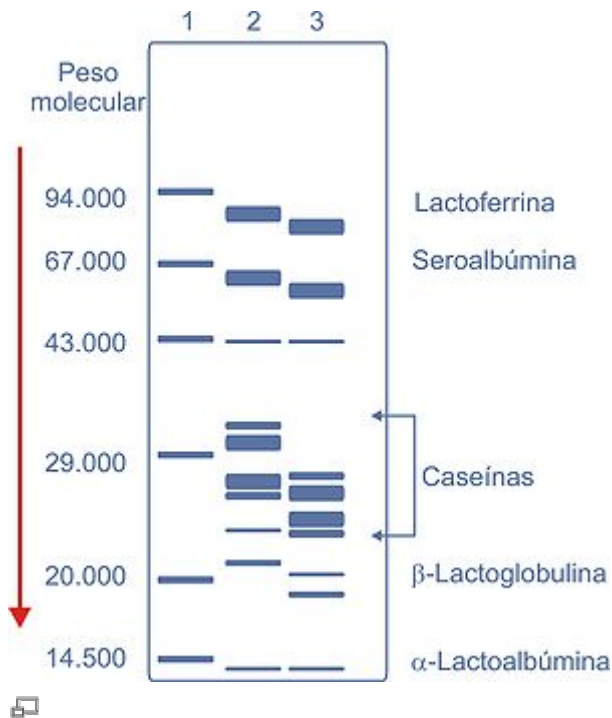
### **Características de las caseínas.**

Es la principal proteína de la leche, se encuentra dispersa en un gran número de partículas sólidas tan pequeñas que no sedimentan, y permanecen en suspensión. Estas partículas se llaman micelas y la dispersión de las mismas en la leche se llama suspensión coloidal.

Las caseínas constituyen un conjunto heterogéneo de proteínas que tienen una característica en común: precipitan cuando se acidifica la leche a pH 4,6 por lo que se denomina *proteína insoluble* de la leche y aunque son específicas de cada especie, se clasifican en los siguientes grandes grupos de acuerdo con su movilidad electroforética:  $\alpha_{s1}$ -caseína,  $\alpha_{s2}$ -caseína,  $\beta$ -caseína y  $\kappa$ -caseína (Figura 1).

La  $\kappa$ -caseína es de especial interés en la industria quesera, su hidrólisis enzimática por el cuajo (que contiene la enzima quimosina) genera una nueva proteína, denominada “para- $\kappa$ -caseína” que al reaccionar con el calcio genera “paracaseinato de calcio”. Durante el proceso de maduración del queso, y a partir de la “para- $\kappa$ -caseína”, se forman unos macropéptidos denominados  $\gamma$ -caseínas, responsables de las características reológicas y organolépticas de los quesos. Cuando se emplea la enzima tripsina, la caseína se hidroliza a una molécula fosfatada llamado “peptona”.

**Figura 1.** Movilidad de las proteínas de la leche



La figura-1 muestra un patrón de electroforesis con las proteínas lácteas procedentes de las especies humana (calle 2) y bovina (calle 3). La calle 1 muestra las proteínas de referencia para los pesos moleculares y la flecha indica el sentido de migración de las proteínas.

A diferencia de muchas otras proteínas, incluso de la leche, las caseínas no precipitan por acción del calor, sino por la acción de:

- a) enzimas proteasas, presente en el estómago de los mamíferos, como la renina y forma un precipitado denominado “paracaseína”.
- b) por los ácidos, y se le llama “caseína ácida”. Los *Lactobacillus* o bacterias del ácido láctico, son “Gram positivas anaerobias” están presentes en el tracto gastrointestinal y son responsables de convertir la lactosa y otros monosacáridos en ácido láctico. La producción de ácido láctico baja el pH a ácido (4-5), lo cuál hace a su vez que las caseínas precipiten además de inhibir el crecimiento de bacterias dañinas. Algunas especies de *lactobacillus* son usadas industrialmente para la producción de yogur y otros alimentos fermentados.

Para separar las caseínas del resto de las proteínas lácteas se utiliza el punto isoelectrico (pI) promedio que es de 4,6. A este pH, las caseínas se encuentra en su punto de menor

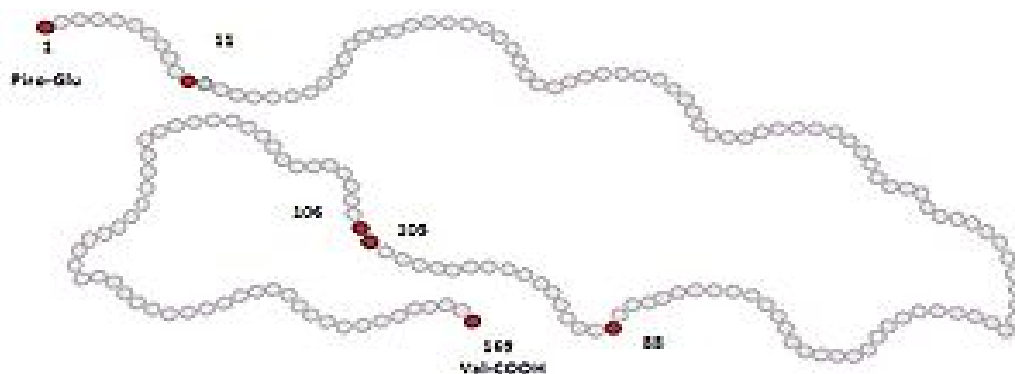
solubilidad debido a la reducción de las repulsiones intermoleculares, por lo que precipitan. El pI es diferente para cada una de las fracciones caseínicas, para la  $\alpha_{s1}$ -caseína varía entre el 4,4 - 4,8 y entre 5,5 - 5,8 en la variante genética B de la  $\kappa$ -caseína (Tabla-3).

**Tabla 3.** Algunas de las características físicoquímicas de las caseínas bovinas.

Característica	caseína			
	$\alpha_{s1}$	$\alpha_{s2}$	$\beta$	$\kappa$
Concentración en leche (g/L)	12-15	3-4	9-11	2-4
Variantes genéticas	B y C	A	A <sup>1</sup> y A <sup>2</sup>	A y B
Masa molecular	23.545 - 23.615	25.226	23.983 - 24.023	19.006 - 19.037
Punto isoeléctrico (pI)	4,44 - 4,76	...	4,83 - 5,07	5,45 - 5,77
Restos de aminoácidos (nº)	199	207	209	169

La caseína contiene un número inusual de residuos del aminoácido Prolina, siendo de 10 en la  $\alpha_{s2}$ -caseína y de 35 en la  $\beta$ -caseína. Como resultado de las numerosas terminaciones de prolina, las caseínas son relativamente hidrofóbicas (poco soluble en agua) y carecen de estructura secundaria o terciaria bien definidas (Figura-2).

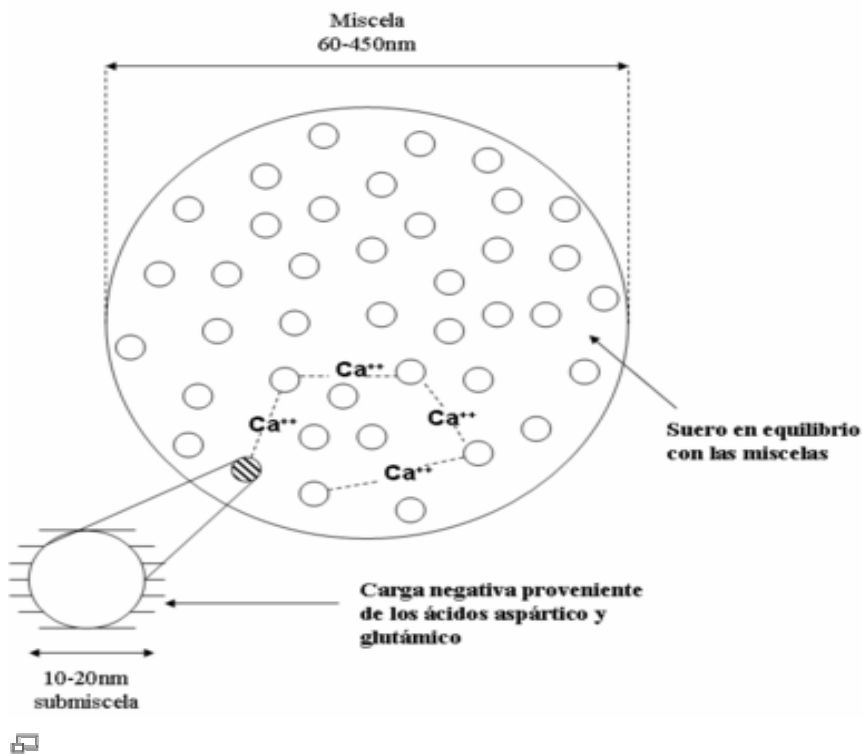
**Figura 2.** Estructura primaria de la  $\kappa$ -caseína bovina.



- a) Los aminoácidos 22 y 22 son cisteínas muy reactivas
- b) La zona de aminoácidos 1 a 100 son hidrofóbicas
- c) El macropéptido que se encuentra de los aminoácidos 106 a 169 es una fosfoserina, es decir, 10 carbonilos ionizados y un triacétido [galactosa, galactosamina y ácido silílico]
- d) El enlace de fenilalanina y metionina (109 y 106) es hidrolizada por el renina y produce para caseinato y el macropéptido hidrófilo.
- e) El para caseinato es hidrófilo, por lo que precipita en agua.

En la leche las caseínas se encuentran en suspensión formando micelas (pequeñas partículas esféricas que son hidrofílicas en el exterior e hidrofóbicas en el interior) (Figura-3) Estas micelas de caseína se estabilizan por iones de calcio e interacciones hidrofóbicas.

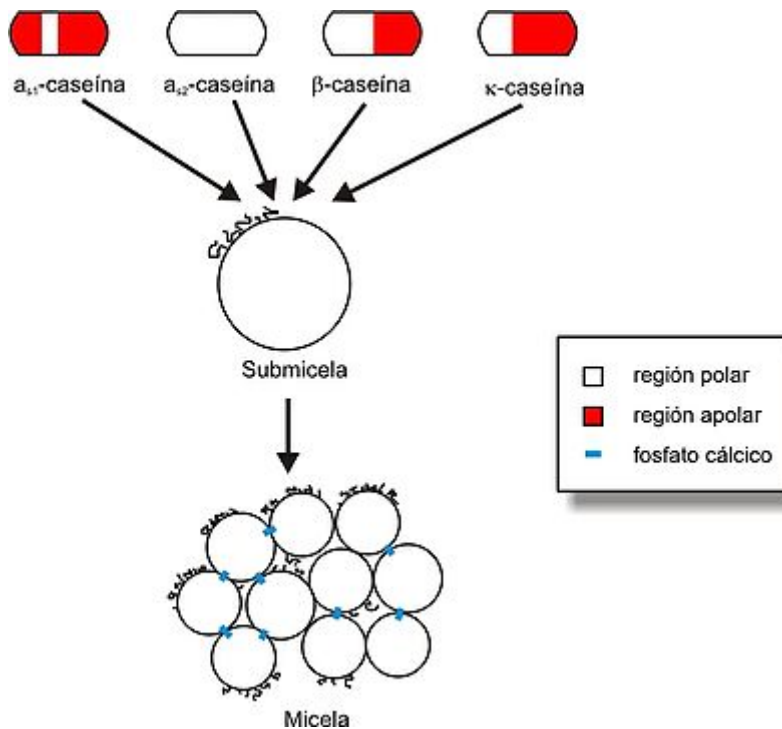
**Figura 3.** Estructura micelar de las caseínas.



Las caseínas al interactuar entre sí forman las micelas con un diámetro que varía de 60 a 450nm, siendo el promedio 130nm. Formadas a su vez por submicelas, constituidas a partir de la interacción constante entre las caseínas  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\kappa$ . Hay que resaltar la función de la  $\kappa$ -caseína para estabilizar las micelas especialmente contra la precipitación de las otras fracciones proteínicas por la acción de los enzimas.

A pesar de la abundante literatura científica no hay consenso sobre la posible estructura de una micela. Se han propuesto diversos modelos fisicoquímicos de organización de las micelas, en los que estas se encuentran a su vez constituidas por subunidades (*submicelas*), con un diámetro de entre 10 y 20nm (Figura 4). En tales modelos se considera que las subunidades se enlazan entre sí gracias a que el fosfato de calcio se une a los grupos  $\text{NH}_2^-$  de la lisina y el calcio interactúa con el grupo carboxilo ionizado ( $\text{COO}^-$ ). En todos los modelos se establece que las unidades hidrófobas entre las moléculas de proteínas aseguran la estabilidad de la micela.

**Figura 4.** Estructura propuesta para la organización de las micelas de caseína a partir de unas subunidades denominadas *submicelas*



### Usos y aplicaciones

La caseína se utiliza en la elaboración de productos alimentarios (derivados lácteos y cárnicos, panes y productos de repostería, etc.) y productos no alimentarios (pegamentos, pinturas, cubiertas protectoras, plásticos). Otros usos tecnológicos son la clarificación de vinos o como ingrediente en preparados de biología molecular y microbiología (medios enriquecidos para el cultivo microbiano).

En la alimentación especial, la caseína sirve para la elaboración de concentrados proteicos destinados a la alimentación de los deportistas, especialmente después del entrenamiento, debido a que la digestión de las caseínas es más lenta que la de las lactoproteínas solubles y, por ello, más apropiada para reparar el anabolismo de los aminoácidos durante el período que sigue a una comida.

## Bibliografía

- Lonnerdal B y Forsum E. 1985. Casein content of human milk. *American Journal of Clinical Nutrition* **41**(1): 113-120.
- Ribadeau-Dumas B y Grappin R. 1989. Milk protein analysis. *Le Lait* **69**(5): 357-416.
- Park YW, Juárez M, Ramos M y Haenlein GFW. 2007. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research* **68**(1-2): 88–113.
- Kunz C y Lonnerdal B. 1989. Human milk proteins: separation of whey proteins and their analysis by polyacrylamide gel electrophoresis, fast protein liquid chromatography (FPLC) gel filtration, and anion-exchange chromatography. *American Journal of Clinical Nutrition* **49**(3): 464-470.
- Van Hekken DL y Thompson MP. 1992. Application of PhastSystem® to the resolution of bovine milk proteins on urea-polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Dairy Science* '75'(5): 1204-1210.
- Mercier JC, Brignon G, Ribadeau-Dumas B. 1973. Structure primaire de la caséine- $\kappa$  B bovine. *European Journal of Biochemistry* **35**(2): 222-235.
- Swaisgoo HE. 1993. Review and update of casein chemistry. *Journal of Dairy Science* **76**(10): 3054-3061.
- Pepper L y Farrell HM. 1982. Interactions leading to formation of casein submicelles. *Journal of Dairy Science* **65**(12): 2259-2266.
- McMahon DJ y Brown RJ. 1984. Enzymic coagulation of casein micelles: A review. *Journal of Dairy Science* **67**(5): 919-929.
- Lacroix M, Bos C, Léonil J, Airinei G, Luengo C, Daré S, Benamouzig R, Fouillet H, Fauquant J, Tomé D y Gaudichon C. 2006. Compared with casein or total milk protein, digestion of milk soluble proteins is too rapid to sustain the anabolic postprandial amino acid requirement. *American Journal of Clinical Nutrition* **84** (5): 1070-1079.
- Audic JL, Chaufer B y Daufin G. 2003. Non-food applications of milk components and dairy co-products: A review . *Le Lait* **83**(6): 417-438.
- Amiot J. 1991. Ciencia y tecnología de la leche. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. ISBN 84-200-0713-7
- Schlimme E. 2002. La leche y sus componentes Propiedades químicas y físicas. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. ISBN 978-84-200-0992-6